



HAL
open science

Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE) : Rapport année 3 Avril 2012 - Mars 2013 Addendum

Mario Lepage, H. Etcheber

► To cite this version:

Mario Lepage, H. Etcheber. Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE) : Rapport année 3 Avril 2012 - Mars 2013 Addendum. *irstea*. 2013, pp.409. hal-02605340

HAL Id: hal-02605340

<https://hal.inrae.fr/hal-02605340>

Submitted on 16 May 2020

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.



dépasser les frontières



ETude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne (ETIAGE)



Addendum année 3 : Avril 2012 – Mars 2013

Editeurs : M. Lepage et H. Etcheber

Lepage M. et Etcheber H., 2013. Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE). Rapport Année 3 : Avril 2012-Mars 2013. **Addendum**. Laboratoire EPOC, Université de Bordeaux, Etude IRSTEA n° 178, 409p.

Ces documents ont été établis uniquement à des fins de discussions.

Ils constituent des documents de travail.

**En aucun cas, leur contenu ne peut être considéré comme finalisé, utilisé
et diffusé comme tel.**

Liste des annexes

Annexe 1

Valorisation scientifique des travaux Année 3

Annexe 2

Publication scientifique. Lanoux A., Etcheber H., Schmidt S., Sottolichio A., Chabaud G., Richard M., Abril G. (2013). Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France). *Environmental Science : Processes & Impacts*, 15, 585-595.

Annexe 3

Poster présenté au colloque ISOBAY, Santander (11-13 Avril 2012)

Annexe 4

Aubry A. (2012) Etude des variations spatio-temporelles de la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde. Rapport 2^{ème} année IUT.

Annexe 5

Beaupin C. (2012) Impact des activités urbaines de l'agglomération bordelaise sur la qualité biogéochimique des hydrosystèmes : contamination métallique actuelle des eaux et sédiments et évolution historique des pressions anthropiques. Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie.

Annexe 6

Coularis C. (2012) Impact de la dégradation de la matière organique des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Garonne. Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie.

Annexe 7

Fuster L. (2012) Suivi des filtres UV en Station d'épuration et milieu naturel : Optimisation de la méthode d'extraction et application à la Station d'épuration de Bègles. Rapport de stage de M1.

Annexe 8

Girolli L. (2012) Etude de la présence de polluants émergents dans les stations d'épuration et dans le milieu naturel : application à la Garonne, la Jalle et l'Adige. Rapport de stage de M2.

Annexe 9

Lobez M. (2012) Etude de la contamination des effluents urbains par les médicaments : développement d'un protocole de déconjugaison et applications. Rapport de stage de M1.

Annexe 10

Nzimandoukou E. (2012) Influence des rejets urbains de la Communauté Urbaine de Bordeaux sur la composition de la MOP en Garonne estuarienne. Rapport Master 2.

Annexe 11

Realis E. (2012) Variation spatio-temporelle de la méiofaune en estuaire fluvial. Rapport M2.

Annexe 12

Touccoulet M. (2012) Variabilité de la production zooplanctonique en estuaire fluvial : impact des caractéristiques environnementales. Rapport M2.

Annexe 13

De Watteville J. et Lepage M. (2013) Etude bibliographique sur les causes de l'hypoxie et ses conséquences sur le vivant. Etude de cas : L'estuaire de la Garonne. Rapport M2.

Annexe 1

Valorisation scientifique des travaux

Année 3 : Avril 2012-Mars 2013

PUBLICATIONS

- **Lanoux A., H. Etcheber, S. Schmidt, A. Sottolichio, G. Chabaud, M. Richard, G. Abril** (2013). Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France). *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15, 585-595.

COMMUNICATIONS ORALES

- **Aminot Y, Pardon P, Budzinski H.** Contamination de la Garonne estuarienne par les résidus médicamenteux : Apports amonts et locaux (2012). Journées Information Eaux (JIE), Poitiers, France, 25 Septembre 2012.
- **Aminot Y, Pardon P, Budzinski H.** Pharmaceutical residue levels in river Garonne: Upstream and local intake (2012). 4th Seminar Of Phd Students On Water & Health, Cannes, France, 11 Juin 2012.
- **Gardia-Parège C., Maillot-Maréchal E., Aït-Aïssa S., Creusot N., Dévier M-H., Balaguer P., Mazellier P., Budzinski H.** Evaluations des activités endocrines et *dioxin-like* de différentes eaux de stations d'épuration françaises pour la mise en place d'analyses dirigées par des bioessais(EDA, *Effect-Directed Analysis*) : Projet Ecopi (2012) Colloque national de la SEFA (Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée), Lyon, France, 4-5 Juillet 2012.
- **Lanoux A., H. Etcheber, G. Abril, A. Sottolichio, S. Schmidt and S. Pelloux.** Anthropogenic impacts on the dissolved oxygen contents in the estuarine Garonne River (Bordeaux, France). 50th ECSA Conference, Venise, Italie, 3-7 Juin 2012.
- **Lanoux A., H. Etcheber, G. Abril, P. Anschutz, F. Garabetian, S. Schmidt, A. Sottolichio and S. Pelloux.** Impact of wastewater discharges on the water oxygenation of the estuarine Garonne. ISOBAY Symposium, Santander, Espagne, 11-13 Avril 2012.
- **Savoie N., F. Dindinaud, A. Lanoux, E. Nzimandoukou, V. David, H. Etcheber, S. Bichon, K. Charlier, H. Derriennic , L. Thiao-Layel.** La matière organique particulaire dans le système Garonne-Gironde : composition et forçages. 9ème Journée de l'estuaire, Arcachon, France, 28 Mars 2013.

COMMUNICATIONS PAR POSTER

- **Lanoux A., H. Etcheber, Y. Aminot, H. Budzinski, N. Deycard, G. Blanc, J. Schäfer, M. Lepage, B. Sautour, S. Bureau du Colombier & M. Baudrimont.** Study of environmental impact of effluents from the Urban Community of Bordeaux (CUB) on the Garonne River water quality: the ETIAGE program (2010 – 2014). ISOBAY Symposium, Santander, Espagne, 11-13 Avril 2012.

- **Gardia-Parège C., Maillot-Maréchal E., Aït-Aïssa S., Creusot N., Dévier M-H., Balaguer P., Mazellier P., Budzinski H.** Activités endocrines et *dioxin-like* de différentes eaux de stations d'épuration françaises pour l'application d'analyses dirigées par des bioessais (EDA *Effect-Directed Analysis*) dans le cadre du projet ECOPI (2012). Colloque national ANTIOPEs, Ecotoxicologie et Toxicologie environnementale : nouveaux concepts, nouveaux outils, Avignon, France, 19-20 Mars 2012.

RAPPORTS

- Rapport Annuel D'avancement (Avril 2012-Mars 2013).
- Addendum Rapport ETIAGE (Avril 2012-Mars 2013).
- **Aubry A.** (2012). Etude des variations spatio-temporelles de la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde. Rapport 2^{ème} année IUT, Caen, 37 pp.
- **Beaupin C.** (2012) Impact des activités urbaines de l'agglomération bordelaise sur la qualité biogéochimique des hydrosystèmes : contamination métallique actuelle des eaux et sédiments et évolution historique des pressions anthropiques. Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Rennes, 59 pp.
- **Coularis C.** (2012). Impact de la dégradation de la matière organique des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Garonne. Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Rennes, 43 pp.
- **Fuster L.** (2012) Suivi des filtres UV en Station d'épuration et milieu naturel : Optimisation de la méthode d'extraction et application à la Station d'épuration de Bègles. Rapport de stage de M1, Juin 2012.
- **Girolli L.**, Etude de la présence de polluants émergents dans les stations d'épuration et dans le milieu naturel : application à la Garonne, la Jalle et l'Adige. Rapport de stage de M2 Erasmus, Juin 2012.
- **Lobez M.** (2012) Etude de la contamination des effluents urbains par les médicaments : développement d'un protocole de déconjugaison et applications. Rapport de stage de M1, Margaux Lobez, Juillet 2012.
- **Nzimandoukou E.** (2012). Influence des rejets urbains de la Communauté Urbaine de Bordeaux sur la composition de la MOP en Garonne estuarienne. Rapport Master 2, Université Bordeaux1, 28pp.
- **Realis E.** (2012). Variation spatio-temporelle de la méiofaune en estuaire fluvial. Rapport M2, FDEA, Université Bordeaux 1.
- **S. Schmidt, A. Lanoux, S. Sottolichio & H. Etcheber** (2012). Le réseau MAGEST : rapport scientifique annuel, 28 pp.
- **Touccoulet M.** (2012). Variabilité de la production zooplanctonique en estuaire fluvial : impact des caractéristiques environnementales. Rapport M2, FDEA, Université Bordeaux 1.
- **De Watteville J. et Lepage M.** (2013) Etude bibliographique sur les causes de l'hypoxie et ses conséquences sur le vivant. Etude de cas : L'estuaire de la Garonne. Rapport action 4.3 ETIAGE Année 3, Irstea Centre de Bordeaux, 58p.

Annexe 2

Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France).

Lanoux A., H. Etcheber, S. Schmidt, A. Sottolichio, G. Chabaud, M. Richard, G. Abril (2013).
Environmental Science: Processes & Impacts, 15, 585-595.

PAPER

Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France)

Cite this: *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 2013, **15**, 585

Aurélie Lanoux,^{*ab} Henri Etcheber,^a Sabine Schmidt,^a Aldo Sottolichio,^a Gérard Chabaud,^a Marion Richard^a and Gwenaél Abril^a

Dissolved oxygen (DO) is a fundamental parameter of coastal water quality, as it is necessary to aquatic biota, and it provides an indication of organic matter decomposition in waters and their degree of eutrophication. We present here a 7 year time series of DO concentration and ancillary parameters (river discharge, water level, turbidity, temperature, and salinity) from the MAGEST high-frequency monitoring network, at four automated stations in the central and fluvial regions of the macrotidal Gironde Estuary, one of the largest European estuaries. The spatio-temporal variability of DO at different time scales was first related to the migration and position of the maximum turbidity zone in this extremely turbid estuary. Since 2005, the Gironde Estuary has recorded several borderline hypoxic situations (DO close to 2 mg L⁻¹) and a 7 day-long hypoxic event (DO < 2 mg L⁻¹) in July 2006. Summer hypoxia occurred exclusively in the fluvial, low salinity, and high turbidity sections of the estuary and was significantly more pronounced in front of the large urban area of Bordeaux (715 000 inhabitants). Detailed analysis of the data at the seasonal, neap-spring and semi-diurnal tidal time scales, reveals that hypoxia in this area occurred: (i) in the maximum turbidity zone; (ii) during the spring to neap tide transition; (iii) at highest water temperature; and (iv) at lowest river discharge; there was also evidence of an additional negative impact of sewage treatment plants of Bordeaux city. Enhancement of respiration by turbidity, temperature and inputs of domestic biodegradable organic matter and ammonia, *versus* renewal of waters and dispersion of reduced pollutants with the river discharge, appeared as the dominant antagonist processes that controlled the occurrence of summer hypoxia. In the context of long-term environmental changes (increase in temperature and population, decrease in summer river discharge), the occurrence of severe hypoxia could not be excluded in the next decades in the upstream reach of the Gironde Estuary.

Received 3rd July 2012
Accepted 10th December 2012

DOI: 10.1039/c2em30874f

rsc.li/process-impacts

Environmental impact

In the EU, the improvement of water quality is the objective of the Water Framework Directive (WFD), including the reduction of eutrophication in both continental and coastal systems. Oxygen is one of the statutory chemical quality elements that must be considered under the WFD. Oxygen concentration and saturation are often recorded in environmental monitoring networks. Dissolved oxygen concentrations are linked to the effects of temperature, salinity and eutrophication. In some macrotidal estuaries, turbidity, water renewal with river discharge and inputs from wastewater treatment plants could also have a significant impact on dissolved oxygen at seasonal and tidal time scales, such as the Gironde Estuary (S-W France).

1 Introduction

Dissolved oxygen (DO) is an important factor in estuarine and coastal environments, since waters must contain sufficient DO to maintain aquatic biota. In aquatic ecosystems, hypoxia refers to a depletion of DO below the conventional threshold concentration of 2 mg L⁻¹. When this occurs, negative impacts on aquatic ecosystems and organisms' behaviour are

observed.¹⁻³ Hypoxia in estuaries and coastal systems is commonly associated with eutrophication, caused by important algal production due to nutrient enrichment.^{4,5} Nevertheless another major cause of oxygen depletion is related to allochthonous inputs of organic matter and nutrients such as ammonia, that require oxygen for oxidation.⁶

Individual estuaries may differ in their exposure to hypoxia. Estuaries are heterotrophic ecosystems⁷ where large quantities of organic material carried by rivers and imported from the sea (*e.g.* Elbe, Ems) are mineralized.⁸ Water volume, depth, freshwater inflow, and tidal exchange determine the residence time of waters in estuaries and their resistance to increased nutrient

^aUniv. Bordeaux, EPOC, UMR 5805, F-33400 Talence, France. E-mail: a.lanoux@epoc.u-bordeaux1.fr

^bLe LyRE, Centre de Recherche de Lyonnaise des Eaux, F-33400 Talence, France

fluxes and eutrophication. Changes in global climate (temperature and sea-level rise; hydrological river regime) and local environment (population growth, wastewater and urban runoffs) may also determine estuary susceptibility to hypoxia. A complete understanding of these factors will help to predict the evolution of oxygen content of estuarine waters and to elaborate mitigation strategies, when necessary. More information is needed to determine the full spatial and temporal extent of hypoxic waters and whether their occurrence is increasing or decreasing. However, there is an increase of peer-reviewed articles reporting the occurrence of seasonal hypoxia in many coastal regions around the world over the last few decades, mainly ascribed to eutrophication.^{3,4,9,10} In the EU, the improvement of water quality and the reduction of eutrophication in continental and coastal systems is one of the main objectives of the Water Framework Directive (WFD).

Macrotidal estuaries are complex environments regarding water quality and in particular their oxygenation: tidal influence results in upstream and downstream movements and long residence times for both water and suspended matter, and in the development of a turbidity maximum zone (TMZ).^{11,12} In the TMZ, low penetration of light limits photosynthetic activity.^{6,13} Phytoplankton is thus restricted to the river section and the estuarine mouth.¹⁴ In contrast, the development of heterotrophic bacteria is enhanced in the TMZ.¹⁵ Anoxic conditions have been observed within the fluid mud benthic layers, in the Gironde and Loire Estuaries, when suspended particulate matter exceeded 50 g L^{-1} (ref. 16–18) and the resuspension of this material can generate additional oxygen consumption.

The Gironde fluvial-estuarine system (SW France) is one of the largest European estuaries, and has been recognized as one of the least human-impacted estuaries in Europe.^{8,19} However, there is some evidence of environmental sensitivity of this ecosystem; several episodes of low dissolved oxygen content have been observed in the fluvial section close to the city of Bordeaux, in particular during severe droughts of 1962, 1976, 1989 and 2006.²⁰ Increasing frequency and duration of these events could be problematic for instance for downstream migration of juvenile fish, such as eel or salmon, as it was the case in the Loire Estuary in the early 90's.^{21,22}

The purpose of this paper is to use a large and high-resolution database of dissolved oxygen concentration and ancillary parameters in the Gironde Estuary in order to identify the factors that lead to hypoxia in such a temperate, macrotidal and turbid estuary. Data collected since 2005 at four stations by the MAGEST (MAREL GIRONDE ESTUARY) monitoring programme represent an unprecedented real-time, continuous (10 min) dataset in estuarine systems,²³ that offers the opportunity to describe specific events that are difficult to sample with conventional methods. After a brief description of the Gironde fluvial-estuarine system and the monitoring network, we analyse the 7 year time series in terms of spatio-temporal variability at timescales from tidal to inter-annual; then, we focus on the summer periods of oxygen depletion and, within these periods, we identify the environmental factors that lead to critical hypoxic events. Finally, the experience acquired with this monitoring network allows us to discuss potential

evolution of the Gironde Estuary and the probable trends in the occurrence of hypoxia in the future.

2 The Gironde fluvial-estuarine system

The Gironde Estuary drains a watershed of $71\,000 \text{ km}^2$ in south-western France and is formed by the Garonne River and the Dordogne River, which contribute 65% and 35% of the total freshwater input, respectively (Fig. 1; Table 1). The Gironde is one of the largest European estuaries in terms of surface area (625 km^2) and one of the largest in terms of annual mean discharge ($\sim 1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$).^{8,19} The discharge varies seasonally, reaching a maximum in January to February (average $1500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) and a minimum in August to September (average $250 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). The Gironde is classified as a hypersynchronous macrotidal estuary and is partially-mixed to well-mixed with tidal amplitudes varying from 1.5 m to 5.5 m at the mouth¹¹ (Table 1). Water depth (at low water level) ranges between 5 and 8 m in the upper estuary and reaches up to 20 m near the mouth.^{12,20} The tidal influence stops at about 180 km upstream from the mouth.¹² Allen *et al.*²⁴ estimated that during one tidal cycle, the seawater inputs are 30 to 40 times greater than the freshwater inputs.

Due to an estuarine residual circulation largely dominated by flood currents, the residence time of water and suspended particulate matter (SPM) in the estuary is relatively high, between 20 and 86 days for water and between 12 and 24 months for the suspended sediment, depending on river discharge.^{26,27} One of the main sedimentary features of the

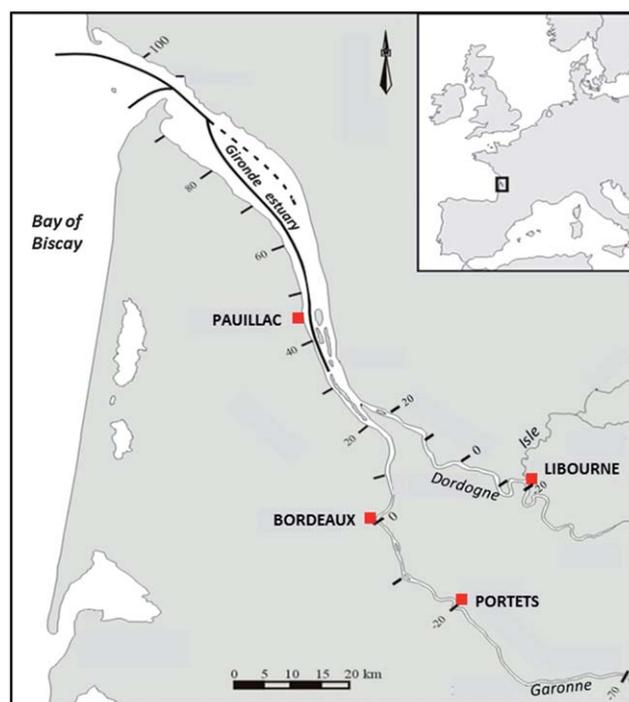


Fig. 1 Location of the study area: the Gironde fluvial-estuarine system with its main tributaries (the Garonne and Dordogne Rivers) and the instrumented sites (red squares): Portets, Bordeaux, Libourne and Pauillac. Numbers indicate the distance in km from Bordeaux city.

Table 1 General features of the Gironde Estuary

		Gironde Estuary	
Surface area	River basin (km ²)	71 000 (ref. 25)	
	Estuary (km ²)	625 ^a	
River discharge	Mean 1959–2011 (m ³ s ⁻¹)	1000 ^a	
		Garonne	Dordogne
	Mean 1959–2011 (m ³ s ⁻¹)	595	326
	Min–max 1959–2011 (m ³ s ⁻¹)	80–5007	54–1973
Tidal range	At the mouth (m)	1.5–5.5 (ref. 12)	
Depth	Upper estuary (m)	5–8 (ref. 12)	
	Lower estuary (m)	20 (ref. 12)	
Residence time	Water (months)	0.5–3 (ref. 26)	
	Particles in TMZ (months)	12–24 (ref. 26)	

^a <http://www.hydrofrance.fr>.

Gironde Estuary is its TMZ, generated by the asymmetry of the tidal wave,¹² and positioned according to the river flow. In the TMZ, suspended particulate matter (SPM) concentrations of 1 g L⁻¹ at the surface and 10 g L⁻¹ near the bottom are common values.²⁶ Fluid mud pools with SPM concentration exceeding 100 g L⁻¹ are common features that deposit during neap tides.^{11,12,16} During low river flow, the TMZ is about 70 km long and the highest SPM concentrations occur in the narrow tidal sections of the Garonne and the Dordogne Rivers.¹² When river flow increases, the TMZ moves downstream in the estuary.²⁸

Suspended sediments in the Gironde Estuary are mainly composed of clays (45–65%) and silts²⁹ and have a dominant terrestrial origin.³⁰ Particles in the TMZ have a low organic carbon (POC) content, with a value of 1.5 ± 0.1% of SPM, and without seasonal variations; this particulate organic matter in the TMZ mainly consists of refractory materials.^{19,31} For comparison, the annual mean POC content in the Loire and Seine Estuaries is 3.3% (ref. 8 and 32) and 3.1%,³³ respectively.^{11,12,16} Based on organic carbon entering the estuary and on the catchment inhabitant to river discharge ratio, the Gironde Estuary has been classified as a pristine estuary, in comparison to other European estuaries.⁸ However, the impact of Bordeaux city (715 000 inhabitants) is poorly documented, domestic waters being released to the Garonne tidal river after being partly treated through wastewater treatment plants.

3 Materials and methods

Since 2005, an automated continuous monitoring network, called MAGEST (MArel Gironde ESTuary), provides real-time measurement of the water quality of the Gironde. This high frequency monitoring network has four automated stations located along the Gironde fluvial-estuarine system (Fig. 1). The stations along the axis of the estuary are representative of the different estuarine sections. The most downstream station is Pauillac, located 52 km from the estuarine mouth and considered as a reference of the central estuary. Two other stations are situated in the tidal reach of the Garonne River: Bordeaux and Portets, respectively at 100 and 120 km from the mouth. Bordeaux station is in a large suburb of about 715 000 inhabitants, resulting in the presence of two large wastewater

treatment plants and is considered an urban reference. The fourth station, Libourne, is located in the Dordogne tidal river. Portets on the Garonne and Libourne on the Dordogne remain influenced by the tide all year round, but are likely to register the riverine inputs during flood discharge periods. All stations measure 4 parameters every 10 minutes: temperature, salinity, turbidity and dissolved oxygen.

The automated stations are all based on the same architecture, including an autonomous measurement system and a bi-directional telecommunication system. Water is pumped 1 m below the surface and circulated through a measuring cell including a dissolved oxygen optode (0–20 mg L⁻¹ ± 0.2 mg L⁻¹), a temperature probe (0–35 °C ± 0.1 °C), a turbidity probe (0–9999 NTU ± 10%, where 9999 NTU, maximum value recorded, corresponds to a SPM concentration of about 12 g L⁻¹) and a conductivity probe (0–70 mS cm⁻¹ ± 0.3 mS cm⁻¹ for Pauillac and Bordeaux stations; 0–2 mS cm⁻¹ ± 0.1 mS cm⁻¹ for Libourne and Portets stations).²⁰ In addition, an ultrasonic level controller measures the water depth. Each station has two complete sets of sensors that are replaced every 3 months to allow calibration and to ensure the quality of measurements. Before its deployment in the field, the sensor unit is calibrated in an air-conditioned room; sensors of the recovered unit are validated in the same conditions to check potential drift in measurements. The sensor calibration follows the standardized procedures developed in collaboration with IFREMER (Institut Français pour l'Exploitation de la MER).^{20,34} Briefly, the dissolved oxygen sensor is calibrated before and after deployment using an insulated water bath (20 °C) equilibrated with the atmosphere (saturating concentration of O₂). Sensors are adapted to riverine and coastal conditions, and are able to work over long periods without drifts in measured values.²⁰

A land-based management station collects data every 6 h at the University of Bordeaux 1 (<http://www.magest.u-bordeaux1.fr/>). Dissolved oxygen saturation, expressed in percentage, is automatically calculated from DO concentration in mg L⁻¹ through network software accounting for temperature and salinity. Since 2005, the monitoring network has recorded more than one million rows of data, which corresponds to about 75% of time in service. The percentage of validated data is followed monthly per station. For example in 2008, the Bordeaux station worked very well in May and June (>95%) but failed in July, August and November (<35%). The Pauillac station did not work between May 2006 and March 2007 and August 2009 and June 2010. This lack of data had different origins, such as damage related to a rough environment (storm, flood debris...), electricity supply or sensor malfunctioning.

In order to interpret the factors that control the variations of DO, we performed statistical analysis on daily-averaged data. We compared values of salinity, temperature, turbidity and DO concentrations according to stations (Portets, Bordeaux, Libourne and Pauillac), period (months and seasons) and their interactions (*i.e.* station within period), by performing analyses of variance (ANOVAs). In the following, we refer to “significantly different” datasets when ANOVA tests on daily-averaged data were significant at $p < 0.5$. Tukey's HSD (Honestly Significant

Difference) pairwise multiple comparison tests were used to identify the difference between means when required ($p < 0.05$). We also performed multiple correlation tests and ANCOVA (with station as fixed factor) on daily-averaged data for the 7 year dataset in order to investigate how temperature, turbidity and river discharge influence DO.

4 Results and discussion

4.1 Spatiotemporal variations

4.1.1 Short term variability at the semi-diurnal and neap-spring tidal cycles. We first present an example of high frequency (10 minutes) data to illustrate the potential of such monitoring and the variability of DO at short timescales (semi-diurnal and fortnightly tidal cycles). In macrotidal estuaries, changes in current velocities throughout the tidal cycles induce sedimentation and resuspension of particulate matter and affect the distribution of turbidity and oxygen.^{16,21,35–37} The selected dataset (Fig. 2) is a record at Bordeaux during summer 2005, a period favourable to low oxygen content, when the Garonne River discharge averaged $90 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Owing to the water movement throughout the tidal cycle, DO and salinity were maximal at high tide and minimal at low tide. As we will discuss later, at this Bordeaux station, dilution with more saline water at high tide increased the DO concentration compared to low tide. In contrast, SPM concentration was highest at mid-tide, which corresponds to maximum current velocities and resuspension.¹⁶ SPM concentrations (maximum and average values during tidal cycles) also increased during the spring tides compared to the neap tides, revealing some fluid mud resuspension.^{16,38} The response of oxygen was a progressive decrease from the 23rd of July at spring tide to the 29th of July two days before the neap tide (Fig. 2). During this spring to neap transition, there was also a larger difference between the low tide minimum DO and the high tide maximum DO (Fig. 2), which reveals that oxygen-consuming processes were enhanced during the tidal cycle. DO then increases again during the neap tide

and until the next spring tide. Similar (though less pronounced) DO minima 5–6 days after the spring tide occurred at the Pauillac station downstream, and at the Libourne station on the Dordogne (not shown).

The DO minimum in the Gironde Estuary occurs 5–6 days after the spring tide and the associated maximum in turbidity (Fig. 2B), which is much later than in other sites like the Loire Estuary,^{21,37} the Severn Estuary,³⁵ and the Humber Estuary,³⁶ where DO minima occur just at spring tides or 1–2 days after. This delay depends on the intensity of the oxygen-consuming processes that are enhanced (or oxygen-supply processes that are inhibited) at spring tide. At spring tide, more particulate organic matter is available to heterotrophic bacteria in the water column.^{14,15} Resuspension of fluid mud results in mixing of pore waters rich in reduced compounds,¹⁶ which are oxidized very quickly in the water column. Conversely, gas exchange and re-aeration intensity at spring tide might be favoured by higher water current velocities, but also limited by higher turbidity.³⁹ The outcome of these processes appears less intense in the Gironde at spring tides, where the high particle load in the TMZ is associated with a low POC content.¹⁹

4.1.2 Seasonal trends and localization of severe oxygen depletion. Monthly averaged data throughout the 7 years of monitoring (Fig. 3) reveal reproducible seasonal patterns induced by the hydrology, the movement of the TMZ and the changes in temperature and water residence time in the estuary. Comparative analysis of summer data (July to September) and winter data (January to March) reveal different patterns between stations (Table 2). Some interannual variability also occurred with the Garonne and Dordogne River discharges that are generally the highest between November and April and the lowest between May and October (Fig. 3A). Throughout the studied period, 2005 and 2011 were the driest years, with annual average discharge (sum of Garonne and Dordogne) of $337 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ and $302 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ respectively; and 2009 was the wettest year with an annual average discharge of $535 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Water temperature ranged between 5 and $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and showed the same

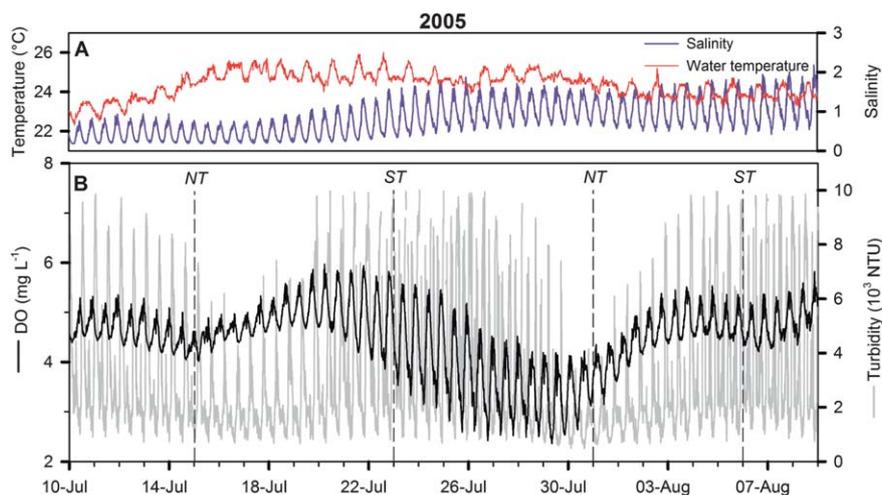


Fig. 2 High-frequency record (every 10 min) of water temperature, salinity, dissolved oxygen and turbidity at Bordeaux, from July 17 to August 13, 2005. The dashed lines in the lower panel underline the Neap Tide (NT) and Spring Tide (ST).

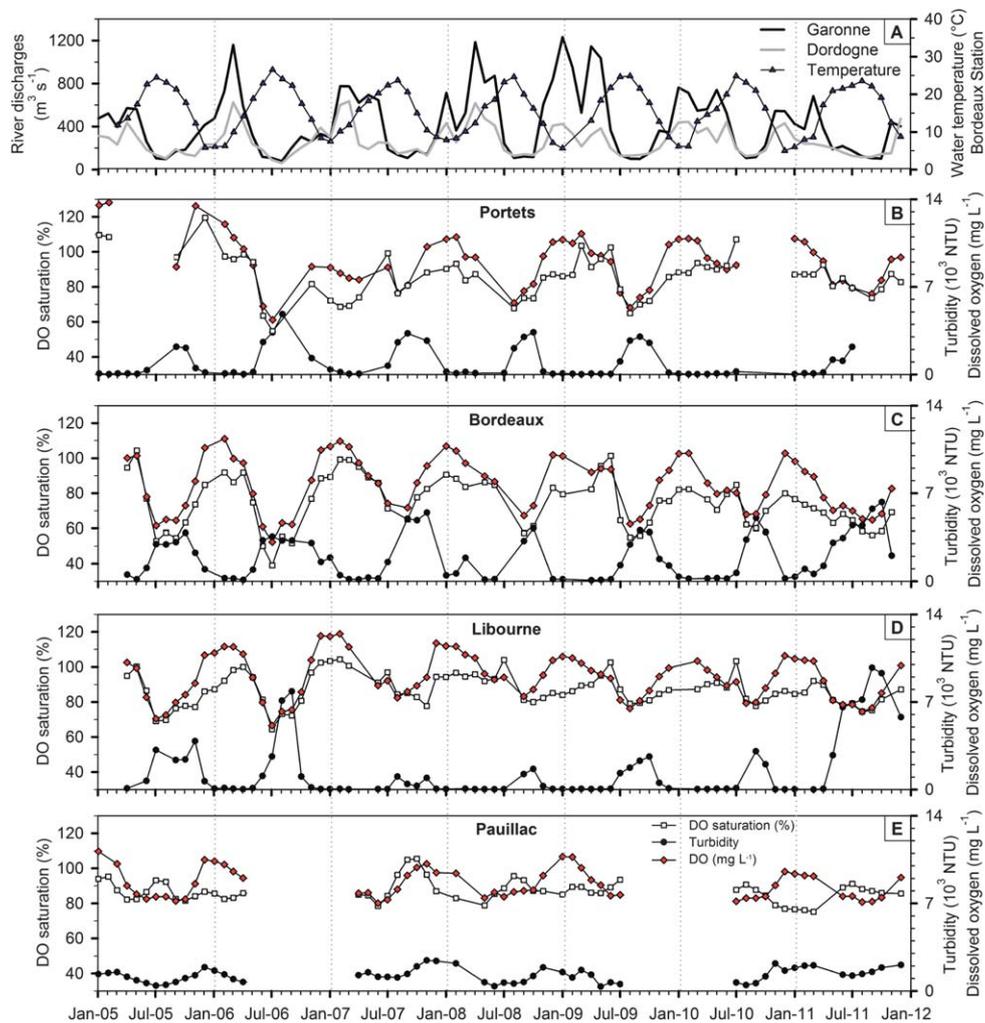


Fig. 3 Evolution of monthly average values in river discharges ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$), water temperature at the Bordeaux station ($^{\circ}\text{C}$ – blue up-triangle), turbidity (10^3 NTU – black circles), dissolved oxygen (saturation% – empty square and mg L^{-1} – red diamonds) at the four stations of the MAGEST network from January 2005 to December 2011. Water temperature is plotted for the Bordeaux station only, as this parameter presents minor differences between the four stations.²⁰

well-defined seasonal pattern at all stations. In contrast, salinity, turbidity and DO presented very contrasted signals, with significantly different values between stations and with seasonal variations more or less important depending to the location (Fig. 3A; Table 2).

The seasonal shifts of the TMZ with the river discharge were the predominant phenomena that impacted the turbidity and oxygen patterns at the four stations. At Pauillac in the central estuary where salinity was highest (Table 2), turbidity remained relatively high throughout the year (Fig. 3E). This station is indeed located at the centre of the TMZ in winter and at its downstream reach in summer.^{12,28} However, summer turbidity values at Pauillac were significantly lower ($p < 0.0001$) than winter values (Table 2) as the TMZ moved upstream. At the three other stations in the low salinity region of the Garonne and Dordogne tidal rivers (Portets, Bordeaux and Libourne), turbidity reached monthly averaged values of several thousand NTUs in summer (Fig. 3B–D). Summer turbidity at these three stations was significantly higher ($p < 0.0001$) than at the Pauillac

station (Table 2), which illustrates the process of concentration of the TMZ in the upstream narrower area, as the TMZ moved upstream in summer. In winter, high river flows pushed the TMZ downstream,^{11,12,40} and turbidity was low in this upstream area (Table 2), with monthly averaged values of 100 NTU at Portets and Libourne and 600 NTU at Bordeaux (Fig. 3).

Concerning oxygen, there was a general trend opposite to that of turbidity and temperature, with the lowest DO in summer and in the TMZ (Fig. 3), but with some different patterns between stations. Estuarine waters at the Pauillac station remained well oxygenated whatever the season, with monthly averaged values between 7 and 11 mg L^{-1} (saturation rates: 75 to 105%; Fig. 3E). In contrast, the three upstream stations, Bordeaux, Portets and Libourne, located in the fluvial estuary, monthly averaged DO concentrations varied widely between 3 and 14 mg L^{-1} (saturation rates from 39 to 120%; Fig. 3B–D). DO concentrations as expressed in mg L^{-1} were significantly higher ($p < 0.0001$) in winter than in summer (Table 2) at all stations; this was primarily due to the

Table 2 Mean \pm SD, minimum–maximum are presented using daily-averaged values for salinity, temperature, turbidity and DO depending on the summer (from July to September) or the winter period (from January to March) for each station. Differences in the data between stations and seasons were tested with ANOVA (comments in the text)

		Salinity	Temperature ($^{\circ}$ C)	Turbidity (NTU)	DO contents (mg L^{-1})	DO % of saturation
Portets (Garonne River)	Summer	0.18 \pm 0.04	23.41 \pm 2.07	2147 \pm 1572	6.60 \pm 1.49	77.37 \pm 16.75
		0.12–0.34	18.23–29.22	20–6880	3.30–12.24	41.43–152.15
		<i>N</i> = 364	<i>N</i> = 364	<i>N</i> = 340	<i>N</i> = 364	<i>N</i> = 364
	Winter	0.14 \pm 0.01	8.17 \pm 2.23	115 \pm 173	10.28 \pm 1.33	87.05 \pm 10.23
		0.10–0.17	3.89–13.54	6–1145	6.94–14.32	62.56–111.61
		<i>N</i> = 478	<i>N</i> = 478	<i>N</i> = 478	<i>N</i> = 478	<i>N</i> = 478
Bordeaux (Garonne River)	Summer	0.75 \pm 0.51	23.06 \pm 2.01	3459 \pm 1864	5.02 \pm 1.02	58.63 \pm 11.02
		0.14–2.19	18.23–28.37	394–7912	1.85–8.24	23.50–95.56
		<i>N</i> = 355	<i>N</i> = 355	<i>N</i> = 346	<i>N</i> = 355	<i>N</i> = 355
	Winter	0.15 \pm 0.01	7.91 \pm 2.24	532 \pm 649	10.24 \pm 0.87	86.30 \pm 8.09
		0.11–0.22	4.13–13.38	31–3401	7.72–12.09	67.33–102.55
		<i>N</i> = 342	<i>N</i> = 342	<i>N</i> = 345	<i>N</i> = 342	<i>N</i> = 342
Libourne (Dordogne River)	Summer	0.23 \pm 0.20	22.84 \pm 2.46	2997 \pm 3227	7.13 \pm 1.23	82.68 \pm 13.29
		0.07–0.86	15.61–29.22	14–9999	3.30–10.97	41.43–129.48
		<i>N</i> = 461	<i>N</i> = 461	<i>N</i> = 453	<i>N</i> = 461	<i>N</i> = 461
	Winter	0.10 \pm 0.02	7.96 \pm 2.20	55 \pm 94	10.98 \pm 0.91	92.52 \pm 7.00
		0.06–0.16	3.05–13.54	2–1145	9.20–14.32	78.70–110.96
		<i>N</i> = 422	<i>N</i> = 422	<i>N</i> = 394	<i>N</i> = 422	<i>N</i> = 422
Pauillac (Gironde Estuary)	Summer	6.75 \pm 2.55	22.18 \pm 1.48	941 \pm 509	7.62 \pm 0.66	91.03 \pm 6.74
		1.18–11.11	17.81–25.32	99–3076	6.32–9.88	76.98–113.83
		<i>N</i> = 348	<i>N</i> = 348	<i>N</i> = 330	<i>N</i> = 331	<i>N</i> = 331
	Winter	2.05 \pm 1.08	7.33 \pm 2.02	1558 \pm 686	9.84 \pm 0.68	82.78 \pm 5.66
		0.15–5.46	3.59–12.86	399–3263	8.12–11.29	68.82–93.07
		<i>N</i> = 250	<i>N</i> = 250	<i>N</i> = 250	<i>N</i> = 250	<i>N</i> = 250

temperature effect on oxygen solubility in water (Fig. 7). When expressed in % of saturation, DO was significantly higher in winter than in summer at the three upstream stations (Portets, Bordeaux and Libourne), whereas it was significantly lower in winter than in summer at the Pauillac station downstream (Table 2). This inverted pattern at the downstream station was apparently due to enhanced oxygen consumption in the TMZ. In summer, when the river discharge decreased, the TMZ moved upstream, suspended matter at Pauillac was reduced and DO saturation increased. In addition, some phytoplanktonic blooms have been reported in this area in summer, when light penetration increases,^{13,41} which explains the observed oversaturation (Table 2).

In order to investigate the factors controlling water oxygenation spatially and seasonally in the Gironde Estuary, we performed multiple correlation tests on the daily-averaged dataset of DO, turbidity, temperature and river discharge, from 2006 to 2011 at the four stations (Table 3). To separate the solubility effect of temperature on DO (Fig. 7) from the other biological and environmental effects, tests were performed on DO data expressed in both mg L^{-1} and % of saturation. The inverted pattern at Pauillac compared to the other stations is confirmed by the ANCOVA analysis, as: (1) a positive correlation was observed between DO (mg L^{-1}) and turbidity, whereas correlations were negative at the three other stations; this is because at Pauillac, highest DO occurred in cold waters in winter, when the TMZ was present; (2) a positive correlation was found between DO (%) and temperature, whereas correlations were negative at the three other stations; (3) a negative correlation was found

between DO (%) and river discharge, whereas correlations were positive at the three other stations (Table 3).

For the three upstream stations, where most severe oxygen depletion occurred (Table 2), DO in mg L^{-1} showed the strongest correlation with temperature, whereas DO in % of saturation showed the strongest correlation with turbidity (Table 3). This indicates that DO depletion in waters is linked to both solubility effects due to temperature and a biogeochemical effect due to enhanced respiration in the TMZ, where organic matter⁸ and heterotrophic bacteria^{14,15} are concentrated. In the Ems Estuary, field and model results showed also strong variations in DO contents, caused both by temperature and variation in the hydrologic cycle with low discharge during the

Table 3 Pearson's correlation between monthly average DO (in mg L^{-1} and in % of saturation) and parameters (Temp.: temperature; turbidity and river discharge) per station. All correlations were significant at the 0.0001 probability level

	Temp.	Turbidity	River discharge
DO mg L^{-1} f ()			
Portets	−0.79	−0.70	0.42
Bordeaux	−0.88	−0.63	0.57
Libourne	−0.85	−0.60	0.55
Pauillac	−0.83	0.28	0.34
DO % sat f ()			
Portets	−0.23	−0.63	0.25
Bordeaux	−0.62	−0.65	0.54
Libourne	−0.27	−0.52	0.35
Pauillac	0.39	−0.18	−0.33

summer period.⁴² The two effects occur concomitantly, leading to a strong potential for biological stress and hypoxia at these three stations in summer. In the following sections, we will focus on these three stations.

4.2 Evidence of an urban impact

4.2.1 Comparison of DO levels in the Garonne and Dordogne tidal rivers. Contrary to monthly averaged data (Fig. 3), daily-averaged data as shown in Fig. 4 for the year 2011, reveal the occurrence of discharge peaks lasting less than one month in the Garonne and Dordogne tidal rivers, even in summer. The three stations experienced significant oxygen depletion in the

TMZ in summer 2011, but at different levels (Fig. 4). At Bordeaux and Libourne, daily-averaged DO minima occurred at the spring to neap tide transition (Fig. 4C and D), consistent with the raw data signal (Section 4.1.1 and Fig. 2). Although Libourne recorded extremely high turbidity, occasionally above the saturation value of 9999 NTU (corresponding to a SPM concentration of 12 g L^{-1}), DO remained always higher than 5.8 mg L^{-1} . At Bordeaux, DO was below the 5 mg L^{-1} threshold for biological stress during almost three weeks in late August to early September. However, the summer 2011 period was not critical: moderately high temperatures (max $25.8 \text{ }^\circ\text{C}$) and few peaks in river discharge (Fig. 4A). A saturation rate higher than

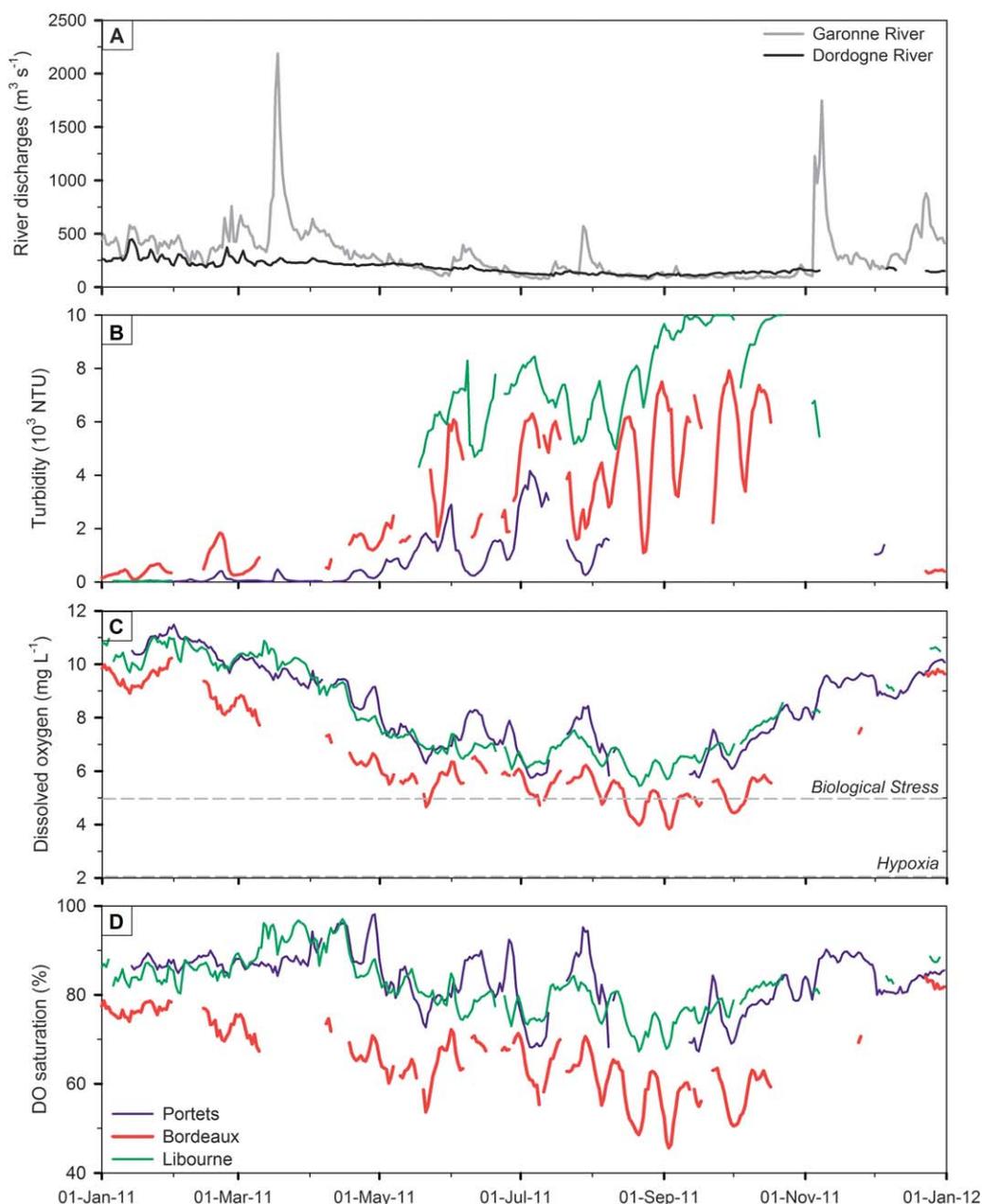


Fig. 4 Evolution of daily average values of Garonne and Dordogne Rivers ($\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$), turbidity (10^3 NTU), dissolved oxygen (mg L^{-1} and %) during 2011, at the stations Portets (blue), Bordeaux (thick red) and Libourne (green).

40% was maintained. This was not the case in summer 2006, when a daily-averaged saturation of 25% was recorded at Bordeaux (not shown).

When analysing these daily-averaged data for the period between the 1st of August and the 31st of September 2011, temperature was not significantly different at both stations ($p > 0.05$), turbidity was significantly higher at Libourne than at Bordeaux ($p < 0.01$), whereas oxygen was significantly lower at Bordeaux than at Libourne ($p < 0.05$). In parallel, we tested the difference between stations for the summer periods of the whole daily-averaged dataset (Table 2). Temperature and turbidity were not significantly different ($p < 0.01$) between the three stations of Portets, Bordeaux and Libourne. In contrast, DO (expressed in mg L^{-1} and in % of saturation) was significantly lower ($p < 0.0001$) at Bordeaux than at Portets and Libourne. This suggests an impact of the city of Bordeaux (715 000 inhabitants), which releases domestic waters after treatments, at two major points in front of the city. Daily organic carbon and ammonium fluxes from wastewater treatment plants are estimated at respectively 4.5 t C per day and 4.5 t N per day (Lanoux, unpublished data). In comparison, mean inputs of biodegradable organic carbon (mainly freshwater phytoplankton) and ammonium from the Garonne River during summer are respectively 4 t C per day (ref. 19) and 0.3 t N per day (ref. 17). As nitrification consumes twice as much oxygen as does mineralization of the organic carbon, the impact of urban sewage loads on Garonne oxygenation around the city of Bordeaux is potentially higher than river inputs coming from upstream. During summer low river discharge and long residence time of water, urban inputs of highly biodegradable organic matter and ammonia fuel microbial respiration and nitrification in the TMZ and constitute significant additional factors that contribute to hypoxia in this tidal reach of the Garonne River (Fig. 2–4; Table 2).

4.2.2 Occurrence of a DO depleted water mass centered on Bordeaux. Further evidence of an urban impact on the Garonne tidal river in summer comes from DO variations throughout tidal cycles, which show different timing at Bordeaux and at Portets located 20 km upstream. Fig. 5 shows, as an example, 10 min raw data of DO concentration, salinity and the water level from the 12th to 13th July 2006 at Bordeaux and Portets. Discharge of the Garonne River was relatively constant between 83 and 124 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ during this period, and the lowest DO concentration recorded was 2.3 mg L^{-1} . The water level varied from 0.9 to 6.3 m at Bordeaux and from 1.3 to 6.7 m at Portets. The salinity was maximum at high tide at both stations. In addition, the high tide salinity at Portets was very similar to the low tide salinity at Bordeaux, reflecting the upstream advection of estuarine waters. The turbidity ranged from about 750 to above the saturation value of 9999 NTU at both stations (not shown), without significant difference between stations.

At Bordeaux, the highest DO concentration occurred at high tide slack water and the lowest DO occurred at low tide (Fig. 5). At Portets, the trend in DO concentration was the opposite, with minima recorded at high tide slack water and maxima at low tide (Fig. 5). In addition, the low tide DO concentration at Bordeaux exactly matched the high tide DO concentration at

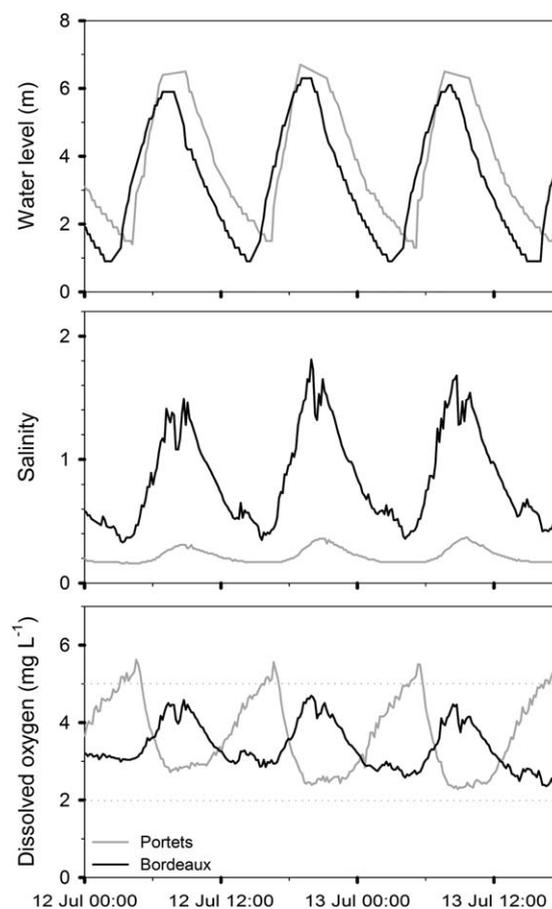


Fig. 5 Temporal evolutions of the water level, salinity and DO contents at Bordeaux (black) and Portets (grey) from July 12 to 13, 2006. Data frequency was 10 minutes.

Portets, the same as for salinity. This phase offset in DO between Bordeaux and Portets is another indication of the impact of the city of Bordeaux: at Bordeaux DO is highest at high tide when dilution with estuarine saltier water occurs; at Portets DO is minimum at high tide when waters from Bordeaux are advected, but maximum at low tide when dilution with fresh riverine water occurs. This illustrates the upstream migration of oxygen-depleted waters from Bordeaux to Portets with the flood tide. One could expect an equivalent migration of urban impacted waters downstream with the ebb tide, although there is no observation at present to corroborate this hypothesis. DO contents in this area during low-water periods, are expected as an inverted bell curve centred on Bordeaux and with an extension of several dozens of km upstream and downstream of the city.

4.3 Crucial importance of minimal instream flow

As discussed previously, the monitoring network revealed that hypoxia occurred in the TMZ, in warm waters and in the vicinity of the city of Bordeaux. Hypoxic events were always associated with low river discharge, as this determines the position of the TMZ in the upstream part of the estuary in front of the urban area of Bordeaux. However, during summer, river discharge

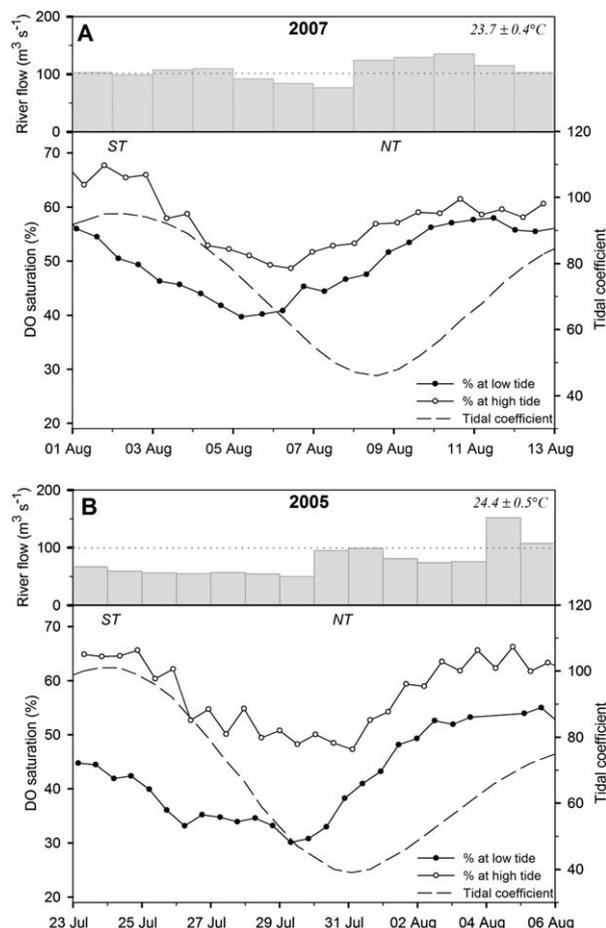


Fig. 6 DO saturation at Bordeaux at low (full circle) and high tide (empty circle) according to normalized tidal coefficient (dotted line at Spring Tide, ST and Neap Tide, NT) and river discharge: (A) from August 1 to 10, 2007, and (B) from July 23, to August 06, 2005. Corresponding water temperature range is also plotted for the two situations.

may act in a second and subtler way on DO, by renewing water in the hypoxic estuarine section with more oxygenated upstream freshwaters. To investigate the occurrence of such processes, we selected the dataset at Bordeaux for two summer periods in 2007 and 2005 (Fig. 6).

DO saturation at low and high tide slacks have been selected for the periods from 01st to 13th August 2007 (Fig. 6A) and from 23rd July to 06th August 2005 (Fig. 6B), two summer periods with different hydrological conditions: temperature difference was only 0.7 °C, whereas river discharge was significantly lower in 2005 compared to 2007 ($p < 0.01$). Turbidity (643–9999 NTU in 2007 and 642–9999 NTU in 2005) and salinity (0.18–0.95 in 2007 and 0.23–2.18 in 2005) trends were also similar for both situations. As described in Section 4.1.1, DO decreased from spring to neap tides for both periods. At high tide, DO saturation varied from 47 to 66% in 2005 and from 48 to 68% in 2007. At low tide DO was between 40 and 58% in 2007 and between 30 and 55% in 2005.

The only difference between the two selected periods was the river discharge, which remained well below $100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during several days in 2005 (Fig. 6B), but not in 2007. At very low discharges, residence time of water bodies is longer and water

renewal is lower. The continuous input from the two wastewater treatment plants (about 715 000 inhabitant-equivalents) may then generate additional oxygen consumption due to degradation of the organic carbon and ammonium. River discharge $>100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ apparently allows a higher dilution and dispersion of urban effluent from Bordeaux, as probably occurred during the second part of the 2005 selected period (from the 30th of July to the 6th of August in Fig. 6B), concomitantly with higher tidal intrusion. The limit of $100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ is the criterion for management of dams to release water from dams on the watershed in order to sustain flow discharges. We conclude that this minimum discharge is also critical to avoid drastic oxygen depletion in the Garonne River around Bordeaux.

5 Conclusion

The high-frequency of measurements of the MAGEST network provides detailed information on water quality that would not be obtained by classical sampling, even on a daily basis. A synthesis of different factors influencing DO at the four stations is presented in Table 4. Monthly average data highlight a clear seasonal signal whereas 10 min raw data shows evidence of semi-diurnal and neap–spring tidal variations. At these scales, the lowest DO saturation is recorded during low tide and at the spring to neap transition. Spatio-temporal variations in DO are in accordance with the location of the considered station in the Gironde Estuary. In fact, the Gironde Estuary reveals most of the time acceptable oxygen levels, except during some exceptional situations. Some borderline hypoxic situations are observed during marked summer and low-river flow (below $100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during several successive days) on the Garonne section. Pauillac, the station in the central estuary, records the highest oxygen levels throughout the year (Table 4) due to the presence of the TMZ preferentially in winter, and inputs of oxygenated oceanic waters. Portets and Libourne, the upstream stations on the Garonne and Dordogne Rivers, show the same trends as those observed at Bordeaux, with an oxygen decline during the summer period, when temperatures are the highest and river discharges are the lowest. Bordeaux on the Garonne tidal river showed significantly lower DO level than Libourne on the Dordogne. Thanks to a careful analysis of the large dataset, we could demonstrate that water oxygenation at Bordeaux was also affected by local urban inputs (Table 4). The main factors that influence DO contents are the temperature, turbidity and sewage loads. Within a tidal cycle, DO in Portets is out of phase compared to Bordeaux, due to the tidal upstream advection of oxygen-depleted waters. In summer, minimal instream flow above $100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ in the Garonne allows avoidance of the drastic hypoxic situation by renewing water masses in the city of Bordeaux.

Low-water-level periods lasting several months in the upper Gironde Estuary have increased in frequency in the last 15 years. A few episodes of hypoxia have been reported during severe droughts of 1976, 1989 and 2006.²⁰ Increases in temperature (+2 °C) and salinity (+3) in central estuarine waters were recorded between 1978 and 2003,⁴³ with a direct influence on distribution and behaviour of zooplankton communities.⁴⁴ As temperature is a key factor controlling the DO concentration,

Table 4 Factors influencing dissolved oxygen (concentration, %saturation) by stations in the Gironde Estuary. The situation of low discharge is considered separately. Range of values recorded during the long-term monitoring (2005–2011) are given for each station. The population of each city is given for indication; the station Bordeaux encompasses the city of Bordeaux and its megacity suburb^a

Factors Stations	Low discharge: Garonne <200 m ³ s ⁻¹ ; Dordogne <100 m ³ s ⁻¹ T > 20 °C							Mean to high discharges T < 20 °C						
	Trends in O ₂	Increasing temperature	Turbidity	Urban wastes	Tidal cycle			Trends in O ₂	Decreasing temperature	Turbidity	Urban wastes	Tidal cycle		
					LT	Mid-Tide	HT					LT	Mid-Tide	HT
Portets 2258 inhab.	2–6 mg L ⁻¹ ; 25–60%							6–12 mg L ⁻¹ ; 65–100%						
	↘	↘	↘	○	↗	↘	↘	↗	↗	↘	○	↗	↗	↗
Bordeaux 715 000 inhab.	1.5–6 mg L ⁻¹ ; 20–60%							6–12 mg L ⁻¹ ; 60–90%						
	↘	↘	↘	↘	↘	↗	↗	↗	↗	↘	↘	↗	↗	↗
Libourne 23 725 inhab.	3–6 mg L ⁻¹ ; 45–60%							6–13 mg L ⁻¹ ; 70–100%						
	↘	↘	↘	?	↗	↘	↗	↗	↗	↘	?	↗	↗	↗
Pauillac 5195 inhab.	7–10 mg L ⁻¹ ; 70–90%							8–12 mg L ⁻¹ ; 85–100%						
	↗	↘	↘	○	↗	↗	↗	↗	↗	↘	○	↗	↗	↗

^a Trends in dissolved oxygen: moderate (↘) or pronounced (↙) decrease, moderate (↗) or pronounced (↘) increase, almost in equilibrium (↔); impact: moderate (↘) or pronounced (↙) decrease, moderate (↗) or pronounced (↘) increase, almost in equilibrium (↔), negligible (○), and speculative (?). Abbreviations: LT, Low Tide and HT, High Tide.

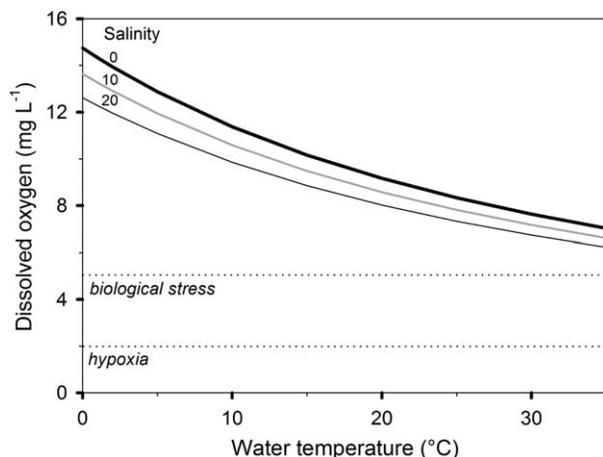


Fig. 7 Evolution of dissolved oxygen concentration (100% oxygen saturation) and correlations with different water temperatures and salinities, based upon algorithm from Benson and Krause.⁴⁵

these changes are also likely to increase the occurrence of hypoxia. The synergic effect of increasing temperature, decreasing summer river discharge and increasing urban population will promote the establishment of seasonal hypoxia in the fluvial section of the Gironde Estuary close to Bordeaux in the next decades.

Acknowledgements

The MAGEST monitoring network is financially supported by the following organisms: AEAG (Agence de l'Eau Adour-

Garonne); SMIDDEST (Syndicat Mixte pour le Développement Durable de l'Estuaire de la Gironde); SMEAG (Syndicat Mixte d'Etudes et d'Aménagement de la Garonne); EPIDOR (Etablissement Public Interdépartemental de la Dordogne); EDF; GPMB (Grand Port Maritime de Bordeaux); CUB (Communauté Urbaine de Bordeaux); Conseil Régional Aquitaine; CG-33 (Conseil Général de Gironde); Ifremer; CNRS; Université Bordeaux 1. The authors also thank the support of the OASU (Observatoire Aquitain des Sciences de l'Univers) through the SOLAQUI office (Service d'Observation du Littoral Aquitain).

References

- 1 G. Billen, H. Décamps, J. Garnier, M. Meybeck, P. Servais and P. Boët, *River and Stream Ecosystems*, Elsevier, France, Belgium, Netherlands, 1995, pp. 389–418.
- 2 R. J. Diaz and R. Rosenberg, *Science*, 2008, **321**, 926–929.
- 3 N. N. Rabalais, R. J. Díaz, L. A. Levin, R. E. Turner, D. Gilbert and J. Zhang, *Biogeosciences*, 2010, **7**, 585–619.
- 4 T. A. Lowery, *J. Environ. Manage.*, 1998, **52**, 289–305.
- 5 A. Newton, P. S. Oliveira, J. D. Icely and P. A. Foster, *J. Environ. Monit.*, 2010, **12**, 355–360.
- 6 J. Garnier, P. Servais, G. Billen, M. Akopian and N. Brion, *Estuaries Coasts*, 2001, **24**, 964–976.
- 7 J.-P. Gattuso, M. Frankignoulle and R. Wollast, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 1998, **29**, 405–434.
- 8 G. Abril, M. Nogueira, H. Etcheber, G. Cabeçadas, E. Lemaire and M. J. Brogueira, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2002, **54**, 241–262.
- 9 R. J. Diaz, *J. Environ. Qual.*, 2001, **30**, 275–281.

- 10 B. Wang, Q. Wei, J. Chen and L. Xie, *Mar. Environ. Res.*, 2012, **77**, 1–5.
- 11 G. P. Allen, J. C. Salomon, P. Bassoullet, Y. Du Penhoat and C. de Grandpré, *Sediment. Geol.*, 1980, **26**, 69–90.
- 12 A. Sottolichio and P. Castaing, *C. R. Acad. Sci., Ser. IIA: Sci. Terre Planetes*, 1999, **329**, 795–800.
- 13 X. Irigoien and J. Castel, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 1997, **44**, 507–517.
- 14 N. K. Goosen, J. Kromkamp, J. Peene, P. van Rijswijk and P. van Breugel, *J. Mar. Syst.*, 1999, **22**, 151–171.
- 15 B. C. Crump, J. A. Baross and C. A. Simenstad, *Aquat. Microb. Ecol.*, 1998, **14**, 7–18.
- 16 G. Abril, H. Etcheber, P. L. Hir, P. Bassoullet, B. Boutier and M. Frankignoulle, *Limnol. Oceanogr.*, 1999, **44**, 1304–1315.
- 17 G. Abril, S. A. Riou, H. Etcheber, M. Frankignoulle, R. de Wit and J. J. Middelburg, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2000, **50**, 703–715.
- 18 L. Maurice, *Oceanol. Acta*, 1994, **17**, 501–516.
- 19 H. Etcheber, A. Taillez, G. Abril, J. Garnier, P. Servais, F. Moatar and M. V. Commarieu, *Hydrobiologia*, 2007, **588**, 245–259.
- 20 H. Etcheber, S. Schmidt, A. Sottolichio, E. Maneux, G. Chabaux, J.-M. Escalier, H. Wennekes, H. Derriennic, M. Schmeltz, L. Quémener, M. Repecaud, P. Woerther and P. Castaing, *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 2011, **15**, 831–840.
- 21 B. Thouvenin, P. Le Hir and L. A. Romana, *Dissolved oxygen model in the Loire Estuary*, Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark, 1994, pp. 169–178.
- 22 A. Chaudon, *Les crises d'anoxie dans l'estuaire de la Loire: caractérisation et approche de leur incidence sur la transparence migratoire*, Rapport Groupement d'Intérêt Public Loire Estuaire, Nantes, 2005, p. 34.
- 23 E. Gareil, S. Nunes, J. Neto, R. Fernandes, R. Neves, J. Marques and Ó. Ferreira, *Geo-Mar. Lett.*, 2009, **29**, 331–341.
- 24 G. P. Allen, G. Sauzay, P. Castaing and J. M. Jouanneau, *Estuarine Processes*, New York, 1977, pp. 63–81.
- 25 C. Ignasse, M. F. Indraccolo and M. Zannettacci, *Annuaire statistique de la France*, INSEE, 105, 2002.
- 26 J. M. Jouanneau and C. Latouche, *The Gironde Estuary*, e. Schweizerbart, Stuttgart, 1981, p. 115.
- 27 H.-K. Saari, S. Schmidt, P. Castaing, G. Blanc, B. Sautour, O. Masson and J. K. Cochran, *Sci. Total Environ.*, 2010, **408**, 4784–4794.
- 28 D. Doxaran, J.-M. Froidefond, P. Castaing and M. Babin, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2009, **81**, 321–332.
- 29 P. Castaing, J. M. Jouanneau, D. Prieur, C. Rangel-Davalos and L. A. Romaña, *J. Rech. Oceanogr.*, 1984, **9**, 115–119.
- 30 M. R. Fontugne and J.-M. Jouanneau, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 1987, **24**, 377–387.
- 31 E. Veyssey, H. Etcheber, R. G. Lin, P. Buat-Menard and E. Maneux, *Hydrobiologia*, 1999, **391**, 113–126.
- 32 J. C. Relexans and H. Etcheber, *Org. Geochem.*, 1986, **10**, 743–749.
- 33 P. Servais, G. Billen, J. Garnier, Z. Idlalkih, J.-M. Mouchel, M. Seidl and M. Meybeck, *La Seine en son bassin: Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé*, Elsevier, Paris, 1998.
- 34 S. Blain, J. Guillou, P. Treguer, P. Woerther, L. Delauney, E. Follenfant, O. Gontier, M. Hamon, B. Leilde, A. Masson, C. Tartu and R. Vuillemin, *J. Environ. Monit.*, 2004, **6**, 569–575.
- 35 W. Parker, L. Marshall and A. Parfitt, *Aquat. Ecol.*, 1994, **28**, 347–352.
- 36 R. Uncles, I. Joint and J. Stephens, *Estuaries Coasts*, 1998, **21**, 597–612.
- 37 G. Abril, M. V. Commarieu, D. Maro, M. Fontugne, F. Guérin and H. Etcheber, *Geophys. Res. Lett.*, 2004, **31**.
- 38 P. Le Hir, P. Bassoullet and H. Jestin, *Coastal and Estuarine Fine Sediments Processes*, ed. W. H. McAnally and A. J. Mehta, Elsevier, Amsterdam, 2001, pp. 229–247.
- 39 G. Abril, M. V. Commarieu, A. Sottolichio, P. Bretel and F. Guérin, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2009, **83**, 342–348.
- 40 P. Castaing and G. P. Allen, *Mar. Geol.*, 1981, **40**, 101–118.
- 41 E. Lemaire, G. Abril, R. De Wit and H. Etcheber, *Biogeochemistry*, 2002, **59**, 5–23.
- 42 S. Talke, H. de Swart and V. de Jonge, *Estuaries Coasts*, 2009, **32**, 602–620.
- 43 N. Savoye, V. David, F. Morisseau, H. Etcheber, G. Abril, I. Billy, K. Charlier, G. Oggian, H. Derriennic and B. Sautour, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2012, **108**, 16–28.
- 44 V. David, B. Sautour, P. Chardy and M. Leconte, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, 2005, **64**, 171–184.
- 45 B. B. Benson and D. J. Krause, *Limnol. Oceanogr.*, 1984, **29**, 620–632.

Annexe 3

Study of environmental impact of effluents from the Urban Community of Bordeaux (CUB) on the Garonne River water quality: the ETIAGE program (2010 – 2014).

Lanoux A., H. Etcheber, Y. Aminot, H. Budzinski, N. Deycard, G. Blanc, J. Schäfer, M. Lepage, B. Sautour, S. Bureau du Colombier & M. Baudrimont.

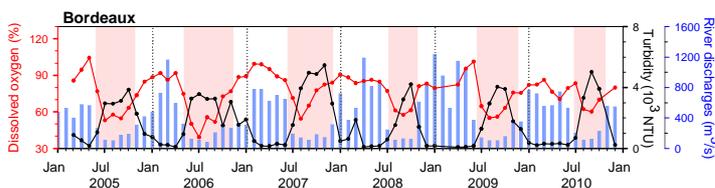
ISOBAY Symposium, Santander, Espagne, 11-13 Avril 2012.

Study of environmental impact of effluents from the Urban Community of Bordeaux (CUB) on the Garonne River water quality: the ETIAGE program (2010 - 2014)

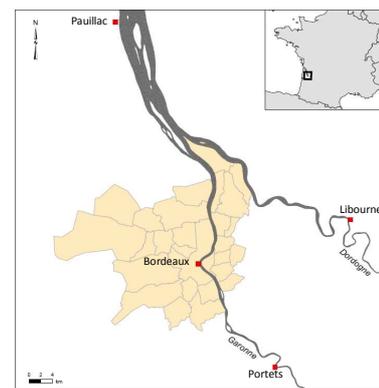
Lanoux A.¹, Etcheber H.¹, Aminot Y.¹, Budzinski H.¹, Deycard N.¹, Blanc G.¹, Schäfer J.¹, Lepage M.², Sautour B.¹, Bureau du Colombier S.¹ & Baudrimont M.¹
a.lanoux@epoc.u-bordeaux1.fr (1) Université Bordeaux I, UMR 5805 EPOC, 33405 Talence (France) - (2) IRSTEA, Centre de Bordeaux, 33612 Cestas (France).

CONTEXT

European macrotidal estuaries are characterized by long residence times both for water and suspended matters, due to tidal influence, which induces an Estuarine Turbidity Maximum (ETM) development. In this area, heterotrophy by far dominates autotrophy and consequences on the dissolved oxygen content of waters are very important. The MAGEST network has four automated stations located on the Garonne and Dordogne Rivers. It measures every 10 min turbidity, temperature, salinity and dissolved oxygen. This high frequency monitoring reveals low dissolved oxygen contents during summer period, especially around the city of Bordeaux (France).



The ETIAGE* program (ETude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne, 2010-2014) aims to clarify the real impact of wastewaters on these oxygen content decreases, behavior of pollutants and response of biological populations.



A MULTIDISCIPLINARY PROGRAM

The ETIAGE program is a multidisciplinary study on wastewaters from the city of Bordeaux. It is divided in 4 different research axes. The ultimate goal of these tasks is to achieve a good ecological status / potential of waters in 2015, and to help managers to take the most appropriate decisions concerning strategies for effluent emissions and a good management of this estuarine area.

Organic matter Oxygenation

Goal : to better understand the quality of the organic fraction associated to wastewaters of the CUB, its flow, its behavior in the natural environment and its potential impact on oxygenation of waters in this area.

Organic pollutants

Goal : to draw up a detailed screening of organic pollutants (traditional and emerging) in the effluents of the CUB wastewater treatment plants. Estimate their fluxes and behavior in this environment.

Metal inputs

Goal : to estimate the proportion of local inputs compared to the other natural and anthropogenic inputs. To achieve a quantitative and qualitative analysis of inputs and outputs of dissolved, colloidal and particulate metals transported in this area.

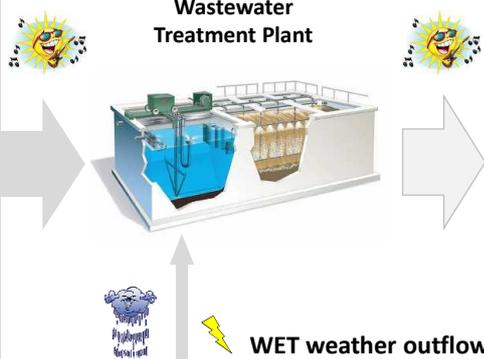
Biological response

Goal : to study consequences of organic and metallic pollutants inputs and of oxygen deficits on the presence, the level of contamination and the migration of species by making a diagnosis on the different biological group (plankton, benthos, fish).

DRY weather inflow

Average values

Dissolved Organic Carbon (DOC) = 2 500 kg/d
Ammonia nitrogen (N-NH₄⁺) = 2 600 kg/d
Carbamazepine = 26 g/d
Total Zinc = 27 kg/d
Total Copper = 11 kg/d



DRY weather outflow

Average values

DOC = 1 200 kg/d
N-NH₄⁺ = 2 300 kg/d
Carba. = 28 g/d
Total Zn = 7 kg/d
Total Cu = 2 kg/d

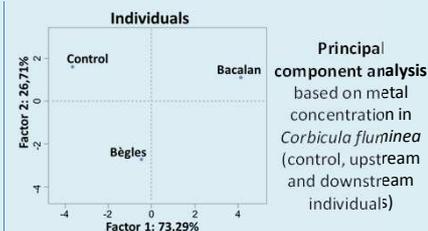
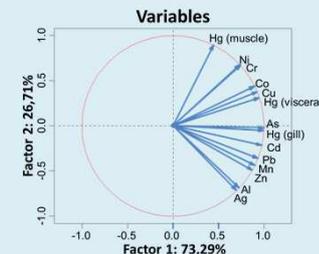
$$Q_{\text{WWTP}} < 0.4 \cdot Q_{\text{Garonne river}}$$

WET weather outflow

Garonne River



Corbicula fluminea.
 Individuals were caged upstream and downstream Bordeaux for four months.



Principal component analysis based on metal concentration in *Corbicula fluminea* (control, upstream and downstream individuals)
 → Noticeable metal accumulation in four months
 → Higher accumulation downstream Bordeaux + lower body condition

MANAGEMENT RECOMMENDATIONS

A fifth axis is to provide a synthesis of the work packages. To describe ways to improve both water and environment qualities by acting on substances and on their quantities from upstream, a better treatment and strategies for effluent emissions and/or a stronger resiliency of the natural environment during unfavorable events (diversification of habitats, aeration, dilution...).

Acknowledgments : *ETIAGE is supported by Lyonnaise des Eaux, Communauté Urbaine de Bordeaux (CUB), Agence de l'Eau Adour-Garonne (AEAG) and FEDER (via la Préfecture de Région).

Upstream inputs (Garonne River)

Annual average
DOC = 100 000 kg/d
N-NH₄⁺ = 1 400 kg/d
Carba. = 800 g/d

Low river discharge
Total Zn = 25 kg/d
Total Cu = 10 kg/d

Annexe 4

Etude des variations spatio-temporelles de la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde.

Rapport 2^{ème} année IUT, Caen, 37 p.

Aubry A. (2012)

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE DE CAEN

DEPARTEMENT GENIE BIOLOGIQUE



2^{ème} année Option Génie de l'Environnement



ANNEE SCOLAIRE 2011-2012

**ETUDE DES VARIATIONS SPATIO-
TEMPORELLES DE LA QUALITE PHYSICO-
CHIMIQUE DES EAUX DE L'ESTUAIRE
DE LA GIRONDE**

UMR CNRS 5805 EPOC Université Bordeaux 1

Responsable de stage :

Henri ETCHEBER

Etudiant stagiaire :

Aude AUBRY



INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE DE CAEN

DEPARTEMENT GENIE BIOLOGIQUE



2^{ème} année Option Génie de l'Environnement



ANNEE SCOLAIRE 2011-2012

**ETUDE DES VARIATIONS SPATIO-
TEMPORELLES DE LA QUALITE PHYSICO-
CHIMIQUE DES EAUX DE L'ESTUAIRE
DE LA GIRONDE**

UMR CNRS 5805 EPOC Université Bordeaux 1

Responsable de stage :

Henri ETCHEBER

Etudiant stagiaire :

Aude AUBRY



SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

<u>I.</u>	<u>INTRODUCTION</u>	<u>1</u>
<u>II.</u>	<u>MATERIEL ET METHODES</u>	<u>3</u>
A.	L'estuaire de la Gironde.....	3
B.	Le réseau MAGEST	3
C.	Reconstitution des données	5
<u>III.</u>	<u>RESULTATS ET DISCUSSION</u>	<u>7</u>
A.	Contexte climatique.....	7
B.	Etude de la température des eaux de l'estuaire.....	10
1.	<i>Etude des variations spatio-temporelles.....</i>	<i>10</i>
2.	<i>Reconstitution des données.....</i>	<i>16</i>
3.	<i>Critiques</i>	<i>18</i>
4.	<i>Evolution future des températures et impact potentiel sur le biotope.....</i>	<i>19</i>
C.	Etude des données oxygène du réseau MAGEST	20
1.	<i>Fonctionnement de l'oxygène dans l'eau</i>	<i>20</i>
2.	<i>Etude des variations spatio-temporelles de l'oxygène et des périodes critiques</i>	<i>21</i>
3.	<i>Les facteurs « forçants ».....</i>	<i>26</i>
4.	<i>Reconstitution des données.....</i>	<i>28</i>
5.	<i>Impacts sur les poissons et futur.....</i>	<i>29</i>
<u>IV.</u>	<u>CONCLUSION</u>	<u>30</u>
	BIBLIOGRAPHIE.....	32
	ANNEXES.....	33

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Henri Etcheber pour m'avoir permis d'effectuer ce stage dans les meilleures conditions et confié toutes ses connaissances sur l'estuaire, pour m'avoir encouragée, mais aussi pour son humour et sa bonne humeur **quotidienne**.

Je remercie également Jérôme De Watteville et Ziad Qriouet, avec qui j'ai travaillé, pour m'avoir fait part de leur travail et de leurs connaissances sur l'oxygénation et sur les poissons de l'estuaire.

Un grand merci aussi à toute l'équipe du laboratoire EPOC, notamment à Aurélie, Cindy, Laureline et Nicole, qui m'ont bien accompagnée durant ce stage.

Merci aussi à Sabine Schmidt et Gérard Chabaud pour m'avoir emmenée voir les stations MAREL sur le terrain.

Je remercie aussi Monsieur Michel Guillemeau et Jonathan Avaro pour leurs conseils et leur aide quant à la construction de certains graphiques.

Enfin je remercie Monsieur Mohamed Maache, mon tuteur de stage, pour sa disponibilité et ses réponses à mes interrogations.

I. INTRODUCTION

Le laboratoire dans lequel s'est déroulé mon stage est l'UMR EPOC (Environnements, Paléo-environnements, Océaniques et Continentaux) qui est une Unité Mixte de Recherche, commune à plusieurs organismes : l'Université Bordeaux 1, l'Université Bordeaux 4, le CNRS (Centre National de Recherche Scientifique) et l'Ecole Pratique des Hautes Ecoles.

Quatre laboratoires sont regroupés dans l'UMR ce qui en fait un laboratoire pluridisciplinaire :

- le Département de Géologie et Océanographie,
- le laboratoire d'Océanographie Biologique,
- le laboratoire d'Écotoxicologie et d'Ecophysiologie des Systèmes Aquatiques
- le laboratoire de Physique-Chimie et de Toxico-Chimie de l'Environnement.

L'UMR possède trois secteurs d'activité majeurs qui sont :

- la recherche scientifique dans l'ensemble des secteurs de l'environnement et des paléo-environnements aquatiques océaniques et continentaux,
- la formation par la recherche à l'université de Bordeaux 1,
- l'observation à long terme et à haute fréquence des milieux environnementaux.

Environ 120 permanents, (enseignants, chercheurs, ingénieurs, techniciens, administratifs), dépendants du CNRS et de l'Education Nationale, travaillent dans l'UMR EPOC sur cinq thèmes de recherche différents (cf. Annexe I, p 33). Y sont associés des étudiants en 4^{ème} et 5^{ème} année d'étude.

Mon stage s'est déroulé dans l'équipe thématique ECOBIOC, où qualités des eaux, processus biogéochimiques et réponses biologiques sont les priorités d'études.

Depuis plusieurs années, le réchauffement climatique est le sujet de bien des préoccupations scientifiques. L'hypothèse selon laquelle la température à la surface de la Terre ne va cesser d'augmenter est dorénavant irréfutable. En effet, les émissions de CO₂ notamment d'origine anthropique n'ont cessé d'augmenter depuis plusieurs années, accentuant le phénomène d'effet de serre. Le principal impact du réchauffement climatique a pour effet une augmentation de la température de l'air et des eaux, ayant pour conséquence directe la fonte des glaciers et une élévation du niveau des eaux dans le monde.

Les 2/3 de l'humanité vivant à proximité des zones côtières, les environnements aqueux de ces zones sont très fragilisés et nécessitent d'être préservés et surveillés au maximum. En effet, ces milieux jouent le rôle de nourricerie pour bien des espèces et sont, de plus, le passage obligé des poissons migrateurs, (Chaudon, 2005).

C'est pour comprendre parfaitement les variations spatio-temporelles de la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde et déterminer les rôles dus au changement climatique et aux pressions anthropiques, qu'un réseau de surveillance a été mis en place depuis 2005. Ce dernier mesure à haute fréquence les paramètres suivants : la température, la salinité, les teneurs en matières en suspension (assimilées à la turbidité) et en oxygène dissous. Ce suivi doit permettre de comprendre le fonctionnement de l'estuaire et de hiérarchiser les facteurs et les processus majeurs influençant les variations spatio-temporelles de la qualité de ces eaux.

Les objectifs de ce stage, à partir des analyses des données du réseau MAGEST, en se limitant à la température et aux teneurs en oxygène pour une simple question de durée de stage, ont été de répondre, même de façon très synthétique, aux questions suivantes :

- **Comment varie la température des eaux dans l'estuaire ?**
- **Quelle est la périodicité des phénomènes de sous-oxygénation, comme de longues dates dans l'estuaire ? Quelles en sont les causes ?**
- **Les effets du changement climatique sont-ils déjà sensibles et quelles seront les conséquences biologiques ?**

II. MATERIEL ET METHODES

A. L'estuaire de la Gironde

La Gironde est classée comme l'estuaire le plus vaste de France et d'Europe occidentale avec une superficie d'environ 630 km², et une longueur de 75 km. Il est le résultat de la confluence, au niveau du bec d'Ambès, de deux fleuves : la Garonne (575 km) et la Dordogne (472 km). Ces deux fleuves drainent des bassins versants de 56 000 km² et 24 000 km² respectivement et géographiquement différents, puisque la Garonne prend sa source dans les Pyrénées centrales espagnoles, et la Dordogne prend sa source dans le Puy de Dôme. L'estuaire débouche sur l'océan Atlantique et l'influence marine s'y fait ressentir jusqu'à 150 km en amont.

B. Le réseau MAGEST

Le réseau MAGEST (MArel Gironde ESTuaire) est un réseau d'observation automatisé qui permet de suivre à haute fréquence (une mesure toutes les dix minutes) la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde. Il a pour objectifs :

- D'établir une base de données pour mieux comprendre le fonctionnement de l'estuaire de la Gironde, comme l'hydrologie, la dynamique des sédiments et l'oxygénation des eaux de l'estuaire ;
- De visualiser les variations à différentes échelles de temps (journalière, saisonnière, interannuelle) des quatre paramètres physico-chimiques pris en compte (température, salinité, teneurs en matières en suspensions et en oxygène dissous)
- D'étudier l'impact du changement climatique sur le fonctionnement de l'estuaire et la qualité de ses eaux ;
- De comprendre les mécanismes régissant l'équilibre biogéochimique des eaux de l'estuaire, afin de prévoir et limiter les périodes de sous-oxygénation (hypoxie) dans le futur.

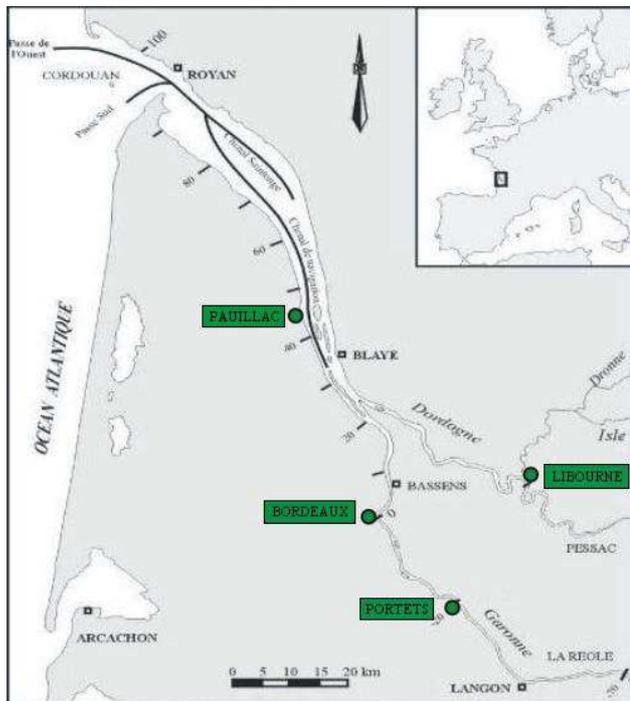


Figure 1 : Localisation géographique de l'estuaire et disposition des stations Marel

Dans le cadre de cette étude, quatre stations Marel, développées par la Direction de la Technologie Marine et des Systèmes d'Information (TMSI) d'IFREMER, ont été réparties entre l'estuaire fluvial et l'estuaire central de la Gironde, (Figure 1) :

- Libourne (sur la Dordogne),
- Portets (sur la Garonne),
- Bordeaux (sur la Garonne),
- Pauillac (sur la Gironde).

Les stations de Libourne et Portets sont représentatives des eaux fluviales de la Dordogne et de la Garonne. La station de Pauillac est représentative de la qualité globale des eaux dans l'estuaire central (eaux turbides et forte influence marine), alors que la station de Bordeaux permet la surveillance d'un éventuel impact anthropique sur les eaux (rejets urbains).

Les stations MAREL sont équipées d'un système de mesure in situ, adapté aux contraintes de la surveillance en milieu marin et estuarien. Elles sont munies de trois sondes : une sonde de salinité et température, une autre sonde de turbidité et, enfin, une dernière sonde pour la mesure de l'oxygène. Ces trois sondes sont installées dans une chambre de passage.

Avant chaque installation, les sondes sont calibrées au laboratoire. Tous les trois mois, les sondes sont remplacées par un nouveau jeu de sondes, calibrées elles aussi, et les capteurs sont testés, pour validation des mesures avec la même méthode que celle utilisée pour la calibration, afin de vérifier la justesse des valeurs ou une éventuelle dérive des mesures.

Les mesures sont faites à 1,5 m sous la surface de l'eau. L'eau passe par une crépine à l'aide d'une pompe péristaltique. Les mesures sont envoyées au laboratoire EPOC de l'Université Bordeaux 1, une fois passées dans un système liquisys et enregistrées par l'unité centrale de la station. A la fin de chaque cycle de mesure, un système automatisé envoie du chlore dans le circuit pour éviter toute prolifération d'algues. Plus de détails sur le fonctionnement de ces stations sont donnés en annexe II, page 34.

C. Reconstitution des données

Avec une fréquence de mesure de 10 minutes, les bases de données MAGEST permettent d'obtenir 52 560 données par an, par station et pour chaque paramètre. Mais à cause de nombreux problèmes techniques (pannes de pompe, pannes d'électricité, pannes du réseau informatique, fils sectionnés, etc...) les bases de données peuvent être très incomplètes. Or, elles doivent être complètes pour pouvoir faire des statistiques sur des cycles annuels et pour comparer les années.

Pour compléter les données manquantes, des moyennes journalières des différents paramètres (température et oxygène dissous) ont tout d'abord été calculées à l'aide d'un tableau croisé dynamique. Les données manquantes ont alors été plus facilement repérables, ne serait-ce que par le tracé d'un graphique montrant ces moyennes sur l'année. Dans le cas des manques de données de périodes inférieures ou égal à 24h, (soit une seule donnée entre deux moyennes journalières), la donnée manquante a été reconstituée par une moyenne entre la donnée de la veille et celle du lendemain.

Pour compléter les grandes périodes sans mesures, des corrélations ont été établies entre les mesures obtenues dans les différentes stations, sur des jeux de données simultanées, antérieurs aux périodes de manque. Par exemple, lorsqu'il manquait des données au niveau de Bordeaux, et qu'à ce moment là, Portets avait un jeu de données complet, l'utilisation d'une relation établie sur une période antérieure au manque de données et faite, elle, sur deux jeux simultanés, permet alors de reconstituer des données sur le site de Bordeaux. (Figure 2)

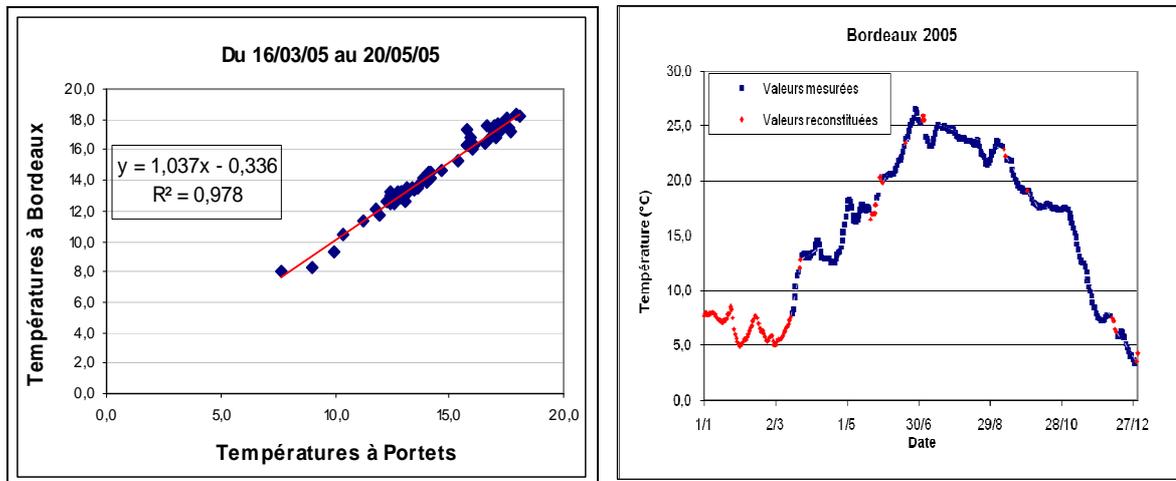


Figure 2 : Exemple d'une reconstitution de données de température à Bordeaux en 2005

La très bonne corrélation ($r^2 = 0,978$) entre les données Bordeaux / Portets sur les périodes de Mars à Mai 2005 (prises comme l'exemple en figure 2) et confirmés sur plusieurs autres périodes permet, sans ambiguïté, et avec une précision bien inférieure à 5%, de tracer un cycle complet de la variabilité annuelle des températures moyennes journalières à Bordeaux.

Il est arrivé que le coefficient de corrélation entre les données de deux stations était de l'ordre de 0.90, les données manquantes pour la station étudiée ont alors été reconstituées différemment : par exemple, pour la station de Libourne, où les données antérieures aux données manquantes étaient comprises entre les températures relevées à deux autres stations, il a été procédé à la moyenne des températures observées à Portets et Bordeaux qui, alors, ont été proposées pour combler les valeurs manquantes de Libourne, avec encore une précision inférieure à 5 %.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

A. Contexte climatique

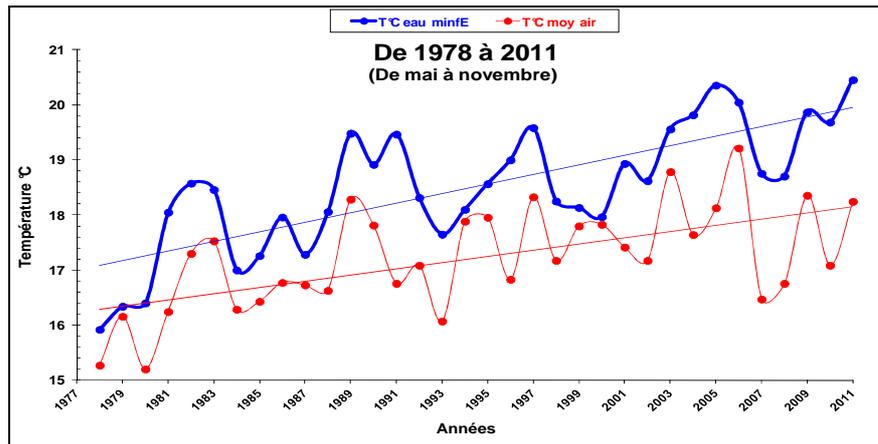


Figure 3 : Graphique des températures de l'eau et de l'air de 1978 à 2011 (Etcheber et al., 2012)

D'après les données SOMLIT, (données sur le long terme, cf. annexe III, page 36), les températures des eaux, au centre de l'estuaire (moyenne annuelle de Mai à Novembre) sont naturellement corrélées à celles de l'air (Figure 3). Un réchauffement des eaux de l'ordre de 2°C environ est constaté depuis les trente dernières années. Ceci est une conséquence directe du réchauffement climatique actuel : les élévations de température de l'air sont de plus en plus prononcées depuis ces dix dernières années, et les prévisions des scientifiques prévoient une accélération de ce phénomène.

Cette élévation des températures de l'air joue aussi sur la pluviométrie et donc indirectement sur les débits. Il m'a été communiqué oralement que la pluviométrie annuelle a diminué très significativement depuis 1983, phénomène agissant directement sur les débits des cours d'eau.

Sur la figure 4, est tracée la moyenne mensuelle interannuelle des débits (en rouge, gras) qui correspond à la moyenne des débits moyens mensuels, faite de 1959 à 2011 (soit sur une période de 52 ans). Depuis 2003, les débits moyens mensuels sont, le plus souvent, inférieurs à ceux correspondant à la moyenne mensuelle interannuelle.

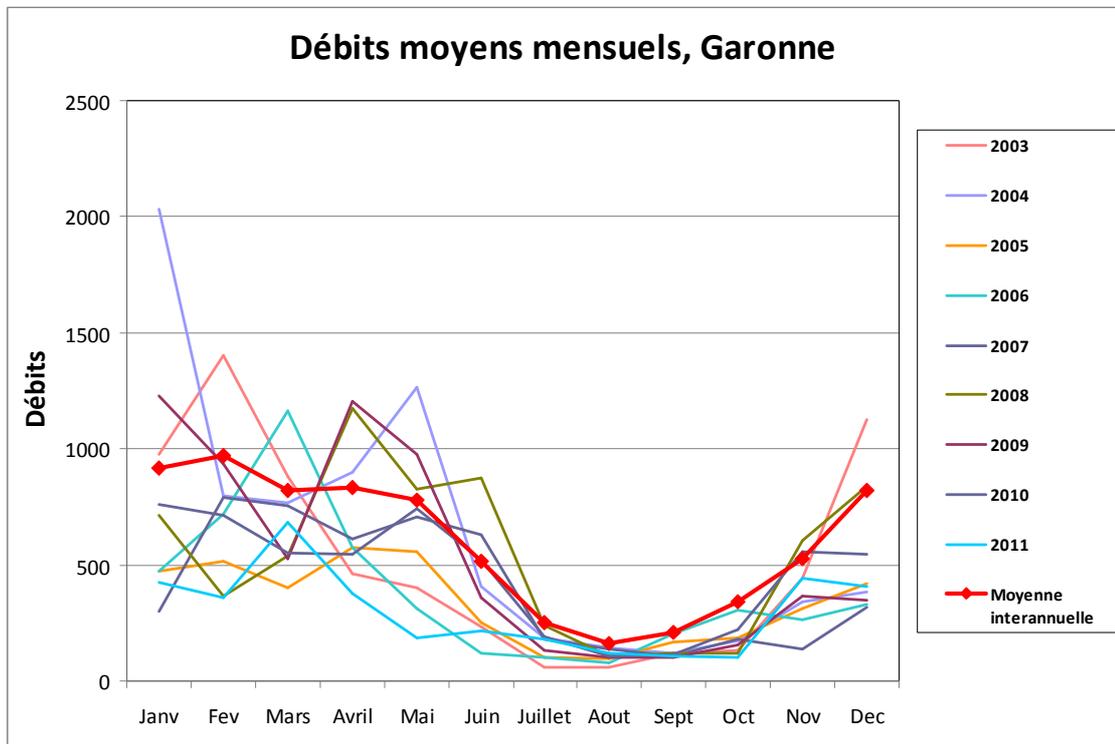


Figure 4 : Débits moyens mensuels de la Garonne, année par année

Ceci est très prononcé pour les périodes d'étiages estivaux, au sens large (de Juin à Octobre), qui, comme nous le verrons, seront des périodes critiques pour la qualité des eaux, principalement pour leur oxygénation. Les étiages durent plus longtemps depuis quelques décennies et présentent des débits plus faibles. Il n'en reste pas moins que les années 2003-2011, en plus de leurs étiages prononcés, révèlent des débits moyens annuels de la Garonne tous inférieurs à ceux correspondant à la période 1959-2011, évalués à 650 m³/s (Tableau 1).

Au-delà d'un contexte révélant une baisse globale des moyennes annuelles des débits sur les années de fonctionnement du réseau MAGEST, comparativement aux décennies précédentes, une étude plus approfondie des débits d'étiage en Garonne apporte des informations supplémentaires (Tableau 1).

Tableaux 1 : Données statistiques des débits, notamment les périodes d'étiage de Garonne et Dordogne de 2003 à 2011

	G A R O N N E								
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Moyenne Q annuelle (m3/s)	521	628	337	387	403	544	535	464	299
Moyenne Q étiage (m3/s)	90	141	127	101	139	119	119	126	129
Date étiage	17/06 - 28/10	12/07 - 27/10	26/06 - 15/09	29/05 - 15/09	16/07 - 21/11	18/07 - 30/10	05/07 - 04/11	15/07 - 11/10	16/06 - 3/11
Nb jours étiage	134	107	111	110	143	104	123	89	141
Nb jours < 100 m3/s	97	18	43	58	25	18	41	26	57
Q journalier min (m3/s)	55	70	50	56	74	83	67	74	71
Q journalier max (m3/s)	4261	4035	1021	4029	1914	3208	4738	1861	2187
%	72%	17%	39%	53%	17%	17%	33%	29%	40%

	D O R D O G N E								
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Moyenne Q annuelle (m3/s)	249	276	225	266	280	316	244	311	201
Moyenne Q étiage (m3/s)	123	151	145	126	158	150	138	153	141
Date étiage	27/03 - 27/10	07/06 - 27/10	05/06 - 04/12	30-05 - 19/10	31/07 - 04/12	10/07 - 19/11	22/06 - 31/10	09/07 - 08/11	19/05 - 05/12
Nb jours étiage	215	143	183	143	127	133	132	123	201
Nb jours < 100 m3/s	95	0	12	68	0	0	0	0	1
Nb jours < 70 m3/s	13	0	0	36	0	0	0	0	0
Q journalier min (m3/s)	65	107	93	54	104	114	107	108	85
Q journalier max (m3/s)	1366	1450	850	996	1335	1109	1330	912	878

Les débits moyens mensuels de la Dordogne n'ont pas été commentés ici, car, du fait des nombreux barrages hydrauliques construits en amont de ce cours d'eau, les débits d'étiage sont fortement régulés par les lâchers de barrage gérés par EDF. Concernant son hydrologie, la Dordogne peut-être considérée comme un fleuve fortement « anthropisé ».

L'année 2006 ressort tout particulièrement avec des débits d'étiage moyens de l'ordre de 100 m³/s. De plus, le nombre de jours d'étiage où les débits fluviaux étaient inférieurs à 100 m³/s (Débits Objectifs d'Etiage) approchait les 60 sur les 110 jours d'étiage référencés, soit plus de 50% de la période d'étiage ! Ce pourcentage ne dépasse pas les 40% (en moyenne 30 %) les autres années avec des débits moyens d'étiage de l'ordre de 120-130 m³/s.

L'année 2006 est donc une année pouvant être considérée comme une année particulièrement sèche durant la période d'étiage « estival » au sens large.

L'année 2003, où le réseau MAGEST n'existait pas, a montré une tendance encore plus forte : débits d'étiage moyens de 90 m³/s avec 72% du temps où les débits sont inférieurs aux DOE et un mois d'Août où, sur plusieurs jours successifs, des températures de l'air avoisinant 40°C ont été relevées, avec des températures des eaux (mesures ponctuelles) dans le centre de l'estuaire dépassant les 27°C.

Le réseau MAGEST aurait vraisemblablement dû enregistrer des températures des eaux record, avec des taux d'oxygène très bas, sur une telle période.

L'année 2011, fin Avril - courant Mai, promettait de présenter une tendance similaire, avec des débits fluviaux très faibles et de très fortes températures de l'air et de l'eau pour cette période, mais des séries de mauvais temps persistants au cours de l'été ont heureusement empêché de voir se déclarer un événement aussi problématique.

B. Etude de la température des eaux de l'estuaire

1. Etude des variations spatio-temporelles

1.1) Les tendances saisonnières des moyennes journalières

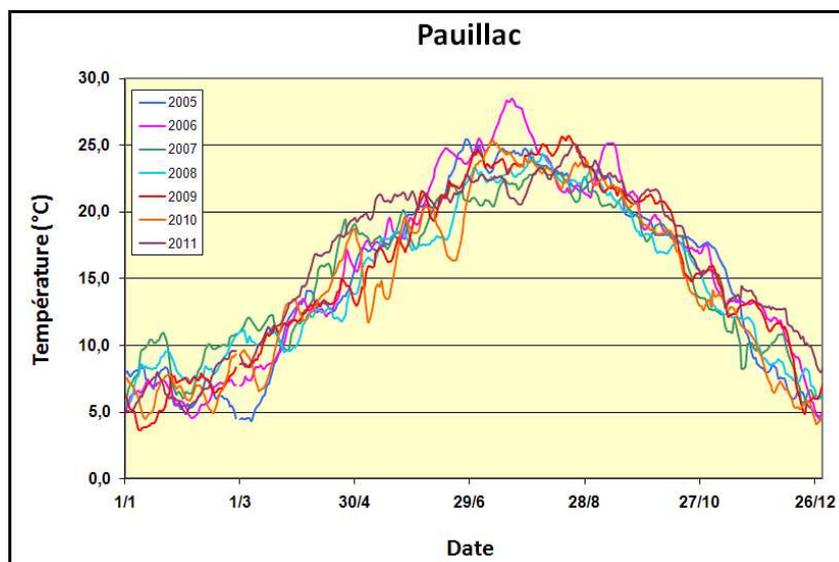


Figure 5 : Moyennes journalières de la température des eaux à Pauillac de 2005 à 2011

A la station de Pauillac, prise comme exemple, et à l'échelle annuelle, la température moyenne journalière des eaux varie bien sûr saisonnièrement. D'une année à l'autre, l'allure des courbes est similaire (Figure 5). Les eaux dépassent les 20°C en été avec des maxima atteints entre Juin et Septembre, oscillant le plus souvent entre 22°C et 25°C, pour

atteindre les 28°C durant l'été 2006. De Septembre à Mars, la température des eaux reste comprise entre 5 et 10°C suivant l'année. Tomber à 4°C reste un phénomène très ponctuel. Dans le cas des autres stations (Bordeaux, Portets et Libourne), les graphiques présentent exactement les mêmes tendances d'évolution des températures, dans les mêmes gammes de valeurs.

1.2) Les écarts de température jour/nuit

Tableau 2 : Moyennes des écarts de température (minimum-maximum) en hiver et en été sur l'ensemble des stations durant les années 2005-2010

Station	Année	écart de température (maximum de la journée) en été	écart de température (maximum de la journée) en hiver
		moyenne entre le 8 et le 20 juillet	moyenne entre le 20 et le 31 janvier
'Libourne'	2005	1,4	0,7
'Portets'		0,9	0,7
'Bordeaux'		1,1	-
'Pauillac'		1,6	1,4
'Libourne'	2006	1,5	0,9
'Portets'		1,4	0,6
'Bordeaux'		1,4	0,6
'Pauillac'		-	1,1
'Libourne'	2007	1,2	0,8
'Portets'		1,0	0,8
'Bordeaux'		1,4	1,0
'Pauillac'		0,9	-
'Bordeaux'	2008	1,0	0,7
'Libourne'		1,2	0,3
'Pauillac'		1,1	0,5
'Portets'		1,2	0,7
'Libourne'	2009	1,1	0,9
'Portets'		1,0	0,5
'Bordeaux'		1,1	0,8
'Pauillac'		1,2	0,6
'Libourne'	2010	1,0	-
'Portets'		1,0	0,5
'Bordeaux'		1,5	0,7
'Pauillac'		1,4	-

Pour justifier la prise en considération des moyennes journalières pour interpréter les variations spatio-temporelles des températures, ont été étudiés les écarts jour/nuit de température selon la saison (Tableau 2). Quelles que soient les stations, en été, l'écart de température jour-nuit est d'environ 1,2°C, tandis qu'il est de 0,7°C en moyenne, en hiver. Il ne se dégage pas de tendance marquée entre les stations en amont et celle de Pauillac, qui aurait pu montrer des différences de température jour/nuit moins marquées, dues à des intrusions d'eaux marines importantes en ce site, connues pour être plus thermiquement « tamponnées ». Ceci est dû au fait que,

comme dans toutes les stations, les températures sont prises à 1,5 m sous la surface et donc enregistrent bien ces variations jour/nuit. Toutefois, ces écarts restent relativement modérés dans tous les sites et ne dépendent en rien de la position géographique des stations.

1.3) Températures des eaux et spécificités hydrologiques annuelles

D'une année à l'autre, malgré une tendance similaire des variations annuelles des températures moyennes journalières, des différences sont tout de même observées en fonction des années.

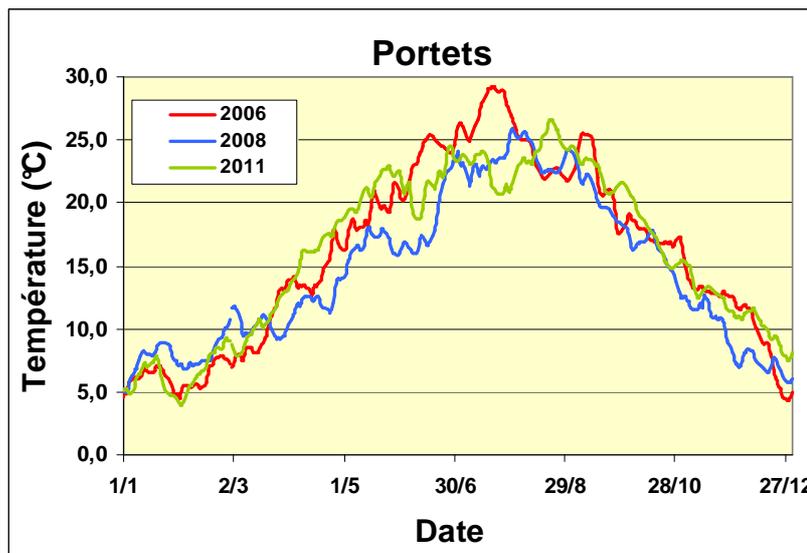


Figure 6 : Moyenne journalière des températures à Portets en 2006, 2008 et 2011

Au cours de l'année 2006, les températures moyennes journalières ont facilement atteint les 29°C en été, le 21 Juillet (Figure 6). En 2011, à la même période, l'eau de la Garonne était de 21°C, soit une différence de 8°C ! De même, fin juin, 8°C différenciaient encore la température des eaux de 2006 et 2008.

De telles différences sont expliquées par la variabilité extrême du contexte hydrologique, lui-même reliés au contexte climatique :

2006 peut être considérée comme une année très sèche (déficit hydrique de 60%, 387 m³/s au lieu de 650 m³/s), avec un étiage très sévère (100 m³/s en moyenne, avec 53% du temps inférieur au Débit Objectif d'Etiage), (comme déjà relevé en III, A). Ceci est en parfaite adéquation avec des températures de l'air élevées, raréfaction de toute pluviométrie, et températures des eaux élevées comme mesurées à Portets (figure 6) et aussi aux autres stations.

De 2007 à 2011, ce cas de figure extrême ne s'est pas reproduit. Il aurait pu se passer, en 2011, année où le débit annuel est encore plus faible qu'en 2006 (299 m³/s contre 387 m³/s). Mais, alors que s'annonçait un étiage estival sévère, (en Mai, température de l'air anormalement élevée et débits fluviaux très faibles), une pluviométrie inhabituelle en Juillet et en Août a effacé toute trace d'étiage prononcé, avec des températures des eaux normales pour cette période de l'année (22°C en moyenne).

1.4) Comparaison des températures entre les stations

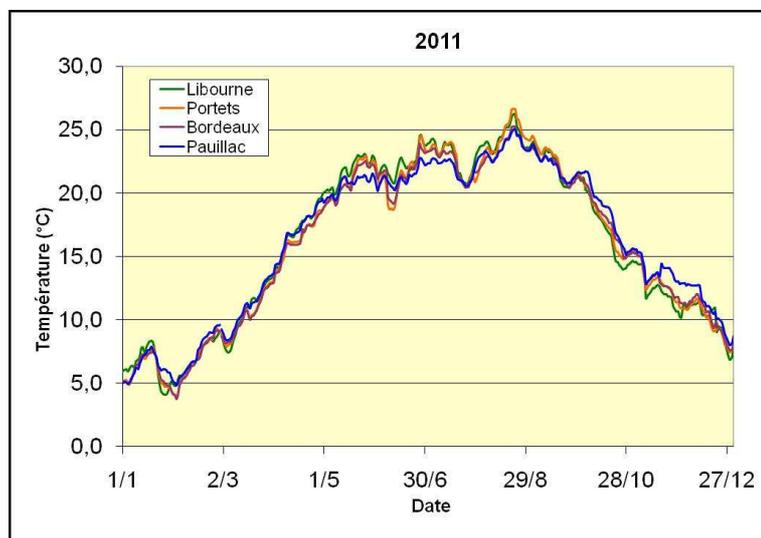


Figure 7 : Températures moyennes journalières des quatre stations en 2011

A l'observation des températures moyennes journalières des quatre stations en 2011, il est évident que, d'une station à une autre, il y a de grandes similitudes dans les courbes obtenues (Figure 7).

D'une manière générale, les différences des températures moyennes journalières entre les stations restent le plus souvent très faibles. Il ressort nettement que les températures entre Bordeaux et Portets étaient quasi-similaires. Ce fait apparaît clairement sur la comparaison des jeux de données de températures moyennes journalières à Portets et Bordeaux, où la droite tracée a un coefficient de corrélation égal à 0,939 (Figure 8).

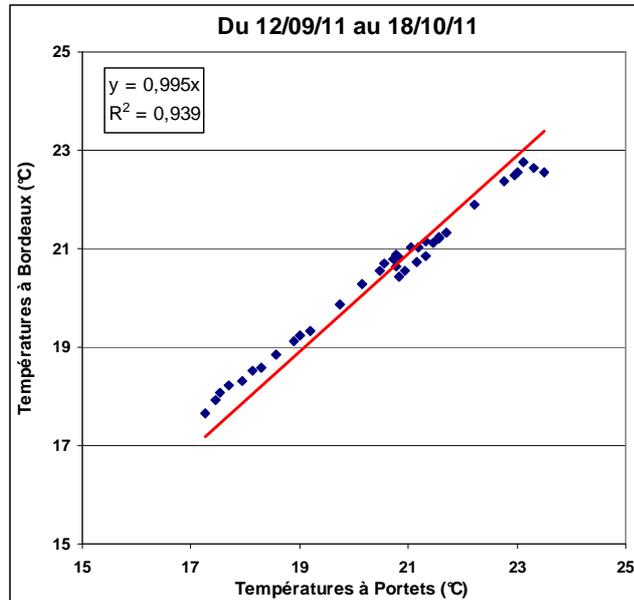


Figure 8 : Mise en corrélation des températures moyennes journalières de Bordeaux et Portets sur un mois, donné en exemple

Les deux villes étant situées sur la Garonne, Portets étant en amont de Bordeaux, un tel résultat montrant des températures quasi-similaires est logique.

Des différences entre les stations amont (Bordeaux, Portets et Libourne) et la station aval (Pauillac) ont été parfois relevées : les eaux à Pauillac ont épisodiquement été trouvées plus chaudes en hiver et plus froides en été, comparées à celles des stations amont, pour toutes les années étudiées (Figure 7). Peut-être alors évoqué le phénomène « d'effet tampon » des eaux marines présentes à Pauillac, mais n'ayant que très peu d'impact, du fait de leur faible présence dans les stations amont telles que Libourne et Portets.

Toutefois, il arrive qu'il y ait des différences notables de température entre les eaux de la Garonne (stations de Portets et Bordeaux) et celles de la Dordogne (station de Libourne) comme l'illustre la figure 9. Les eaux aux températures les plus fortes sont tantôt celles de la Garonne, tantôt celles de la Dordogne. Ceci tient au fait que les arrivées d'eau sont d'origines différentes : la Dordogne est alimentée par des rivières prenant leur source au niveau du Massif-Central, tandis que la Garonne est alimentée par des cours d'eau du Massif-Central et des Pyrénées.

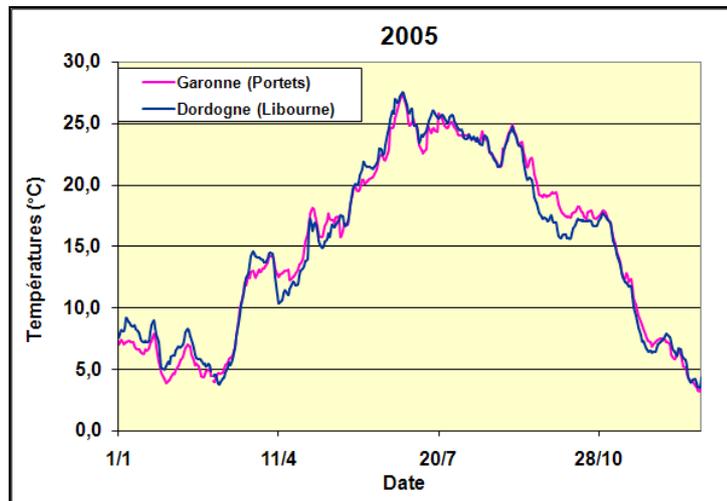


Figure 9 : Températures moyennes journalières de la Garonne et de la Dordogne en 2005

Si des pluies abondantes ont lieu dans le Massif Central et pas dans les Pyrénées, des eaux de montagne, théoriquement plus froides, vont abaisser la température des eaux de la Dordogne à Libourne. Ce phénomène sera beaucoup moins perceptible en Garonne à Portets, réceptacle de ces mêmes eaux fraîches issues du Massif Central, mais aussi de celles des rivières pyrénéennes qui, elles, auront des températures plus élevées, car se réchauffant progressivement au cours de leur transport vers l’aval. D’où la différence de 4,4°C, observée le 12 Juin entre les eaux de Libourne et Portets (Figure 10).

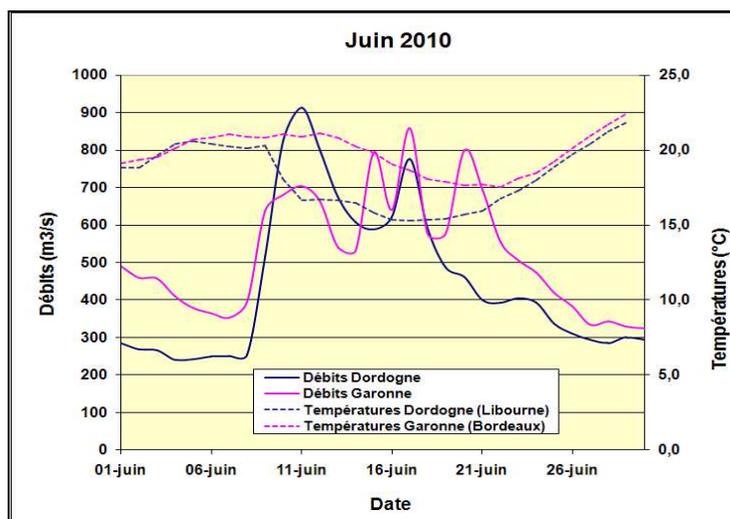


Figure 10 : Températures moyennes journalières et débits de la Dordogne et de la Garonne en Juin

2010

Avec un débit qui augmente de 250 m³/s à plus de 900 m³/s, la Dordogne est entrée en période de crue entre le 8 et le 11 juin. Il y a eu, à ce moment là, un épisode pluvieux intense au niveau du Massif Central, qui n'a pas ou peu affecté les Pyrénées. Les eaux de la Dordogne se sont alors refroidies, alors qu'en Garonne, elles se sont refroidies de façon bien moindre, du fait des eaux des rivières pyrénéennes qui, elles, n'ont pas subi de crue. Lorsque les débits des deux cours d'eau ont diminué (à partir du 21 juin), les températures des eaux ont augmenté. En effet, lorsque les débits sont faibles, les eaux ont eu le temps de se réchauffer lors de leur transfert vers l'aval.

On peut donc déduire de l'ensemble de ces résultats que la température des eaux est dépendante du climat et donc de la pluviométrie du milieu, mais aussi, à un moindre degré, de la salinité en relation avec « l'effet tampon » des eaux marines.

2. Reconstitution des données

A l'aide de toutes les observations précédentes, et connaissant les faibles écarts de température existant entre jour/nuit et entre les différentes stations, il est possible de reconstituer des données des moyennes journalières de température, quand celles-ci manquent pour une station. Ceci permet d'établir des statistiques annuelles de température des eaux dans l'estuaire (Tableau 3, Figure 11).

Tableau 3 : Pourcentage d'occurrence de gammes de température à Bordeaux

Bordeaux	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
< 5	3,3%	3,3%	0,3%	0,3%	4,1%	7,1%	3,3%
]10 ; 5]	29,0%	24,4%	21,1%	29,0%	21,1%	24,1%	20,3%
]15 ; 10]	14,2%	18,9%	25,2%	22,4%	26,3%	22,7%	18,4%
]20 ; 15]	22,5%	19,5%	22,2%	24,3%	13,2%	17,8%	18,9%
]23 ; 20]	11,2%	14,5%	21,6%	14,8%	16,7%	13,4%	27,4%
]25 ; 23]	15,6%	12,1%	9,6%	9,3%	13,7%	11,5%	11,0%
]28 ; 25]	4,1%	6,0%	0,0%	0,0%	4,9%	3,3%	0,8%
≥ 28	0,0%	1,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

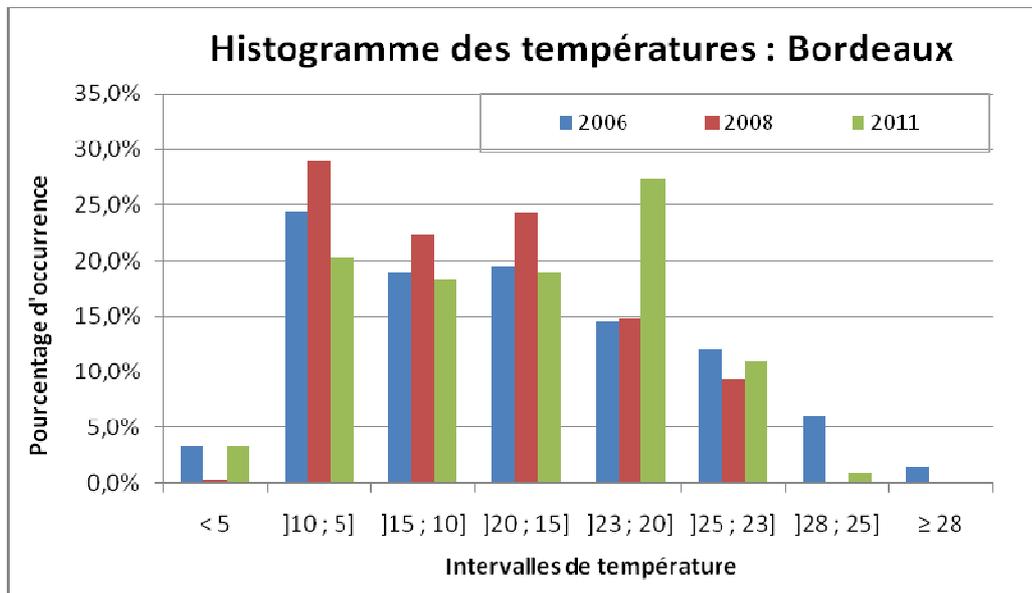


Figure 11 : Histogramme des températures à Bordeaux

Les températures ont été exceptionnellement élevées en 2006 puisque 1,4% du temps, les températures ont dépassé les 28°C (soit pendant 5 jours) et 6 % du temps, les températures ont été comprises entre 25 et 28°C (soit environ 22 jours).

En revanche, en 2008 par exemple, les températures n'ont pas dépassé les 25°C. En 2011, la température des eaux a stagné entre 20 et 23°C (presque un tiers de l'année) : comme déjà souligné, au mois de Mai, la température des eaux était considérée comme anormalement élevée pour cette période, mais, avec des mois de Juillet et Août très pluvieux par la suite et donc un faible ensoleillement, la température est restée dans cette gamme de 20 – 23°C.

Il faut noter que les données MAGEST ayant été mises en place en 2005, les températures des eaux lors de la canicule de 2003 n'ont pas pu être enregistrées. SOMLIT est également un réseau de surveillance de l'estuaire de la Gironde. Mais il ne donne pas des données à haute fréquence. Seul une mesure par mois est faite en surface et en profondeur, durant les étales de flot, de jusant, à mi-flot et à mi-jusant, à quatre endroits de l'estuaire central (Figure 12, points rouges).

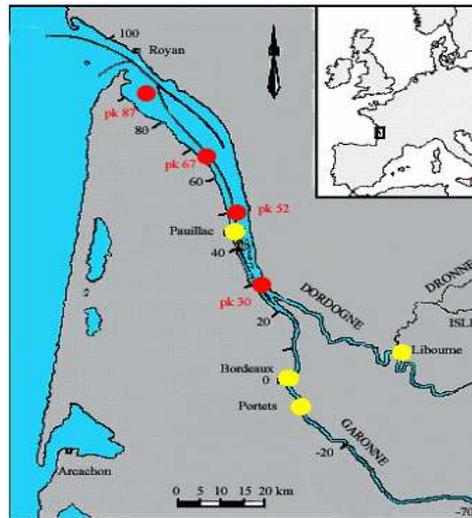


Figure 12 : Localisation des stations SOMLIT (en rouge) et MAGEST (en jaune)

Le rapprochement entre les données MAGEST et SOMLIT actuel montre que toutes les données sont strictement similaires. Donc, prendre les données SOMLIT comme témoins de la canicule est pertinent. Mais, le fait que les missions SOMLIT aient eu lieu début Juillet et fin Août (hors des périodes critiques de canicule) ne permet pas d'avoir des données représentatives de la température des eaux lors de cet événement particulier. Ceci confirme que les mesures ponctuelles (une mesure par mois) ne suffisent pas à enregistrer des événements climatiques forts tels que celui de la canicule. Avec les températures de l'air avoisinant les 40°C pendant plusieurs jours, celles de l'eau ont dû dépasser les 30°C en Garonne et Dordogne, ce qui aura provoqué des chutes d'oxygène très importantes dans les eaux, tout particulièrement au niveau de Bordeaux, comme cela sera discuté ci-après.

3. Critiques

La reconstitution de données, faite sur toutes les années et toutes les stations, permet donc d'avoir des statistiques très intéressantes sur les températures des eaux de l'estuaire. Comme déjà souligné, les températures reconstituées sont, pour la plupart valables à moins de 5% près, seules, celles reconstituées sur de longues périodes, pouvant présenter une incertitude légèrement supérieure (maximum 10%), correspondent à une erreur maximale de 1°C.

4. Evolution future des températures et impact potentiel sur le biotope

D'après une étude du GIEC (Groupe Intergouvernemental d'experts sur l'Evolution du Climat), les températures de l'air devraient augmenter de 2°C en moyenne annuelle, de 4°C en été, d'ici 2030. En 2100, une élévation de 4°C est prévue en moyenne annuelle pour 10°C de plus en été, en relation avec le réchauffement climatique. Les températures des eaux vont bien entendu suivre les tendances, ce qui risque d'avoir un fort impact direct sur la faune aquatique et un autre indirect en relation avec la baisse des teneurs en O₂ dissous, comme il sera exposé dans le paragraphe c.

L'impact de la température est variable suivant les espèces, leur mode de déplacement, leur mode de vie et leur faculté d'adaptation aux fortes températures,... (Houdart, 2004).

- Des eaux plus chaudes peuvent augmenter le métabolisme des poissons, qui peut alors s'accompagner d'une plus grande consommation d'oxygène, de par une activité plus prononcée.
- Une élévation de la température des eaux serait aussi responsable d'une plus grande fréquentation, sur nos côtes, d'animaux marins à sang froid. C'est notamment le cas de la méduse, dont le nombre d'espèces s'accroît de plus en plus depuis ces dernières années. Une fertilité améliorée pour ces espèces est, en effet, le résultat d'eaux de plus en plus chaudes.
- Il a également été constaté une modification de la répartition des espèces, suite à des eaux de plus en plus chaudes. Les espèces relativement mobiles, peuvent, en effet, migrer jusqu'à atteindre les eaux dont les gammes de températures sont optimales à leur développement. La répartition des espèces est alors modifiée à long terme. C'est notamment le cas du baliste, une espèce de poisson exotique présente depuis peu sur les côtes du bassin d'Arcachon.
- Ces changements d'habitats peuvent alors être la cause d'une totale modification des écosystèmes. Les températures d'eau optimales, ainsi que la diversité des espèces dans l'estuaire, peuvent en effet, induire un milieu très favorable à l'apparition et au développement d'espèces envahissantes (De Watteville, 2012).

C. Etude des données oxygène du réseau MAGEST

1. Fonctionnement de l'oxygène dans l'eau

Que ce soit pour les milieux aquatiques ou terrestres, l'oxygène est un élément indispensable pour les êtres vivants. Pour vivre, les organismes aquatiques, et plus particulièrement les poissons, ont besoin d'eaux contenant des concentrations en oxygène dissous d'au moins 3 mg/L (Houdart, 2004).

Dans le milieu aquatique, l'oxygène se trouve sous forme dissoute (Chaudon, 2005). Ces teneurs sont exprimées de deux manières : soit en mg/L, soit en pourcentage de taux de saturation.

Mais la température est aussi un des facteurs responsables d'épisodes d'anoxie. En effet, la teneur en oxygène dissous dans l'eau est physiquement fonction de la température des eaux (et à un moindre degré de leur salinité) : plus les eaux sont chaudes, moins il y a d'oxygène dans les eaux (Figure 13).

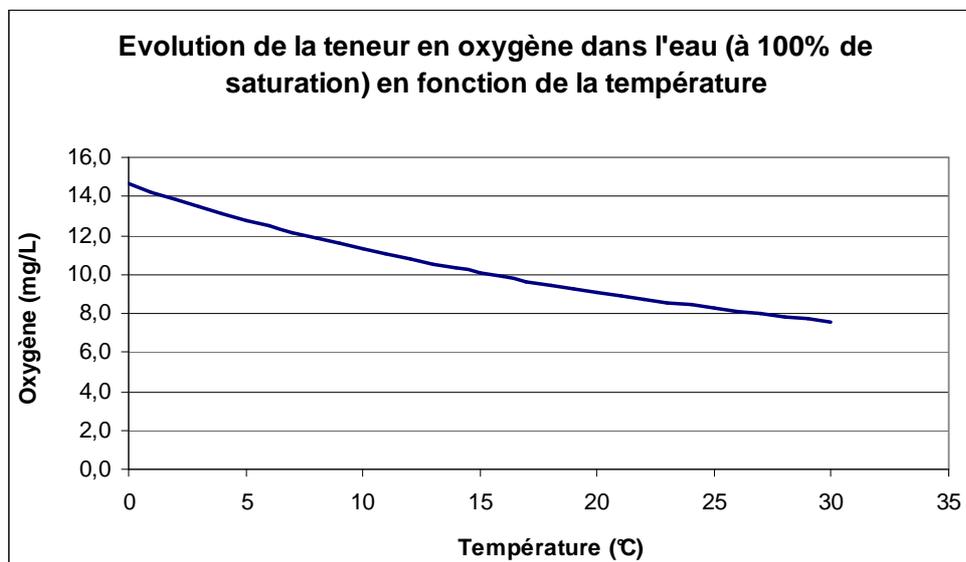


Figure 13 : Evolution de la teneur en oxygène dans l'eau (à 100% de saturation) en fonction de la température

Pour des eaux froides, entre 5 et 10°C, l'oxygène devrait être compris entre 11 et 13 mg/L, à 100% de saturation en O₂.

Pour des eaux plus chaudes comprises entre 25 et 30°C, la teneur en oxygène devrait diminuer entre 7,5 et 8 mg/L, toujours pour un taux de saturation en O₂ de 100%.

Cette courbe, d'aspect logarithmique traduit alors le fait que la température est l'un des premiers facteurs influençant les teneurs en oxygène.

Toute évolution future de la température annonçant une élévation de celle-ci se traduira donc inmanquablement par une baisse des teneurs en oxygène dans les milieux aqueux.

L'oxygène de l'eau provient principalement des échanges avec l'atmosphère, mais il peut également être le fruit du processus de photosynthèse, avec développement de présence de phytoplancton et de macrophytes. Enfin, l'oxygène peut provenir de la diffusion d'eaux plus oxygénées (Guillaud et Lefebvre, 2001).

L'oxygène dissous dans l'eau peut être consommé par les organismes par respiration, mais aussi lors des réactions chimiques et biochimiques d'oxydation de substances chimiques dont la dégradation de la matière organique (Chaudon, 2005).

Des informations beaucoup plus détaillées sur le cycle de l'oxygène dissous dans l'eau sont données en annexe IV, page 37.

2. Etude des variations spatio-temporelles de l'oxygène et des périodes critiques

2.1) Variations spatio-temporelles à l'échelle de l'estuaire

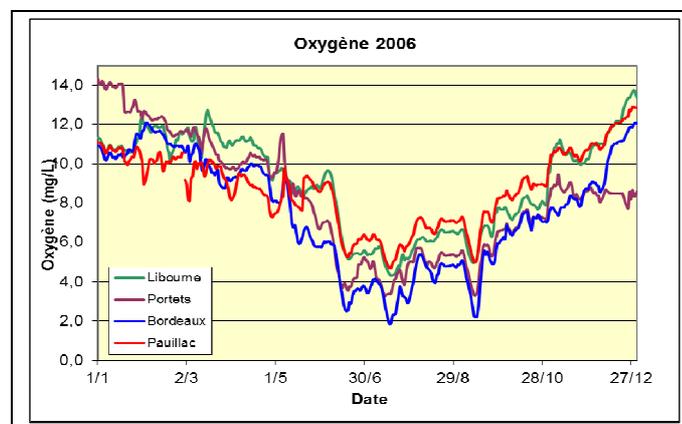


Figure 14 : Moyennes journalières de l'oxygène dissous dans les eaux de Bordeaux, en 2006

A la vue de la figure 14, il ressort clairement que, dans l'estuaire fluvial amont, c'est-à-dire à Bordeaux, à Portets et à Libourne, l'oxygénation des eaux est plus faible comparées à celle de Pauillac, ceci étant lié à leur position dans l'estuaire, où l'influence marine reste faible. Mais la plupart du temps, l'oxygénation des eaux en amont est bonne (< 5 mg/L). Toutefois, à Bordeaux et particulièrement en périodes d'étiage, les teneurs en oxygène sont épisodiquement très faibles, ($< 3-4$ mg/L en moyenne journalière), le terme d'hypoxie pouvant alors être employé.

En toute saison, l'estuaire central de la Gironde, caractérisé par la station de Pauillac, ne présente pas de déficience notable en terme d'oxygène dans l'eau, puisque Pauillac est une station à forte influence maritime. Les eaux provenant de la mer étant bien oxygénées, le taux de saturation en oxygène est bon, et ne se situe jamais sous la barre des 80%. Les teneurs en oxygène dissous sont supérieures à 10 mg/L l'hiver et tournent autour de 7 mg/L l'été (Figure 14).

2.2) Etude à l'échelle journalière

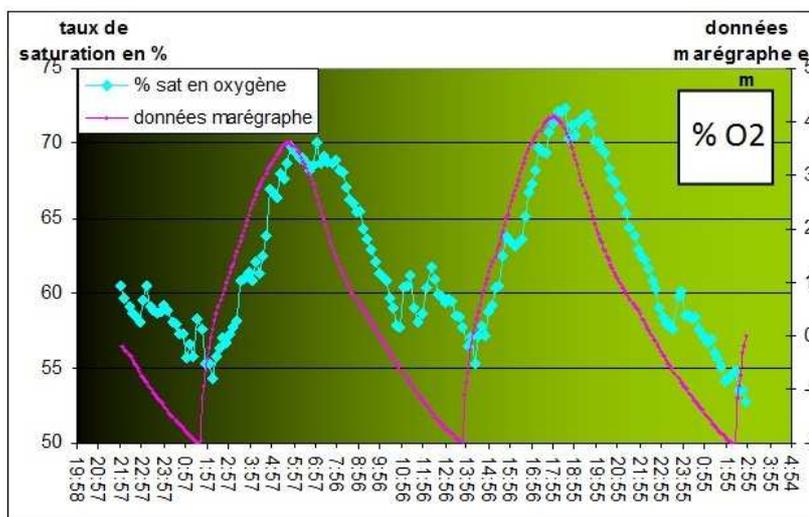


Figure 15 : Evolution du pourcentage de saturation en oxygène avec la marée, sur un cycle journalier

L'oxygène dans l'eau présente des cycles d'oscillation au cours d'une journée (Figure 15). En été comme en hiver, la variation d'oxygène suit une fonction sinusoidale, accordée aux variations des hauteurs d'eau journalières. Les deux maxima d'oxygène

correspondent respectivement au deux Pleines Mers journalières, et les minima aux deux Basses Mers. Mais, de telles variations sont moins prononcées en été qu'en hiver, puisqu'en cette saison, les eaux sont froides, donc mieux oxygénées qu'en été. Pour pousser la compréhension des cycles d'O₂, plus avant, les comparaisons des cycles enregistrés à Bordeaux et à Portets sont du plus grand intérêt (Figure 16).

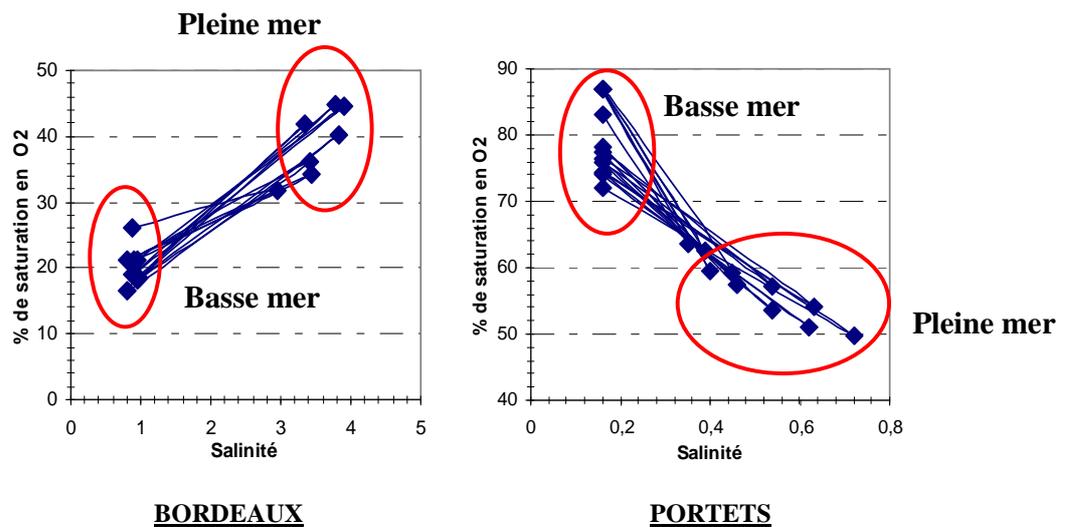


Figure 16 : Taux de saturation en oxygène en fonction de la salinité sur 5 jours d'étiage en 2006 à Bordeaux (à gauche) et à Portets (à droite) (Ben Mustapha, 2010)

En parfait accord avec les cycles de marée, les périodes de sous-oxygénation sont les plus marquées à Basse Mer à Bordeaux, avec des taux de saturation atteignant des valeurs comprises entre 15 et 20%, alors qu'en Pleine Mer, ces teneurs remontent à des valeurs de 35 à 45 % de taux de saturation (Figure 16).

C'est le phénomène contraire qui se passe à Portets : les plus forts taux de saturation en oxygène dissous (entre 70 et 90 %) sont relevés durant les étales de Basse Mer, tandis que les plus faibles sont enregistrées durant les épisodes de Pleine Mer.

En effet, durant la Pleine Mer, les eaux bien oxygénées du bec d'Ambès remontent jusqu'à Bordeaux, d'où un pourcentage de taux de saturation en oxygène relativement bon. De plus, les effluents de la ville sont plus dilués par cette arrivée d'eau. Pendant ce temps, les eaux faiblement oxygénées de Bordeaux remontent jusqu'à Portets, ce qui explique ce faible taux de saturation observé à Pleine Mer. Toutefois, le temps de la remontée, les eaux

se sont partiellement ré-oxygénées du fait de la forte courantologie des périodes de flot et des échanges air-eau qui en découlent.

2.3) Etude du phénomène d'hypoxie : cas de Bordeaux durant l'été, en 2006

En étudiant les teneurs en oxygène dissous à Bordeaux, il ressort que les teneurs sont les plus faibles autour de la Basse Mer, phénomène particulièrement prononcé en période d'été estival (Figure 17).

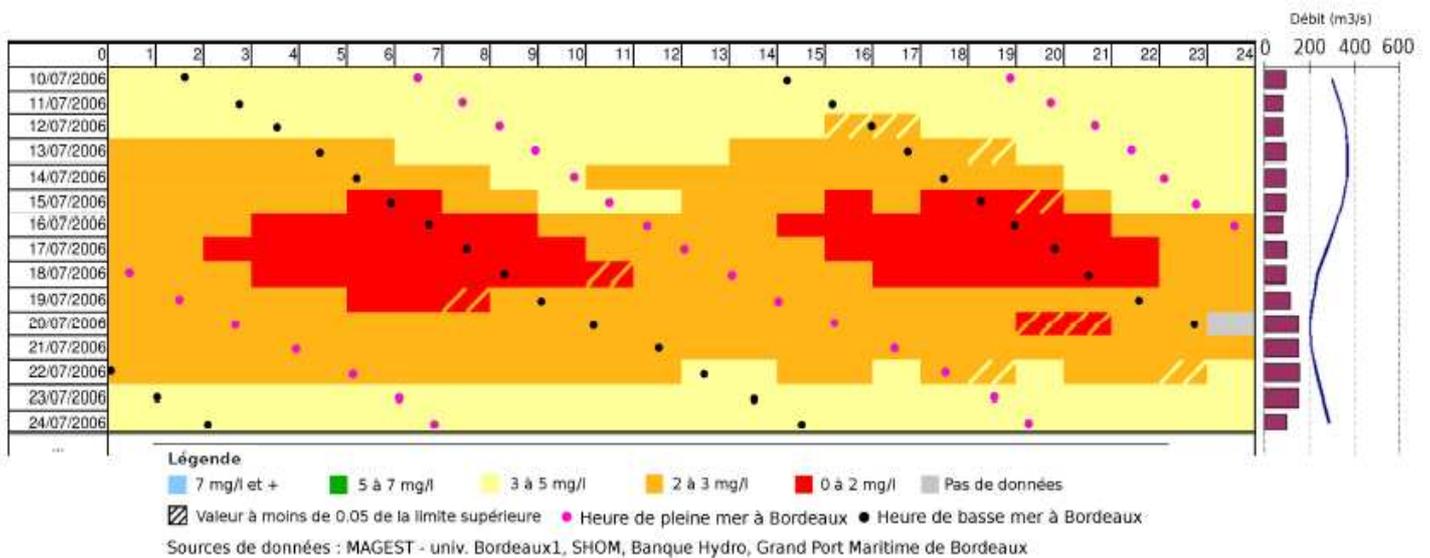


Figure 17 : Zoom sur l'évolution de l'oxygénation des eaux (moyenne par heure) à Bordeaux en Juillet 2006 (Etcheber et Foussard, 2011)

Durant l'été estival, les débits sont très faibles et les eaux sont chaudes. Ce sont durant ces périodes que les concentrations en oxygène sont les plus basses.

A Bordeaux, au cours de la journée du 17 Juillet, les teneurs en oxygène ont été très faibles pendant 14 heures (inférieures à 2 mg/L avec un minimum à 1,3 mg/L). De telles périodes d'anoxie, plus ou moins longues, ont un fort impact sur la faune aquatique. On peut aussi remarquer (Figure 17) que les minima d'oxygène journaliers apparaissent autour de la

Basse-Mer à Bordeaux, ce qui vient confirmer les résultats précédents, évoqués au paragraphe 2.2.

On parle d'hypoxie à partir du moment où l'oxygène passe sous la barre des 3 mg/L puisque, sous ce seuil, le besoin en oxygène risque d'être critique pour de nombreuses espèces biologiques. Notons que ce seuil n'est pas fréquemment apparu à Bordeaux durant les 7 ans de surveillance du réseau MAGEST.

Aussi, une attention particulière a-t-elle été portée à cette période critique, allant du 11 au 23 Juillet, avec, du 15 au 18, des teneurs en oxygène dissous particulièrement faibles (< 3 mg/L) (Tableau 4). Ceci a conduit à prendre en considération teneurs en oxygène, mais aussi température des eaux, débits fluviaux et coefficients de marée.

Tableau 4 : Tableau des températures, des débits et des coefficients de marée durant la période d'hypoxie à Bordeaux, en 2006

Date / heure	Oxygène BM	Température BM	Débits	Marée
11/07/2006 01:27	3,3	24,9	80	80
11/07/2006 13:44	3,3	26,1	80	84
12/07/2006 02:12	3,1	25,1	81	87
12/07/2006 14:56	3,1	26,3	81	90
13/07/2006 03:42	2,8	25,4	92	92
13/07/2006 15:16	2,8	26,7	92	93
14/07/2006 04:12	2,3	25,8	93	93
14/07/2006 16:16	2,3	26,9	93	92
15/07/2006 04:42	2,0	26,2	95	90
15/07/2006 17:06	2,0	27,1	95	87
16/07/2006 05:32	1,6	26,5	82	84
16/07/2006 18:06	1,4	27,6	82	79
17/07/2006 06:12	1,7	27,0	98	74
17/07/2006 18:36	1,3	27,8	98	69
18/07/2006 07:12	1,6	27,4	92	64
18/07/2006 19:26	1,7	27,9	92	58
19/07/2006 07:52	2,0	27,5	113	54
19/07/2006 20:27	2,0	27,9	113	54
20/07/2006 09:05	2,1	28,0	151	51
20/07/2006 21:50	2,1	28,2	151	50
21/07/2006 10:34	2,2	28,7	149	50
21/07/2006 23:00	2,3	28,5	149	52
22/07/2006 11:34	2,8	28,8	156	55
23/07/2006 00:10	3,2	28,4	150	58
23/07/2006 12:34	3,4	28,8	150	62
24/07/2006 01:22	3,8	28,1	96	65
24/07/2006 13:20	3,9	28,8	96	69

On peut remarquer que la période d'hypoxie est survenue lorsque les débits étaient faibles ($<100 \text{ m}^3/\text{s}$), ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle l'hypoxie ne survient que durant les étiages, et pour des températures des eaux dépassant régulièrement les 25°C . Comme il sera vu dans le paragraphe suivant, coefficient de marée et turbidité des eaux auront aussi une influence majeure.

3. Les facteurs « forçants »

La température est un facteur majeur qui joue sur la teneur en oxygène. En effet, la probabilité d'avoir des eaux dont les teneurs sont inférieures à 3 mg/L augmente avec les températures, selon la loi physique de dissolution de cet élément dans l'eau (Figure 18). Donc plus l'eau est chaude, plus les teneurs en oxygène seront faibles.

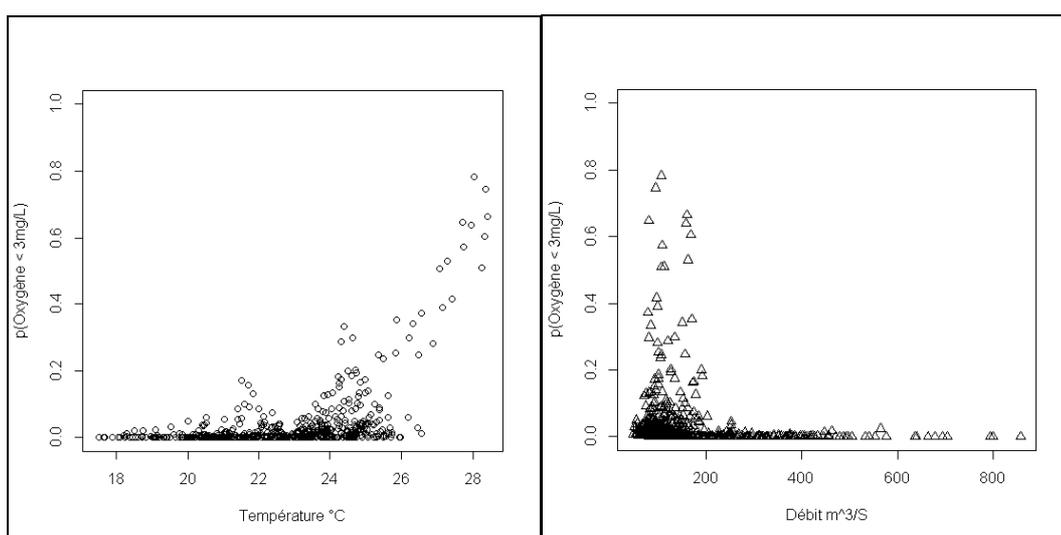


Figure 18 : Probabilité d'avoir une teneur en oxygène inférieure à 3 mg/L selon la température et les débits (De Watteville, 2012)

Dans le cas du paramètre débits, la probabilité d'avoir des eaux dont les teneurs en oxygène sont inférieures à 3 mg/L est grande pour des débits inférieurs à $200 \text{ m}^3/\text{s}$, caractéristiques des périodes d'étiages. Cela est dû au fait que durant les périodes de faibles débits, le renouvellement des eaux est moindre : d'une part, moins d'eaux oxygénées arrivent de l'amont ; d'autre part, les masses d'eaux oscillent longuement autour du site de Bordeaux, de par les courants de flot et de jusant. Les rejets urbains s'accroissent donc, et

les micro-organismes dégradent la matière organique très bioassimilable de ces effluents, ce qui induit une forte consommation d'oxygène des eaux.

Ainsi, sur la figure 18, est-il clairement apparent que **les conditions nécessaires à l'apparition d'un épisode d'hypoxie sont d'avoir un débit inférieur à 200 m³/s et des températures d'eau supérieures à 25°C**. Mais, il faut souligner que peu d'épisodes d'hypoxie prononcée ont été rencontrés au cours de ces dernières années. Or, les conditions citées ci-dessus arrivent fréquemment. Il existe donc d'autres facteurs aggravants l'hypoxie (Figure 19).

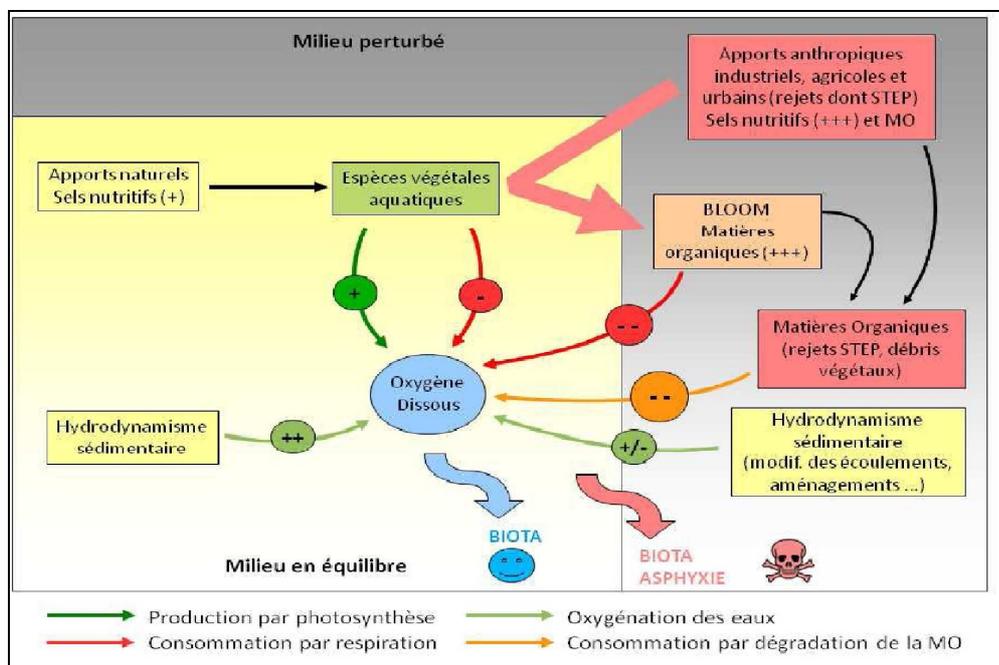


Figure 19 : Facteurs responsables des variations d'oxygène dans l'eau (Etcheber et Foussard, 2011)

Les rejets urbains sont sources de pollution dans la Garonne et jouent un rôle majeur dans la sous-oxygénation des eaux. En effet, la Communauté Urbaine de Bordeaux dispose de deux stations d'épuration majeures, traitant les eaux usées de la ville. Une fois traités, les effluents sont rejetés en Garonne. Mais ces eaux sorties de la station d'épuration contiennent encore en abondance du Carbone Organique Dissous (COD), et de l'ammonium (NH₄⁺). Le COD va être consommé (puisqu'il est biodégradable à 80-90%), par les bactéries qui vont en même temps consommer de l'oxygène. Les teneurs en COD sont deux à dix fois supérieures à celles de la Garonne fluviale et ce facteur monte à 1000

pour NH_4^+ . Ces deux composants vont être dégradés en CO_2 et en NO_3^- (nitrate) par les bactéries contenues dans les matières en suspension (MES) des eaux de la Garonne et cela va consommer de fortes quantités d'oxygène dissous.

Les coefficients de marée et les teneurs en MES sont les deux autres facteurs, pouvant influencer les teneurs en oxygène : plus les teneurs en MES augmentent, plus la réoxygénation des eaux est perturbée.

Lors des faibles coefficients de marée, l'amplitude des oscillations des eaux autour de Bordeaux est faible. Le renouvellement des eaux est alors moindre, et ces dernières se chargent en effluents, provoquant une baisse des teneurs en oxygène de jour en jour.

L'oxygénation des eaux est donc un phénomène complexe, dépendant de nombreux facteurs. Les deux principaux facteurs sont la température des eaux et les débits, mais les rejets urbains, la turbidité des eaux et les coefficients de marée jouent aussi un rôle primordial.

4. Reconstitution des données

Comme pour la température, les données MAGEST de l'oxygène se sont avérées incomplètes. Mais par manque de temps et du fait des nombreux facteurs (énoncés ci-dessus) influençant les teneurs en oxygène, la reconstitution des données pour l'oxygène n'a pas pu être menée à son terme au cours de ce stage.

Cependant, des corrélations établies précédemment ont été confirmées (Ben Mustapha, 2010).

En partant des mécanismes d'oscillation des taux de saturation entre les stations de Bordeaux et Portets, une relation a été établie entre les teneurs les plus faibles existant dans les deux stations à savoir, à Basse Mer à Bordeaux et à Pleine Mer à Portets (Figure 20). Le jeu de données utilisé pour établir cette corrélation a couvert une gamme assez large de valeurs (entre 20 et 90% de taux de saturation), ce qui a alors permis de reconstituer les données d'oxygène manquantes à Bordeaux à Basse Mer sur une grande période avec une précision intéressante avoisinant 5 à 10% d'incertitude (Ben Mustapha, 2010).

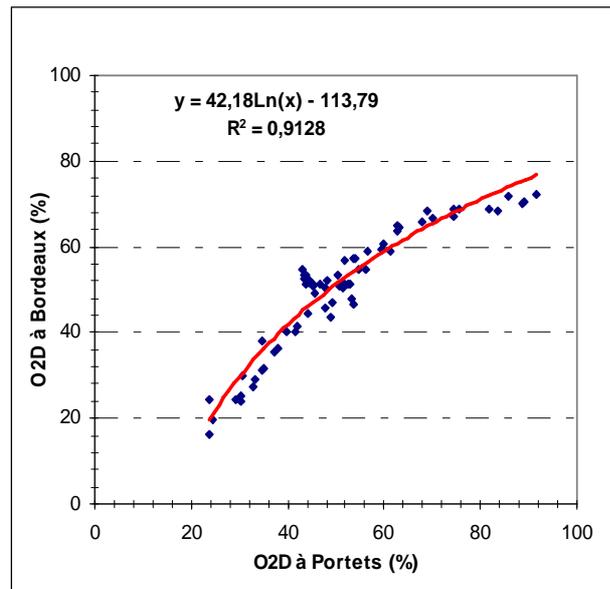


Figure 20 : Corrélation entre les % de saturation à BM à Bordeaux et celles à PM à Portets (septembre 2006) (Ben Mustapha, 2010)

5. Impacts sur les poissons et futur

Aux quatre coins du globe, il a été constaté que les phénomènes d'hypoxie étaient de plus en plus nombreux (Diaz, 2001). La hausse des températures constatée depuis ces dernières décennies limitent, en effet, la dissolution de l'oxygène et diminue les débits fluviaux. Aussi, le nombre de jours avec un débit inférieur à $100 \text{ m}^3/\text{s}$ dans la Garonne va augmenter ce qui entraînera une plus grande stagnation des eaux et limitera leur réaération en période d'étiage (Ben Mustapha, 2010). D'autant plus que la population va augmenter au cours du temps et que les rejets anthropiques seront de plus en plus nombreux et concentrés. D'une manière générale, ces périodes d'hypoxie vont engendrer de nombreux impacts sur la faune aquatique puisque de faibles concentrations en oxygène dissous peuvent réduire la croissance des larves et juvéniles, plus sensibles aux perturbations des conditions environnementales. Elles peuvent aussi altérer le comportement (Wannamaker et Rice, 2000) et le taux de reproduction. Enfin, pour fuir les zones d'hypoxie, un changement des habitats peut être constaté. (Breitburg, 1992) Ces changements d'habitats peuvent ainsi être la conséquence d'une concentration de poissons dans des zones restreintes, (Eby et al., 2005), d'où une disponibilité de plus en plus réduite en proies et d'une augmentation de la prédation (Breitburg et al., 1994).

Mais ces conséquences ne vont pas impacter toute la faune aquatique puisque les comportements et réactions observés chez les poissons soumis à de faibles concentrations en oxygène sont très dépendants de l'espèce et des conditions environnementales (Breitburg et al., 1997; Kramer, 1987; Pihl et al., 1991). Des adaptations à ces conditions de vie existent tant au niveau comportemental (respiration de l'air à la surface) que physiologique (hyperventilation). D'autres poissons peuvent se mettre en apnée ou même éviter les zones d'hypoxie. Mais ces comportements sont variables selon la durée et l'intensité de l'épisode.

IV. CONCLUSION

Les estuaires sont des zones fragiles, subissant de fortes influences marines et susceptibles d'être dégradées par le réchauffement climatique. Le traitement des données MAGEST a permis d'étudier les cycles de la température et des teneurs en oxygène des eaux à différentes échelles.

Les tendances globales de ces deux facteurs ont été étudiées afin de mieux comprendre le fonctionnement de l'estuaire. Les facteurs responsables de phénomènes d'hypoxie ont été étudiés dans le but de prévoir le futur de ces périodes critiques. Enfin, des corrélations ont été établies entre les stations et ont permis une reconstitution des données températures manquantes à certaines périodes. En effet, le suivi des eaux dans l'estuaire s'avère primordial pour le maintien de la biodiversité de l'estuaire.

Toutefois, la situation de l'estuaire de la Gironde n'est pas actuellement catastrophique, puisque les phénomènes d'hypoxie y sont rares, mais elle est tout de même préoccupante, car ces processus devraient s'intensifier dans le futur.

Pour éviter que les problèmes d'oxygénation des eaux ne s'aggravent davantage, une meilleure gestion des émissions d'effluents et de la consommation des eaux fluviales en amont s'avèrent être des solutions incontournables. Par exemple, la culture du maïs, plante à forte demande en eau, a explosé au cours de ces dernières années. L'irrigation de ces parcelles devra être régulée par une utilisation plus efficace de l'eau.

Bien que le travail que j'ai fait tout au long de ce stage soit un travail basé sur du traitement informatique, il a été une expérience très enrichissante, autant sur le plan professionnel que personnel.

En effet, j'ai pu acquérir de nouvelles connaissances dans différents domaines scientifiques, comme celui de la compréhension des milieux estuariens et tout particulièrement la biogéochimie de l'estuaire de la Gironde. J'ai aussi pu découvrir la notion de travail en équipe dans le domaine de la recherche, qui, je pense, me sera très bénéfique dans mon parcours professionnel futur. Ce stage m'a aussi confirmé mon envie de continuer mon cursus universitaire dans les domaines de l'environnement et des sciences de la terre.

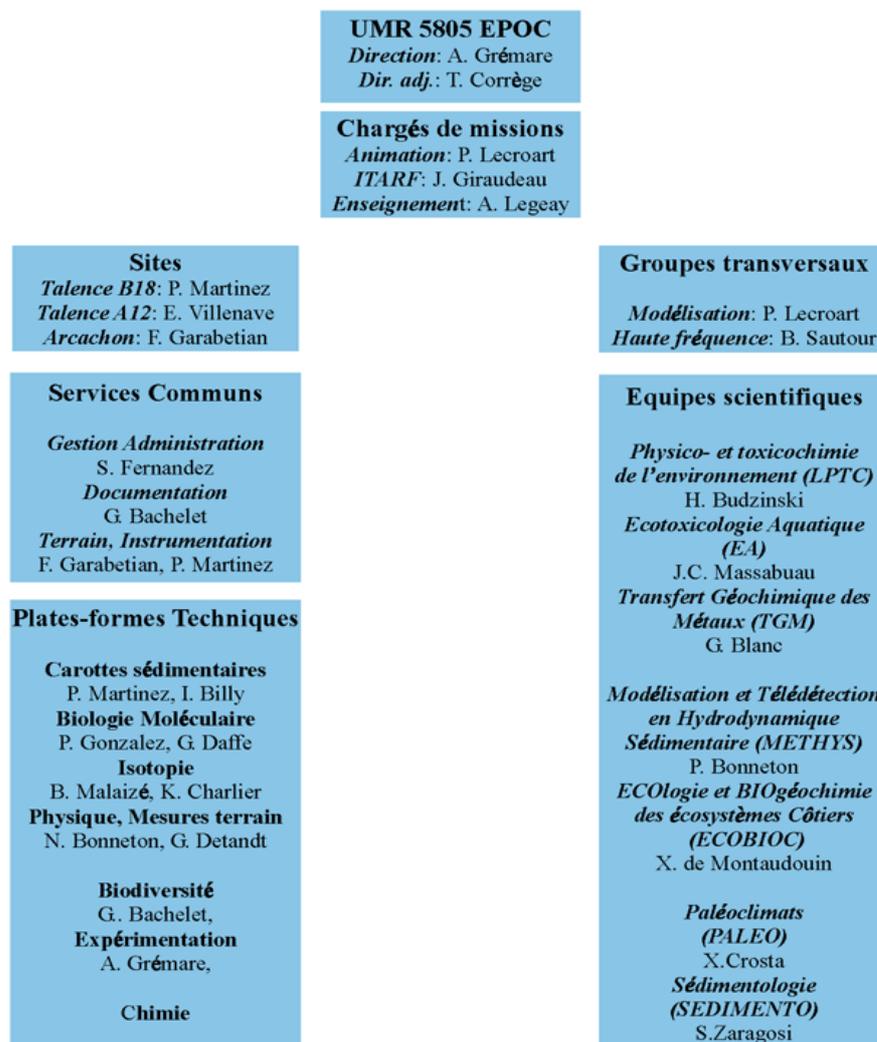
Bibliographie

- **Ben Mustapha Z.**, *Contribution des réseaux SOMLIT Gironde et MAGEST à l'étude de l'évolution de la qualité physico-chimique des eaux de l'estuaire de la Gironde*, Master 2 sciences de la terre, environnement, écologie, 2010, 30p
- **Breitburg D.L.**, *Episodic hypoxia in Chesapeake Bay. Interacting effects of recruitment, behavior, and physical disturbance*. Ecological Monographs, 1992, vol. 62, p.525-546
- **Breitburg D.L. et al.**, *Effects of low dissolved-oxygen on predation estuarine fish larvae*. Marine Ecology-Progress Series, 1994, vol.104, p.235-246
- **Breitburg D.L. et al.**, *Varying effects of low dissolved oxygen on trophic interactions in an estuarine food web*. Ecological Monographs, 1997, vol.67, n°4, p.489-507
- **Chaudon A.**, *Les crises d'anoxie dans l'estuaire de la Loire : caractérisation et approche de leur incidence sur la transparence migratoire*, Rapport Groupement d'Intérêt Public Loire Estuaire, 2005, Nantes, 34pp.
- **De Watteville J.**, *Analyse des paramètres physico-chimiques en suivi haute fréquence et relation avec le peuplement de poisson en estuaire*, Master 2 Sciences de la terre de l'environnement et Ecologie, spécialité biologie et écosystèmes continentaux, parcours fonctionnement et dysfonctionnement des écosystèmes aquatique, 2012
- **Diaz R.J.**, *Overview of hypoxia around the world*. Journal of Environmental Quality, 2001, vol.30, n°2, p.275-281
- **Eby L.A. et al.**, *Habitat degradation from intermittent hypoxia: impacts on demersal fishes*. Marine Ecology-Progress Series, 2005, vol.291, p.249-261
- **Etcheber et al.**, *Monitoring water quality in estuarine environments: lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system*. Hydrology and Earth System Sciences, 2011, vol.15, p.831-840
- **Etcheber H. et Foussard V.** Proposition d'une stratégie de surveillance des paramètres physico-chimiques pour les estuaires de la Seine, de la Loire et de la Gironde. Projet BEEST, 2011, 69p.
- **Etcheber H. et al.** *Surveillance écologique du site du Blayais, année 2011*. Rapp IFREMER RST DYNECO/AG/12-02, mars 2012, 235p.
- **Guillaud J-F. et Lefebvre A.**, *Manifestations de l'eutrophisation rencontrées en France*. Proliférations phytoplanctoniques et hypoxies. L'eutrophisation des eaux marines et saumâtres en Europe, en particulier en France. Coordinateur A. MENESGUEN. Rapport IFREMER, 2001
- **Houdart M.**, *Impact des conditions climatiques de l'été 2003 sur la faune et la flore marines* : Rapport IFREMER, 2004. 12p
- **Kramer D.L.**, *Dissolved-oxygen and fish behavior*. Environmental Biology of Fishes, 1987, vol.18, n°2, p.81-92
- **Pihl L. et al.**, *Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustaceans*. Marine Biology, 1991, vol.108, p.349-360
- **Wannamaker C.M. et Rice J.A.**, *Effects of hypoxia on movements and behavior of selected estuarine organisms from the southeastern United States*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 249, 2000, p.145-163

Annexe I : Organigramme de l'UMR 5805 EPOC

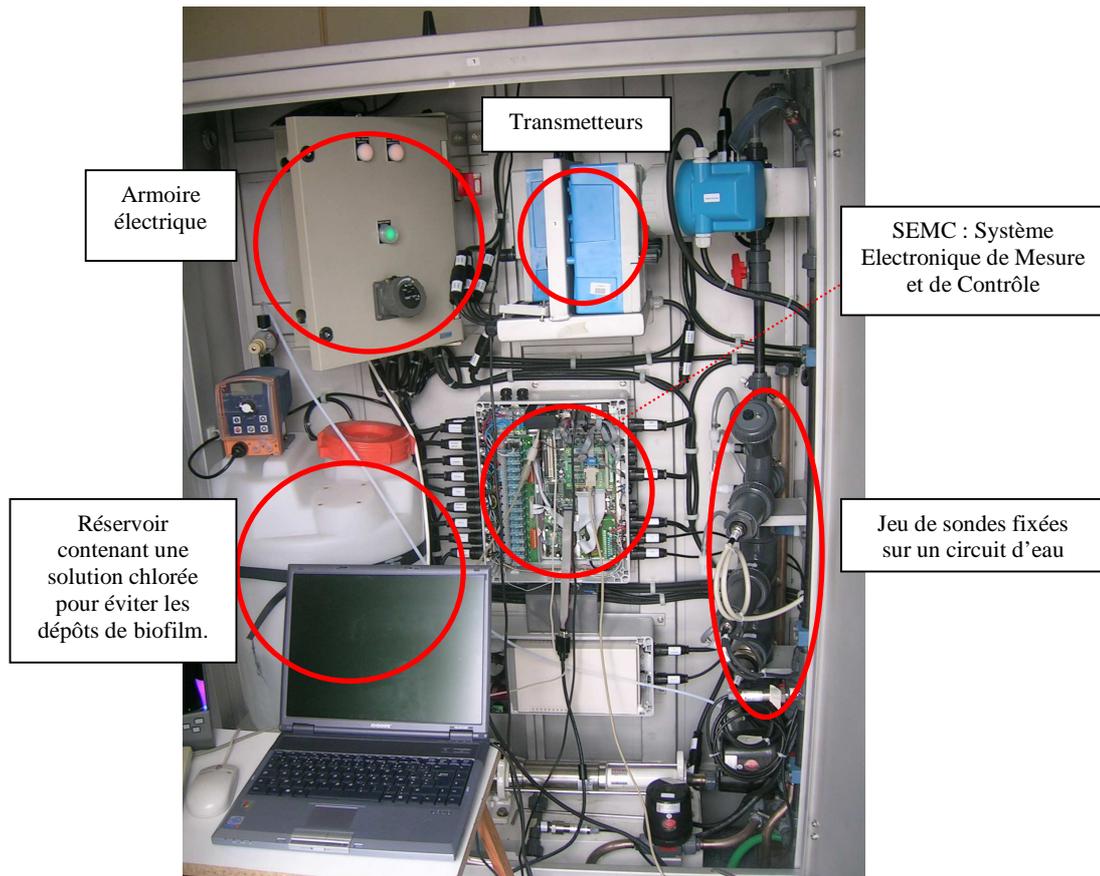
L'organigramme de l'UMR EPOC comprend quatre niveaux de responsabilités :

1. La cellule de direction qui comprend le Directeur, le Directeur adjoint et l'Administrateur,
2. les chargés de missions (Animation scientifique, Enseignement et Personnels ITARF) qui sont rattachés à cette cellule,
3. les responsables de site,
4. les responsables d'équipes scientifiques.



Annexe II : Le réseau MAGEST

Les stations sont situées dans le courant, suffisamment dégagées des berges et analysent la tranche d'eau située à un mètre cinquante sous la surface.



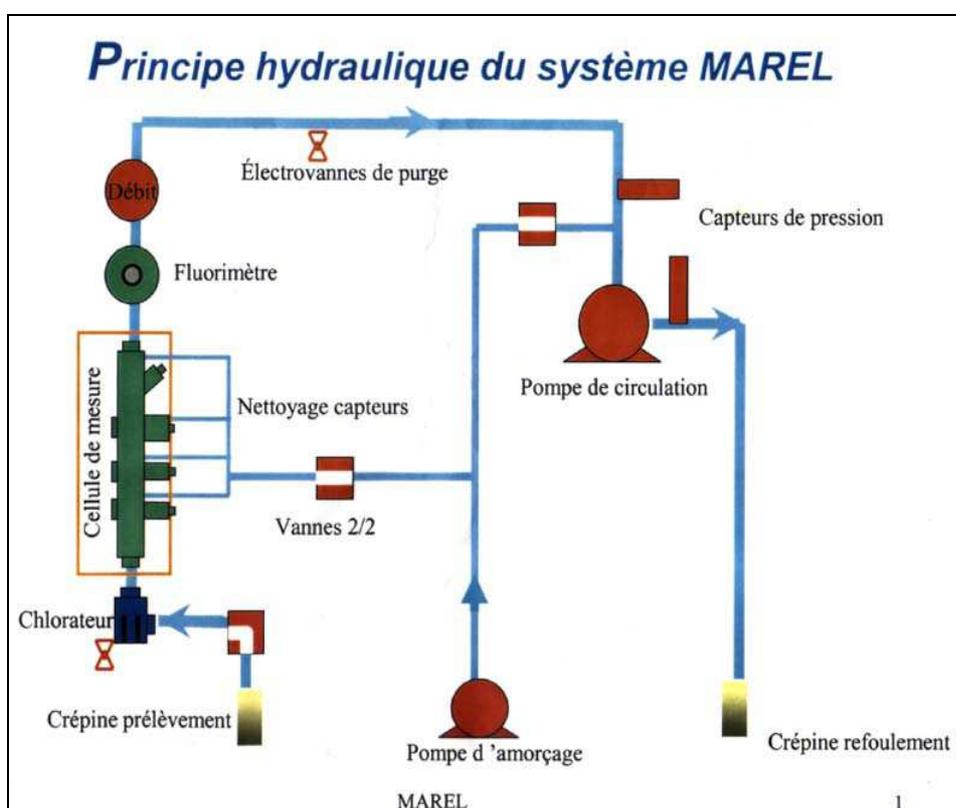
Les sondes sont fixées sur une conduite en PVC dans lequel circule l'eau de la Garonne prélevée au moyen d'une pompe à vide (fait remonter le liquide par dépression).

Les analyses se font lors de cycles de 10 minutes pendant lesquelles :

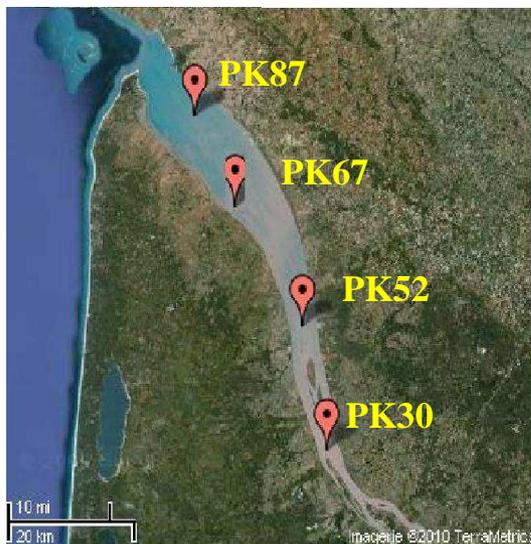
- 30 secondes sont consacrées au nettoyage des capteurs,
- 120 secondes sont nécessaires à l'injection d'eau chlorée,
- 180 secondes servent à la stabilisation des capteurs,
- 120 secondes pour stabiliser et enregistrer la mesure en instantané.

Les mesures sont enregistrées au moyen trois capteurs de type :

- LIQUISYS-M CUM 253, capteur turbi MAX-WCUS31, pour **la turbidité**
- LIQUISYS-M COM 253 capteur d'oxygène Dissous cos4, pour **l'O2 dissous**
- LIQUISYS-M CLM 253 cellule de conductivité INDUMAX-H CLS 52 pour **la conductivité et la température.**



ANNEXE III : Le réseau SOMLIT



Localisation des points de mesures SOMLIT en Gironde

Le Service d'Observation en Milieu LITtoral (SOMLIT) s'intéresse à des phénomènes de durée au moins pluri-décennale, dont les variations à faible ou moyenne échelle de temps se traduisent par des modifications de faible amplitude à une échelle de temps décennale et qui concernent donc des phénomènes globaux.

La problématique majeure abordée en Gironde par ce réseau concerne l'impact du changement global sur l'estuaire. Les paramètres suivis (chimie, physique, biologie) permettent de suivre l'évolution des écosystèmes en identifiant les modifications à plusieurs niveaux :

- impact direct du climat (température, salinité, ...): apports en eau, hydrodynamique, métabolisme, lien avec le climat à différentes échelles spatiales et temporelles ;
- conséquences sur les apports allochtones (marins et continentaux) à cet écosystème littoral (salinité, pH, sels nutritifs, paramètres descripteurs de la Matière Organique Particulaire (MOP)) ;
- conséquences sur le fonctionnement de l'écosystème (Oxygène dissous, pH, sels nutritifs, paramètres descripteurs de la matière organique particulaire et biologie avec biomasse microphytoplanctonique et pico-nanoplanctonique).

Aux quatre stations échantillonnées une fois par mois depuis plus de trente ans, des tendances évolutives nettes sont donc apparues concernant température des eaux (élévation évoquée en figure 3) et salinité (marinisation significative jusqu'au PK52), alors que l'oxygénation des eaux reste très stable et sans problème dans tout l'estuaire central.

ANNEXE IV : L'oxygène dans l'eau

L'oxygène dissous dans l'eau est un élément fondamental nécessaire pour le bon développement des animaux et des végétaux vivant dans l'eau. Il intervient dans la majorité des processus biologiques et participe également aux réactions biogéochimiques se déroulant en milieu aqueux.

L'oxygène présent dans l'eau sous forme de molécules gazeuses se dissout dans cette eau par diffusion, jusqu'à un équilibre appelé « saturation ». Cette saturation ou solubilité maximale de l'oxygène dans l'eau est, pour l'essentiel, fonction de la température et de la salinité.

Pour être apte à accueillir et entretenir la vie, une eau doit contenir un minimum d'oxygène : la plupart des organismes aquatiques, les poissons en premier lieu, ne peuvent vivre normalement que dans des eaux présentant au moins 3mg/l d'oxygène. Or, le niveau d'oxygénation de l'eau est la résultante d'un grand nombre de processus, tant physicochimiques que (micro) biologiques. Il reflète très précisément le fonctionnement de l'écosystème et est très sensible à tout déséquilibre de ce fonctionnement.

La provenance de l'oxygène est liée à l'**agitation** sous l'effet du vent, des courants, de la houle, qui aère la colonne d'eau plus ou moins profondément et à la **photosynthèse** par laquelle les végétaux verts, et dans le cas présent le phytoplancton, assurent leur croissance, cette production de matière organique s'accompagnant d'un dégagement d'oxygène.

Les consommations en oxygène sont dues à :

- **la dégradation hétérotrophe de matière organique de toute sorte**, organismes morts, mêlés à la fraction organique liée au matériel en suspension dans l'eau,
- **l'oxydation** des composés chimiques rejetés par les activités humaines, par exemple l'oxydation de l'ammonium en nitrate par les bactéries nitrifiantes, processus classiques dans les rejets de STations d'EPuration (STEP).

Des processus d'eutrophisation, le plus souvent à l'abri des courants, peuvent avoir lieu: quand les conditions sont favorables à la photosynthèse, la masse végétale produite prolifère, **ce qui induit une demande accrue en oxygène lors de sa dégradation**. Ce phénomène devient plus fréquent, ces dernières années, avec l'enrichissement des eaux en produits azotés et phosphorés.

En milieu estuarien, il existe quotidiennement des variations prononcées de l'oxygène dissous liées au rythme des marées, et ces chutes répétées, aussi bien que les déficits estivaux prolongés affaiblissent les organismes et provoquent parfois leur asphyxie. Les zones très déficitaires en oxygène, (hypoxie forte ou anoxie) constituent une barrière infranchissable par les poissons migrateurs.

Vie aquatique et besoins en O ₂		
Seuil sensible	Développement normal	Plus de 5 mg/l
	Développement perturbé	de 4 à 5 mg/l
Seuil critique		de 3 à 4 mg/l
	Faune et flore en difficulté	de 2 à 3 mg/l
Seuil létal		de 1 à 2 mg/l
	Asphyxie et mortalité	Moins de 1 mg/l

Annexe 5

Impact des activités urbaines de l'agglomération bordelaise sur la qualité biogéochimique des hydrosystèmes : contamination métallique actuelle des eaux et sédiments et évolution historique des pressions anthropiques.

Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Rennes, 59 p.

Beaupin C. (2012)



Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes
Avenue du Général Leclerc
CS 50837
35708 Rennes Cedex 7
France
Téléphone : +33 2 23 23 81 07
Fax : +33 2 23 23 81 99



Université Bordeaux 1
UMR CNRS 5805 EPOC
Equipe « Transferts Géochimiques des Métaux à
l'interface continent océan »
Avenue des Facultés
33405 Talence cedex
Téléphone : 05 40 00 88 67
www.epoc.u-bordeaux1.fr

Beaupin Camille – Stagiaire recherche

Stage Ingénieur 3ème année, 6 mois du 20/02/2012 au 17/08/2012

Impact des activités urbaines de l'agglomération bordelaise sur la qualité biogéochimique des hydrosystèmes : contamination métallique actuelle des eaux et sédiments et évolution historique des pressions anthropiques.



Maître de stage : Alexandra COYNEL, Maître de conférences, Université Bordeaux 1, a.coynel@epoc.u-bordeaux1.fr

Tuteur ENSCR : André DARCHEN, Enseignant-Chercheur ENSCR, andre.darchen@ensc-rennes.fr

Responsable de soutenance : Didier HAUCHARD, Enseignant-Chercheur ENSCR, didier.hauchard@ensc-rennes.fr



Sommaire

1. Introduction	1
1.1. Contexte.....	1
1.2. Synthèse bibliographique.....	2
2. Matériel et méthodes	6
2.1. Campagne de prélèvement géochimique dans le lac de Bordeaux-Lac	6
2.2. Carottage à l'exutoire de bassins versants urbains : cas de la Jalle de Blanquefort	7
2.2.1. Stratégie d'échantillonnage.....	7
2.2.2. Mode opératoire pour le carottage et traitement de la carotte.....	7
2.3. Analyses sédimentologiques et biogéochimiques	8
2.3.1. Teneur en eau des sédiments	8
2.3.2. Granulométrie des sédiments.....	8
2.3.3. Détermination des teneurs en carbone organique particulaire	8
2.3.4. Dosage des métaux par ICP-MS.....	9
2.3.5. Dosage du mercure particulaire par DMA.....	11
3. Résultats et discussion.....	12
3.1. Qualité géochimique des eaux du lac urbain.....	12
3.2. Qualité géochimique des sédiments de surface du lac urbain.....	13
3.2.1. Caractéristiques sédimentologiques des sédiments.....	13
3.2.2. Teneurs en éléments métalliques dans les sédiments.....	13
3.2.3. Coefficient de partage entre phases particulaire et dissoute	15
3.2.4. Spéciation solide des métaux.....	15
3.2.5. Facteur d'enrichissement en métaux dans les sédiments	16
3.3. Enregistrement historique des contaminations métalliques	17
3.3.1. Qualité géochimique des sédiments.....	17
3.3.2. Sources potentielles des contaminations.....	20
4. Conclusions et perspectives	22
Bibliographie.....	24
Annexes.....	28

Table des illustrations

Figure 1: Réseau d'observation hydro-biogéochimique et localisation des sites de prélèvements (étoiles) ; la source de contamination majeure en métaux est située en Aveyron au niveau du bassin du Riou Mort.....	4
Figure 2: Enregistrement historique de la contamination en Cd dans les sédiments du barrage du Lot. Marcenac est situé en amont de la source de contamination du Riou Mort; Carjac est situé en aval [Audry et al., 2004c].....	3
Figure 3: Remobilisation sous gradient de salinité [Strady et al., 2009]	4
Figure 4 : Teneurs en Ag particulaire sur les bassins versants de l'agglomération bordelaise [Zhao, 2011]	5
Figure 5: Localisation des sites de prélèvements pour les 2 carottes et dans le lac	6
Figure 6: Photographies de la benne shipeck et du dispositif de prélèvement.....	7
Figure 7: Photographies du matériel de carottage	8
Figure 8: Comparaison entre les concentrations dissoutes des eaux certifiées et celles mesurées	10
Figure 9: Comparaison entre les concentrations particulières des sédiments certifiées et celles mesurées	11
Figure 10: Distribution statistique des concentrations dissoutes dans le lac de Bordeaux-Lac.....	12
Figure 11: Distribution statistique des résultats granulométriques	13
Figure 12: Distribution statistique des concentrations particulières dans le lac de Bordeaux Lac	14
Figure 13: Coefficient de partage entre la phase particulaire et la phase dissoute.....	15
Figure 14: Comparaison de l'attaque totale et des attaques sélectives sur les sédiments Bordeaux Lac	16
Figure 15: Profil sédimentologique et des teneurs en métaux dans la carotte sur la Jalle de Blanquefort.....	19
Figure 16: Comparaison de l'évolution de la concentration en Ag dans les huîtres avec la vente de films photographiques [Lanceleur et al., 2011b].....	20
Tableau 1: Comparaison des concentrations dissoutes mesurées dans le lac avec des valeurs mondiales et régionales	12
Tableau 2: Comparaison des concentrations particulières mesurées dans le lac avec des valeurs régionales, mondiales et avec des indices ecotoxicologiques (TEC et PEC).....	14
Tableau 3 : Niveaux de concentrations mesurés sur la carotte sur la Jalle de Blanquefort et facteurs d'enrichissement.....	18
Tableau 4 : Comparaison des bruits de fond géochimiques dans le lac de Bordeaux-Lac, la carotte sur la Jalle de Blanquefort et le bruit de fond géochimique dans la Garonne.....	21

Avant propos

I. Présentation du laboratoire

J'ai effectué mon stage de recherche à l'Université Bordeaux 1 au sein de l'Unité Mixte de Recherche (UMR) « Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux » (EPOC) associant plusieurs organismes : l'Université Bordeaux 1, le CNRS, l'Université Bordeaux 4 et l'École Pratique des Hautes Etudes.

La création de l'UMR EPOC a été officialisée en 1999 suite au regroupement de quatre laboratoires : le Département de Géologie et Océanographie, le Laboratoire d'Océanographie Biologique, le Laboratoire d'Ecotoxicologie et d'Ecophysiologie des Systèmes Aquatiques et le Laboratoire de Physico-chimie et de Toxicologie de l'environnement. Cette unité regroupe environ 175 personnes dont 75 chercheurs et enseignants-chercheurs, 50 doctorants, post-doctorants, ATER et moniteurs et 50 personnels techniques : ingénieurs d'études et de recherche, techniciens et administratifs (cf politique Qualité, Hygiène, Sécurité et Environnement en annexe I). Depuis le 18 décembre 2001, l'UMR EPOC fait partie intégrante de l'Observatoire Aquitain des Sciences de l'Univers (OASU). L'UMR EPOC est aussi un centre de formation à et par la recherche et un centre d'observation.

Les recherches conduites à l'UMR EPOC sont déclinées en trois grands axes thématiques : Océanographie côtière, Géosciences marines et Ecotoxicologie, au sein desquels se répartissent sept équipes.

Thématique Océanographie Côtière

Ecologie et Biogéochimie des Systèmes Côtiers

Modélisation Expérimentale et Télédétection en Hydrodynamique Sédimentaire

Thématique Géosciences Marines

Paléoclimats

Sédimentologie

Thématique Ecotoxicologie

Physico et Toxicologie Chimie de l'environnement

Ecotoxicologie Aquatique

Transferts Géochimiques des Métaux à l'interface continent-océan : TGM

L'équipe TGM, au sein de laquelle j'effectue mon stage, focalise ses activités de recherche sur la compréhension des cycles des ETM (Eléments Traces Métalliques) dans les environnements aquatiques. Les travaux réalisés mettent l'accent sur i) l'identification des sources naturelles et anthropiques, ii) l'estimation des flux métalliques et des bilans de masses aux interfaces physico-chimiques (atmosphère-eau-sédiments) et biologiques, iii) la connaissance des processus bio-géochimiques de remobilisation et la détermination des formes chimiques (spéciation et biodisponibilité potentielle des ETM). Ces travaux s'appuient sur une plateforme analytique comprenant, entre autres, deux ICP-MS Thermo X7 et Thermo X Series II, deux absorptions atomiques Perkin Elmer AAnalyst 300 et Perkin Elmer AAS 3100, un four d'absorption graphite Perkin Elmer AAnalyst 600, deux fluorescences atomiques PSA Millennium et PSA Excalibur, des couplages GC/ICP-MS et FIAS/AAS et un DMA-80 Milestone.

L'équipe TGM développe, en France et à l'étranger, des réseaux d'observation hydro-biogéochimiques sur les grands bassins fluvio-estuariens (e.g. Garonne, Dordogne, Loire et Charente en France ; Fleuve Rouge au Vietnam ; Danshuei à Taïwan ; bassins de l'Amazone et du Congo,...) afin de caractériser la sensibilité à l'érosion des sols de ces bassins, localiser

les sources de pollutions métalliques, identifier les facteurs de contrôle, estimer les parts naturelles et anthropiques et évaluer leur devenir dans les estuaires et la zone côtière, et ceci face aux changements globaux.

A titre d'exemple, le réseau d'observation régional mis en place depuis 1990, avec le soutien de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, consiste en un suivi journalier des débits et des concentrations en matières en suspension (auxquelles sont associées majoritairement les contaminants) par des missions de terrain régulières (> 24 jours) pour caractériser la qualité des eaux et des particules sur tout le continuum bassins versants – estuaire – océan (Figure 1). Un tel suivi a permis de localiser la source de contamination historique en Cd et Hg du bassin versant de la Garonne, responsable de l'interdiction d'exploiter et de consommer des huîtres dans l'estuaire de la Gironde et d'accompagner l'industriel dans les travaux de réhabilitation du site industriel (i.e ; le bassin du Riou Mort, affluent du Lot (Figure 1).

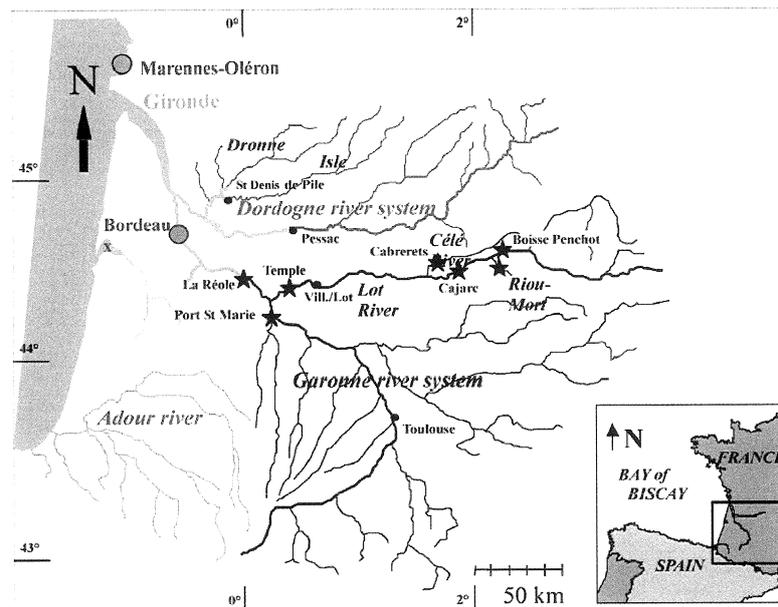


Figure 1: Réseau d'observation hydro-biogéochimique et localisation des sites de prélèvements (étoiles) ; la source de contamination majeure en métaux est située en Aveyron au niveau du bassin du Riou Mort.

II. Remerciements

Je tiens à remercier dans un premier temps, Alexandra COYNEL, ma responsable de stage, pour m'avoir offert ce stage et suivi pendant ces 4 premiers mois pour exploiter mes résultats, me permettre de faire un maximum d'expériences et m'aider à la rédaction de mon rapport. Je la remercie également pour le temps qu'elle m'a consacrée, ses explications et sa gentillesse.

Je remercie également Lionel Dutruch et Cécile Bossy, ingénieurs de l'équipe, pour leur aide et explications pour les manipulations dans le laboratoire et l'utilisation de l'ICP-MS et DMA ainsi que leur bonne humeur et gentillesse.

Je tiens également à remercier Hervé Derriennic, technicien terrain, pour m'avoir montré toutes les étapes de préparation pour aller sur le terrain et pour son accompagnement sur la campagne terrain. Je souhaite aussi remercier Alexandra Coynel, Lionel Dutruch, Stéphane Kervella et Eric Maneux pour leur participation lors de la campagne de prélèvements assez difficile sur la Jalle de Blanquefort, Eau Bourde et Bordeaux Lac. Je les remercie également pour leur bonne humeur lors de cette campagne et les mois passés dans l'équipe.

Je voudrais donc remercier toute l'équipe TGM et la cellule de transfert GEO-TRANSFERT ainsi que Jörg Schäfer et Laurent Lanceleur pour leur accueil, leur sympathie, les conseils que chacun a pu me donner durant ces quelques mois et particulièrement Gérard Blanc, qui a m'acceptée au sein de son équipe pour mon stage de fin d'études et s'est toujours intéressé à ma bonne continuation après ce stage.

Je souhaite aussi remercier l'équipe Ecologie et Biogéochimie des Systèmes Côtiers et plus particulièrement Henri Etcheber qui m'a autorisée à utiliser le LECO et bien accueillie.

Enfin j'aimerais remercier les thésardes Kahina Kessaci et Nicole Deycard qui m'ont donné des conseils et m'ont montré le fonctionnement du laboratoire et les différents stagiaires pour les discussions sympathiques que nous avons pu partager.

1. Introduction

1.1. Contexte

Indispensable au développement de la vie, l'eau fait l'objet d'attentions grandissantes et d'un nombre croissant de lois, décrets ou projets destinés à sauvegarder ou restaurer sa bonne qualité et ainsi à pérenniser son usage par l'Homme. La directive 2000/60/CE du parlement européen établit un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. L'objectif ultime de cette directive consiste à assurer l'élimination des substances dangereuses prioritaires et à atteindre, dans l'environnement marin, des concentrations qui soient proches des niveaux de fond pour les substances présentes naturellement. L'eau constitue également un vecteur privilégié du transport des substances issues des continents vers les océans [Förstner *et al.*, 2008]. Ces flux de matières vont transiter dans les systèmes hydrologiques jusqu'aux estuaires, zones propices à la sédimentation des particules.

Les métaux font partie des contaminants considérés comme des substances dangereuses et/ou prioritaires au regard de la DCE (2000/60/CE). Ils sont naturellement présents dans l'environnement ; leurs teneurs dans les eaux et les particules sont fonction de la nature des sols drainés et donc du type de formations géologiques et de l'intensité de leur altération physique ou chimique [Garret, 2000]. Au cours des deux derniers siècles, l'utilisation massive de pesticides et d'engrais pour l'agriculture et/ou l'industrialisation rapide de nos sociétés, associée à l'exploitation accrue de minerais et l'utilisation du charbon, ont induit une forte augmentation des émissions anthropiques en métaux [Hochella *et al.*, 1999 ; Salomons, 1995]. Non biodégradables, les métaux tendent à se bioaccumuler dans les organismes et deviennent toxiques. Ainsi, est-il important de contrôler les apports en métaux dans l'environnement.

Si les rejets de métaux d'origine industrielle ou agricole ont été massifs jusque dans les années 60-70, la tendance générale observée dans les pays développés est à forte diminution suite au déclin de l'industrie et aux normes européennes pour l'agriculture et l'usage des pesticides [Meybeck *et al.*, 2007]. Or, depuis quelques années, l'urbanisation croissante et la présence de grandes agglomérations aux abords des fleuves et rivières tendrait à devenir une source importante de contamination métallique [Horowitz, 2009]. Les apports en métaux peuvent se faire par ruissellement des eaux lessivant les sols pollués par le trafic routier, les jardins, les toitures, les rejets des hôpitaux et aussi par rejets directs en milieu aquatique par les STEP par exemple [Buzier *et al.*, 2006 ; Buzier *et al.*, 2011]. A cela s'ajoutent également les apports atmosphériques, les aérosols et poussières riches en ETM provenant de la combustion des hydrocarbures fossiles (chauffage, circulation) et de l'usure mécanique liée à la circulation routière (pneus, plaquettes de freins, asphalte, béton...) [Schäfer *et al.*, 2009]. Ces métaux entraînés dans le milieu aquatique sont ensuite retrouvés dans les matières en suspension et les sédiments transitant dans les hydrosystèmes.

A l'échelle régionale, le réseau d'observation de l'équipe TGM s'est focalisé sur les contaminants rejetés par les sites industriels et miniers et par les activités agricoles (ex. utilisation de la bouillie bordelaise au niveau des vignes) provenant des bassins versants de la Garonne et la Dordogne et ont étudié la réactivité et le devenir des métaux dans l'estuaire de la Gironde [Audry *et al.*, 2004a; Audry *et al.*, 2004c; Audry *et al.*, 2005; Audry *et al.*, 2006a; Audry *et al.*, 2010; Coyne *et al.*, 2007a] (Figure 1). Cependant, des lacunes existent quant à la connaissance des apports en métaux d'origine urbaine provenant de l'agglomération bordelaise ; il était donc impératif de mettre en place des études biogéochimiques sur ce secteur en collaboration avec les gestionnaires de la ressource en eau.

Ainsi, ce stage de recherche d'une durée de 6 mois s'inscrit-il dans un projet de recherche sur 4 ans (2011-2014), appelé ETIAGE (ETude Intégrée de l'effet des Apports

amonts et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne). Ce projet porté par l'université Bordeaux 1 se fait en collaboration avec la Communauté Urbaine de Bordeaux, la Lyonnaise des eaux, l'Agence de l'Eau Adour-Garonne et IRSTEA (ex. Cemagref). Ce projet a été mis en place afin d'évaluer l'impact de l'agglomération bordelaise sur la qualité des hydrosystèmes (bassins versants urbains et estuaire de la Gironde) et de respecter la Directive Cadre Européenne de l'Eau de 2000 qui impose un bon état écologique des eaux d'ici 2015. Dans ce projet, 5 axes ont été définis afin de réaliser une étude intégrée et analyser l'ensemble des pressions anthropiques sur la Garonne et l'estuaire de la Gironde : l'axe 1 s'intéresse à l'impact des rejets de matières organique sur l'oxygénation des eaux ; l'axe 2 aux rejets et devenir des contaminants organiques et émergents ; l'axe 3 aux contaminants métalliques ; l'axe 4 à l'impact des conditions physico-chimiques sur les cortèges biologiques et enfin l'axe 5 vise à la synthèse des pressions et impacts sur la Garonne et aux modes de gestion.

Mon étude s'intègre dans l'axe 3 (voir description détaillée annexe II) et porte sur 3 sous-volets : (i) la caractérisation biogéochimique des eaux et des sédiments de surface dans un hydrosystème urbanisé (lac de Bordeaux-Lac) afin de définir des traceurs urbains et évaluer les niveaux de contamination ; (ii) l'analyse de l'évolution temporelle des pressions urbaines sur les rivières drainant l'agglomération bordelaise à partir d'archives sédimentaires ; (iii) la mise en place d'un réseau d'observation des rejets atmosphériques en métaux sur l'agglomération.

1.2.Synthèse bibliographique

Les estuaires représentent d'importants écosystèmes à l'interface entre le continent et l'océan : ils jouent le rôle de nourricerie, ont un intérêt commercial et patrimonial et sont un passage obligé des poissons migrateurs. Il est donc important d'étudier la pollution engendrée sur ces écosystèmes afin de les préserver en gérant les émissions et en atteignant le bon état écologique des eaux imposé par la DCE.

L'estuaire de la Gironde est le plus grand estuaire du Sud-Ouest de l'Europe et pourtant le moins industrialisé d'Europe. Cependant, dès le début des années 1980, le Réseau National d'Observation de l'Ifremer a mis en évidence des concentrations en Cd, mesurées dans les huîtres de l'estuaire, supérieures à 10 fois la norme de consommation. Cette observation a conduit au classement de l'estuaire en zone D, i.e. interdiction de ramassage, production et commercialisation des bivalves [Baudrimont *et al.*, 2005]. Elle a également provoqué la mobilisation de la communauté scientifique autour de cette contamination et de nombreuses études ont permis de documenter les sources et les niveaux de contamination dans les différents compartiments du système fluvio-estuarien girondin. L'équipe TGM a notamment mis en place le suivi des flux en métaux entrant dans l'estuaire de la Gironde via ses tributaires (Garonne, Dordogne et Isle) [Audry *et al.*, 2004a; Audry *et al.*, 2004c; Audry *et al.*, 2005; Audry *et al.*, 2006a; Audry *et al.*, 2010; Coynel *et al.*, 2007b]. Elle a également contribué à améliorer notablement la connaissance des processus affectant les métaux à l'interface eau douce-estuaire-zone littorale et leur bioaccumulation dans les organismes [Baudrimont *et al.*, 2005]. Les résultats majeurs obtenus sur ce système peuvent être replacés depuis l'amont vers l'aval.

Alors que le bassin drainé par l'estuaire de la Gironde représente une superficie de 71000 km² et le Lot, son affluent, a un bassin versant d'une superficie de 11840 km², ce dernier contribuerait jusqu'à 90% des apports en Cd, du fait de la présence de l'usine de Decazeville située sur un affluent du Lot, localisée à près de 400 km de l'embouchure. [Audry *et al.*, 2004a; Audry *et al.*, 2004b; Coynel *et al.*, 2009; Lanceleur *et al.*, 2011a]. En effet, pendant plus d'un siècle, entre 1871 et 1987, les activités métallurgiques de traitement du minerai de zinc au niveau du bassin versant de Decazeville (Aveyron) ont engendré le dépôt de volumes très importants de sous-produits métallurgiques fortement enrichis en ETM

notamment en Cd, Hg et Ag. Le lessivage par les pluies des crassiers métallurgiques a entraîné, par érosion et oxydation des phases sulfurées, la contamination du Riou Mort, affluent du Lot et tout le continuum Lot-Garonne-Gironde.

Les sédiments représentent une matrice de matériaux comprenant des carbonates, de la matière organique, des déchets et des silicates (argiles, silts, sables et graviers) et forment donc un mélange physiquement, chimiquement et biologiquement hétérogène [Wu *et al.*, 2010]. Dans les rivières, les sédiments peuvent agir comme réservoirs car ils sont capables d'absorber les polluants mais aussi comme sources secondaires de pollution lors de remobilisation : dans le premier cas, la qualité de l'eau est améliorée mais, dans certaines conditions, il est aussi possible que les sédiments relâchent les polluants dans l'eau et engendrent une pollution à retardement par rapport à l'émission initiale. De nombreux barrages, présents dans le bassin du Lot depuis les années 1950, ont conduit à l'accumulation rapide et importante de sédiments ; cela implique que ces dépôts sont peu affectés par les procédés de diagenèse et qu'ils procurent un enregistrement historique des arrivées en ETM permettant de retracer l'évolution des pressions anthropiques (Figure 2). L'analyse de carottes sédimentaires, prélevées sur le Lot en amont et en aval de la source de pollution, mettent en évidence des concentrations très élevées en Zn, Cd, Cu, Hg et Ag dans les sédiments anciens (1950-1960) ainsi qu'un pic datant de 1986-1987 suite à un accident sur le site industriel [Audry *et al.*, 2004a, Castelle *et al.*, 2007; Lanceleur *et al.*, 2011a]. Bien qu'une diminution des concentrations en Cd transitant dans ce système ait été mise en évidence après les travaux de réhabilitation menés suite à cet accident (Figure 2), les stocks des ETM piégés dans les sédiments de barrages du Lot restent élevés [Audry *et al.*, 2004a]. Ils ont été estimés à 200 t, 300 t, 5-13 t, 1000 t et 10000 t respectivement pour Cd, Cu, Hg, Pb et Zn. Ces stocks peuvent être remobilisés lors de périodes de crues majeures ou lors des travaux de dragage dans le lit du Lot [Audry *et al.*, 2004c ; Coynel *et al.*, 2007a].

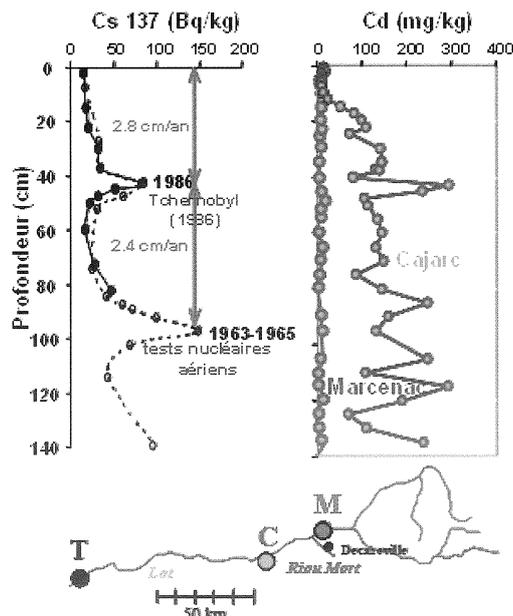


Figure 2: Enregistrement historique de la contamination en Cd dans les sédiments du barrage du Lot. Marcenac est situé en amont de la source de contamination du Riou Mort; Carjac est situé en aval [Audry *et al.*, 2004c]

Dans le Sud-Ouest de la France à dominance rurale, les apports métalliques dus aux activités agricoles contribuent également à la composition géochimique des cours d'eau. Masson *et al.* (2006) ont utilisé des rapports élémentaires mesurés dans des laisses de crues, prélevées dans les bassins versants de la Garonne, Dordogne et Isle, pour tracer l'origine de

Cu. Dans la partie amont, les rapports Cu/Pb correspondent à la signature géochimique naturelle des formations géologiques alors que, dans la partie aval, l'augmentation du rapport démontre l'influence des rejets agricoles en Cu avec l'utilisation de la bouillie bordelaise.

Les métaux, qui pour certains d'entre eux sont des éléments nécessaires aux fonctions vitales peuvent devenir des contaminants en fonction de leurs concentrations dans le milieu, des voies et de la durée d'exposition des organismes [Amyard *et al.*, 1987]. Les formes chimiques des métaux contrôlent aussi fortement leur mobilité, biodisponibilité et toxicité. Afin de connaître la mobilité et la biodisponibilité des métaux des extractions sélectives sont réalisées afin de caractériser la spéciation solide des MES et sédiments. Selon les conditions du milieu et la présence de certaines communautés bactériennes, ces phases porteuses sont plus ou moins stables : les particules organiques peuvent être dégradées, les sulfures peuvent s'oxyder dans des conditions oxydantes (oxygénées), les oxyhydroxydes peuvent se dissoudre en conditions réductrices, se transformer minéralogiquement selon les conditions de pH et de températures [Audry *et al.*, 2006a, Korfali et Davies, 2004]. Dans l'estuaire de la Gironde, il a été démontré que les métaux d'origine géogénique (ex. V, Cr, Th) sont majoritairement liés à la fraction résiduelle (intégré dans le réseau cristallin) et sont donc très peu mobiles [Audry *et al.*, 2006a]. A l'inverse, Cd, Zn, Pb et Cu sont principalement associés à la phase échangeable et sont donc considérés comme très réactifs et mobiles d'autant que l'estuaire de la Gironde présente de forts gradients physico-chimiques.

En effet, comme tous les estuaires macrotidaux, la Gironde est caractérisée par un long temps de résidence des eaux et des particules et la présence d'une zone de turbidité maximum (MTZ). La turbidité y est très élevée avec des concentrations en matières en suspension (MES) supérieures à 1 g/L dans les eaux de surfaces et quelques centaines de g/L dans le fond. Cette MTZ est localisée dans les régions de faible salinité et se déplace selon les débits des rivières [Doxaran *et al.*, 2009; Robert *et al.*, 2004]. La présence d'une MTZ dans l'estuaire augmente la pression sur le milieu avec notamment la désoxygénation des eaux de l'estuaire [Abril *et al.*, 2000], ce qui peut provoquer la mobilisation des métaux sous des formes biodisponibles [Audry *et al.*, 2006b; Robert *et al.*, 2004]. Alors que l'essentiel des métaux est véhiculé sous forme particulaire dans les fleuves et rivières du Sud-Ouest de la France, certains éléments se désorbent de la phase particulaire dans le gradient estuarien de salinité, devenant alors biodisponibles pour les organismes. Cadmium et Ag sont soumis au gradient de salinité qui est un facteur de désorption vers la phase dissoute (phénomène d'addition), [Dabrin *et al.*, 2009 ; Lancelleur *et al.*, sous presse] observé pour des salinités de 15 alors que U reste conservatif et suit la droite de dilution [Strady *et al.*, 2009].

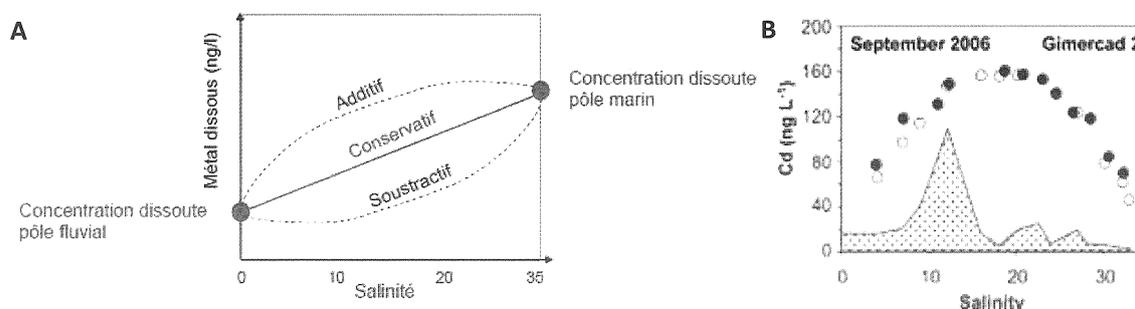


Figure 3: Remobilisation sous gradient de salinité [Strady *et al.*, 2009]

Bien que présentant une forte diminution entre 1979 et 2007, les concentrations en Cd en 2007 sont toujours supérieures à la limite de consommation des huîtres. La contamination présente dans l'estuaire de la Gironde remonte jusqu'à la Baie de Marennes Oléron qui est un des plus grands producteurs d'huîtres [Strady *et al.*, 2009]. Dans cette zone ostréicole, les concentrations en Cd dans les bivalves sont proches des limites de consommation et toute

source additionnelle de contamination pourrait entraîner sa fermeture. Il est donc important de surveiller et limiter les contaminations en métaux dans l'estuaire de la Gironde.

L'analyse de poussières atmosphériques récoltées au niveau de la ville de Bordeaux a montré que les retombées en ETM potentiellement biodisponibles (extrait avec HNO₃) représenteraient annuellement jusqu'à 10 kg de Cd, 23 kg de Cu et 148 kg de Zn réactifs apportés directement à la Garonne par la ville de Bordeaux [Schäfer *et al.*, 2009], suggérant que la ville pouvait être une source de contamination significative.

En parallèle, une étude préliminaire a été effectuée sur le compartiment aquatique afin de caractériser les laisses de crues récoltées à l'exutoire de l'ensemble des bassins intra-estuariens de la Gironde [Pascaud, 2009]. Cette étude a permis d'identifier de fortes anomalies en ETM (Ag, Cd, Cu) sur les bassins versants drainant l'agglomération bordelaise (Jalle de Blanquefort, Eau Bourde et Peugue). Une seconde étude s'est alors intéressée à déterminer plus précisément la distribution spatiale des concentrations en ETM dissous et particulaires dans trois bassins versants drainant l'agglomération bordelaise afin de localiser les anomalies et d'en comprendre l'origine. Ceci a permis de mettre en évidence l'impact des pollutions urbaines sur la qualité des hydrosystèmes et de définir des indicateurs de pollution urbaine tels que Ag, Cd, Cu et Pb qui ont des contributions anthropiques > 70% [Zhao, 2011].

En conclusion, plusieurs sources en ETM sont présentes au niveau du bassin versant de la Gironde. Une contamination polymétallique historique affecte l'ensemble du continuum Lot-Garonne-Gironde. Issue du bassin métallurgique de Decazeville, c'est la source de contamination la plus importante du système. Une contamination beaucoup plus diffuse liée au fort pourcentage de terrains agricoles a également été mise en évidence notamment à l'aval du bassin avec la viticulture. Encore peu documenté et pouvant avoir un effet significatif sur la qualité des eaux, l'impact des zones urbaines reste à quantifier. Le présent projet s'intéresse à la pollution urbaine engendrée par l'agglomération bordelaise qui compte environ 800 000 habitants et est traversée par la Garonne. Ce réseau hydrographique reçoit des apports non estimés en polluants urbains provenant des rivières drainant l'agglomération, du ruissellement de l'eau de pluie sur l'agglomération transitant directement vers la Garonne, des eaux usées traitées plus ou moins selon les conditions météorologiques (peu de traitement lors des orages et évacuation des eaux usées directement dans la Garonne pour éviter d'inonder la ville de Bordeaux ; [Deycard, En cours]) ainsi que des retombées atmosphériques.

2. Matériel et méthodes

Les prélèvements ont été effectués dans le Lac de Bordeaux-Lac et à l'exutoire des bassins versants urbains de l'agglomération bordelaise (Jalle de Blanquefort et Eau Bourde) (Figure 5). Le Peugue n'a pas été échantillonné car il est canalisé dès son entrée dans l'agglomération.

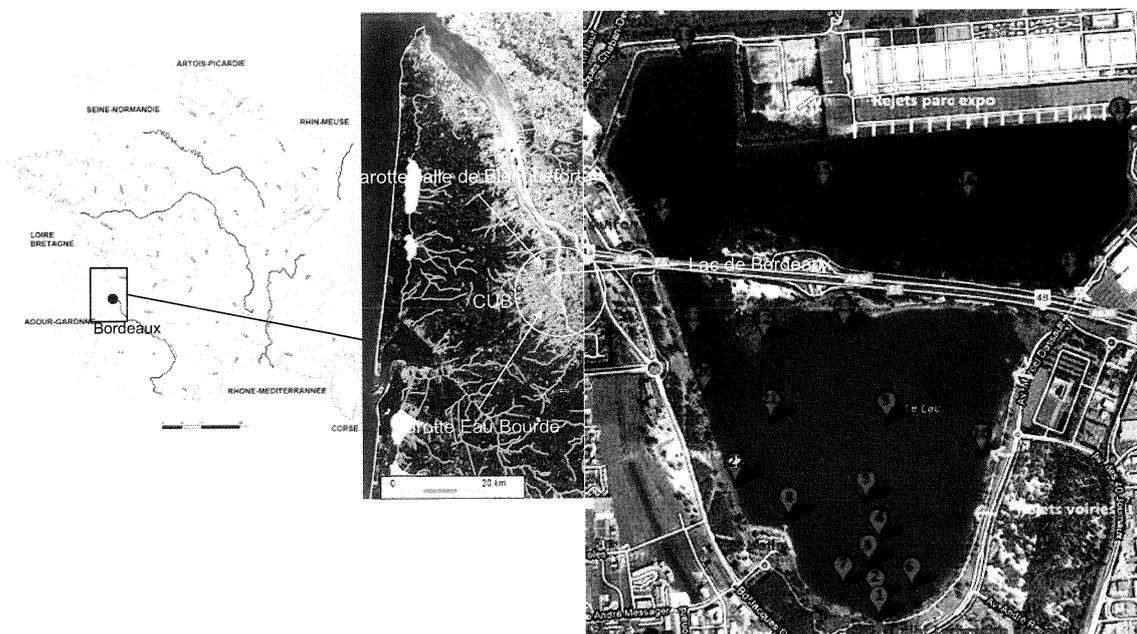


Figure 5: Localisation des sites de prélèvements pour les 2 carottes et dans le lac

2.1. Campagne de prélèvement géochimique dans le lac de Bordeaux-Lac

Le lac de Bordeaux-Lac est un site stratégique car c'est un lac artificiel créé dans une ancienne gravière et soumis à plusieurs rejets urbains (Figure 5), tels que des rejets de voiries (points 10 et 17), des rejets d'eaux usées et pluviales d'un déversoir d'orage de la Lyonnaise des eaux (au point 1) et des rejets du parc des expositions (point 18). Etant donnée la profondeur du lac (environ 15m), la campagne de prélèvement s'est déroulée à bord d'un zodiac, le 29/03/2012. Afin d'établir une cartographie du lac en fonction des différents rejets, les prélèvements ont été effectués en 22 points du lac, repérés par coordonnées GPS, avec à chaque fois un prélèvement de sédiments de surface et un échantillon d'eau prélevé à l'aide d'une seringue NORM-JECT[®] 10 ml en plastique et filtré sur filtre 0.2 μm puis placé dans un flacon NALGENE[®] 30 ml en PP sur site. De retour au laboratoire, les échantillons d'eau ont été acidifiés avec 3 gouttes HNO₃ ultrex pour 25 mL d'échantillon de façon à empêcher les métaux de s'adsorber sur la surface du flacon. Tous les échantillons ont été placés en chambre froide.

Pour les sédiments, le matériel de prélèvement est constitué d'une benne, un contrepoids et des ressorts pour un poids total de 60 kg. Un treuil est utilisé pour faire descendre puis remonter la benne à bord du bateau. Au contact du fond, le contrepoids tombe sur le système de déclenchement et entraîne la rotation de la mâchoire par les ressorts et la fermeture de la benne. Le sédiment, ainsi piégé, est peu perturbé et non lessivé. Il donne lieu à une première interprétation visuelle puis environ 500 g de sédiments ont été prélevés au milieu de la benne afin d'éviter toute contamination potentielle par les bords.

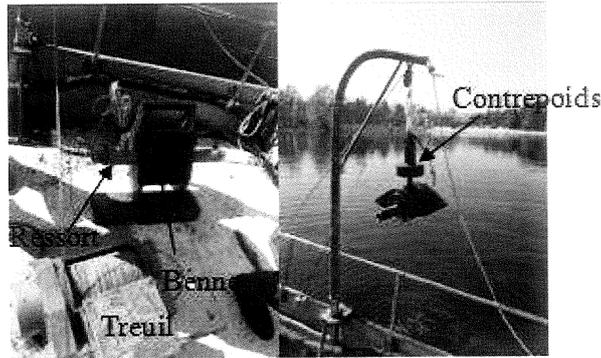


Figure 6: Photographies de la benne shipeck et du dispositif de prélèvement

2.2. Carottage à l'exutoire de bassins versants urbains : cas de la Jalle de Blanquefort

2.2.1. Stratégie d'échantillonnage

Les sites de carottage ont été choisis dans des zones à sédimentation et ne subissant pas l'influence des marées. Des missions de repérage ont permis de choisir les sites de carottage sur la Jalle de Blanquefort et l'Eau Bourde. Pour ce présent rapport, seule la carotte sur la Jalle sera présentée, les analyses sont en cours pour celle sur l'Eau Bourde. Le site de carottage sur la Jalle de Blanquefort est situé en aval d'une station de traitement d'eau et intègre une grande partie du bassin versant.

La Jalle de Blanquefort prend sa source dans la commune de Saint-Jean-D'Illac et parcourt environ 31 km avant de se jeter dans la Garonne. Son bassin versant a une superficie de 330 km² et elle traverse des secteurs forestiers dans sa partie amont puis des zones très urbanisées avec fortes activités industrielles, tertiaires et agricoles. La partie ouest du bassin est rural avec des élevages bovins et équinés et la maïsiculture. C'est le plus grand des trois bassins versant de la rive gauche de Bordeaux.

2.2.2. Mode opératoire pour le carottage et traitement de la carotte

La campagne de carottage sur la Jalle de Blanquefort s'est déroulée le 28/03/2012. Une carotte de 492 cm ainsi qu'une carotte d'interface de 50 cm ont été prélevées à l'aide d'un dispositif lourd et imposant développé au sein de l'UMR EPOC. Le matériel consiste en une échelle de 6 m placée sur une planche et possédant un pied de chaque côté. Un percuteur est installé en bas de l'échelle sur une 'guillotine' qui est ensuite hissée en haut de l'échelle grâce à une poulie. Le tube de carottage, équipé d'un piston et d'une peau d'orange avec une ogive à la base afin de retenir le sédiment est ensuite placé entre le site de carottage et le moteur en haut. Lorsque le tube arrive plus haut que l'échelle, une poulie est utilisée pour enfoncer le début du tube dans le sédiment et pouvoir ensuite placer le tube sous le moteur. Le câble du piston est fixé en haut de l'échelle de façon à ce que le piston reste à la surface du sédiment et le tube s'enfonce. Le moteur est mis en route et est utilisé pour enfoncer le tube dans le sédiment. Ensuite, le moteur est remonté et un palan est utilisé pour ressortir la carotte (Figure 7).

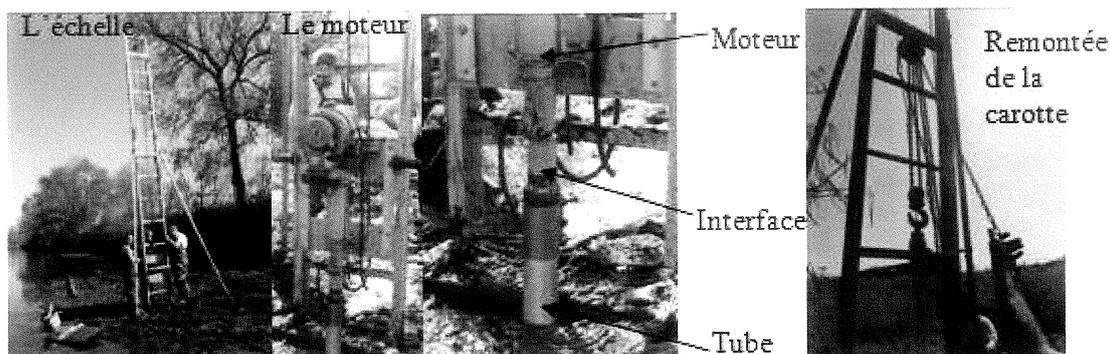


Figure 7: Photographies du matériel de carottage

De retour au laboratoire, la carotte est stockée en chambre froide puis elle est découpée, photographiée et analysée par radioscopie dans le service de sédimentologie.

La radioscopie RX (Scopix) est basée sur l'absorption des rayons X et permet l'observation en détail des structures internes et de l'organisation des sédiments par la mise en valeur des variations de densité. Un rayonnement est émis à partir d'une source de rayons X et vient traverser la carotte. On obtient alors une image en temps réel en niveaux de gris selon la densité. Ceci permet d'observer la structure du sédiment et la présence éventuelle de terriers pouvant déplacer les sédiments dans la carotte.

2.3. Analyses sédimentologiques et biogéochimiques

2.3.1. Teneur en eau des sédiments

Des aliquotes des échantillons de sédiments ont été prélevés dans des piluliers pré-pesés qui ont été pesés à nouveau après prélèvement puis placés à l'étuve jusqu'à poids constant. Par différence le poids correspondant à l'eau évaporé est obtenu et permet donc de calculer le pourcentage d'eau dans l'aliquote.

2.3.2. Granulométrie des sédiments

Des mesures granulométriques sur l'ensemble des échantillons de sédiment ont été effectuées par le granulomètre à diffraction laser de type Malvern de l'équipe de sédimentologie. Cette technique de granulométrie laser utilise les principes de diffusion et diffraction du faisceau laser. Les particules sont entraînées par un fluide et traversées par le faisceau laser qui est diffracté à la surface des particules. Cet angle de diffraction est mesuré par un récepteur et permet d'en déduire la taille de grains [Pye, 2004].

Des aliquotes de sédiments ont tout d'abord été séchés à l'étuve jusqu'à poids constant, ensuite ils ont été broyés dans un mortier en agate, puis les teneurs en COP et métaux peuvent être mesurées à partir de ces aliquotes.

2.3.3. Détermination des teneurs en carbone organique particulaire

Le principe de dosage est basé sur une oxydation des composés organiques contenus dans l'échantillon par combustion à 1100°C dans un four à induction sous flux d'oxygène pur. Ce flux d'oxygène est associé à un catalyseur (mélange Fe/Pt) et assure à la fois la combustion complète du carbone particulaire, sa transformation en CO₂ et le transport de ce dernier jusqu'à la cellule infrarouge non dispersive (NDIR). Avant l'analyse, il a fallu calibrer l'appareil à l'aide d'anneaux en acier dont la teneur en carbone organique est connue.

L'appareil utilisé est le LECO CS-125 de l'équipe Ecologie et Biogéochimie des Systèmes Côtiers.

Pour l'analyse du COP, les aliquotes de sédiments sont placés dans des creusets en céramiques. Ils sont préalablement décarbonatés à l'acide HCl 2N, par ajouts de quelques gouttes, jusqu'à ce qu'ils ne bullent plus. Après la décarbonatation, ils sont séchés au moins 12h sur une plaque chauffante à 60°C et une portion de LECO Sel et de fer sont ajoutés, portions correspondant au blanc. La teneur en COP est exprimée en pourcentage de matière sèche (%COP).

2.3.4. Dosage des métaux par ICP-MS

Tout le matériel utilisé est décontaminé pendant 3 jours dans HNO₃ Normapur. Le matériel est ensuite rincé trois fois à l'eau déionisée puis trois fois à l'eau milliQ[®] puis séché.

2.3.4.1. Mise en solution des ETM particulières

Avant l'analyse des métaux dans la phase particulaire, il est nécessaire de réaliser, une étape d'extraction afin de les mettre en solution.

Attaque totale

L'attaque totale est basée sur l'utilisation d'un mélange triacide suprapur (HCl, HNO₃ et HF) [Audry *et al.*, 2004b; Coynel *et al.*, 2007a; Coynel *et al.*, 2007b; Larrose *et al.*, 2010; Robert *et al.*, 2004; Schäfer *et al.*, 2002]. Environ 30 mg de sédiments, broyés et homogénéisés, sont introduits dans des tubes d'attaque prélavés avec HNO₃. Après l'ajout du mélange triacide (750 µL de HCl, 250 µL de HNO₃ et 2.5 ml de HF suprapurs), les sédiments sont digérés dans les tubes fermés par des verres de montre pendant 2 heures à 100°C (Digiprep). Une fois la digestion réalisée, les verres de montre sont rincés dans le tube et la solution d'acide est évaporée à 100°C sous la hotte pendant une nuit (12h). Après évaporation, le résidu est dissous dans 250 µL de HNO₃ (14M, suprapur) et 5 ml d'eau milliQ[®] puis chauffé une dernière fois à 80°C pendant 15 minutes tubes fermés. Après refroidissement et décantation, 3.5 ml de surnageant sont prélevés par pipetage et conservés dans un tube en polypropylène auxquels sont ajoutés 6.5 ml d'eau milliQ[®]. Ceci constitue la solution mère qui va ensuite être diluée 20 fois à l'eau milliQ[®] pour l'analyse par ICP-MS. Chaque série d'attaque de 48 échantillons, comprend deux sédiments internationaux de référence de rivières (NCS DC 70311 et 70317) dont la concentration en ETM est connue, ainsi que trois échantillons de blanc d'attaque.

Attaques sélectives

Afin de connaître la fraction dans laquelle se trouvent les métaux des extractions sélectives ont été réalisées sur les sédiments de surface de Bordeaux-Lac.

*** Attaque HCl**

Cette attaque permet d'extraire les métaux liés faiblement aux oxydes de manganèse et de fer et aux carbonates. Elle est considérée comme étant représentative des ETM biodisponibles. Elle a été faite à l'aide de 12.5 mL de solution d'HCl à 1N pour 200 mg de sédiments broyés dans des tubes d'attaques prélavés avec HNO₃. Puis les tubes ont été mis sous agitation pendant 24h, centrifugés à 9000 tr/min pendant 10-15 min. 10 mL du surnageant ont été récupérés et replacés dans des tubes d'attaque et évaporés à 100° sous la hotte pendant une nuit (12h). Les échantillons ont ensuite été remis en solution dans 250 µL d'HNO₃ (14M, suprapur) et 5 mL d'eau milliQ[®] puis chauffés à 80 °C pendant 15 min tubes fermés. Les échantillons ont été dilués 200 fois pour l'analyse par ICP-MS.

* Attaque H₂O₂

Cette attaque permet d'extraire les métaux liés à la matière organique et aux sulfures. 250 mg de sédiments broyés ont été introduits dans des tubes d'attaques prélavés avec HNO₃. Puis 750 µL d'HNO₃ suprapur à 0.02M et 1.25 mL d'H₂O₂ à 30% et pH 5 ont été ajoutés goutte à goutte. Le mélange a ensuite été chauffé à 85°C pendant 2h avec agitations intermittentes. 1 mL d'H₂O₂ a de nouveau été ajouté et le mélange chauffé pendant 3h. Après refroidissement, 315 µL d'acétate d'ammonium ont été ajoutés puis l'échantillon a été dilué jusqu'à 5 mL avec de l'eau milliQ® et agité pendant 30 min. Les échantillons ont été dilués 25 fois pour l'analyse par ICP-MS.

2.3.4.2. Dosage des métaux par ICP-MS

Les concentrations en métaux, dissous et particulaires, sont mesurées par ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer Thermo X Series II). Le principe est détaillé en annexe III.

Les échantillons, étalons et matériaux de référence certifiés sont préparés dans l'acide nitrique HNO₃ 1% ultrapur pour optimiser l'ionisation des métaux. Une calibration externe est effectuée. Elle est composée de 8 solutions standards. La dérive de sensibilité de l'appareil est corrigée en passant, tous les 5 échantillons, un point de la gamme étalon comme un échantillon. De même, un blanc est passé tous les 5 échantillons pour contrôler d'éventuelles pollutions et les effets de mémoire et pour calculer les limites de détection (= 3 fois l'écart-type des blancs).

La justesse et la reproductibilité des mesures sont évaluées en analysant plusieurs eaux certifiées de rivière (SLRS-4, SLRS-5, TMRAIN). La valeur de justesse est basée sur la comparaison entre la moyenne des valeurs mesurées lors des différentes analyses et la valeur certifiée.

2.3.4.3. Contrôle qualité

Des eaux certifiées SLRS 4, SLRS 5 et LGC sont analysées à l'ICP-MS en même temps que les échantillons de manière à vérifier la justesse et la reproductibilité de l'analyse. Les valeurs mesurées lors de 4 séries de mesures par ICP-MS peuvent être comparées aux valeurs certifiées (Figure 8).

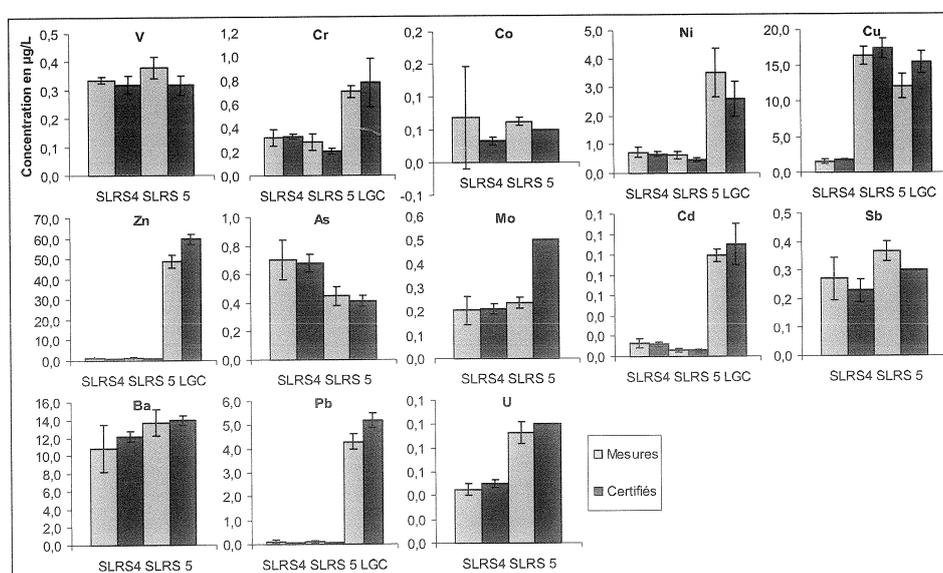


Figure 8: Comparaison entre les concentrations dissoutes des eaux certifiées et celles mesurées

Les valeurs mesurées avec leur écart type sont comprises dans la gamme des valeurs certifiées à 25% près correspondant aux écart-types, sauf pour Co qui a tendance à être légèrement surestimé et qui a un écart type important. Molybdène est sous-estimé pour SLRS 5 à 53%. Cependant, une calibration interne au laboratoire EPOC tendrait à démontrer que la certification pour cet élément n'est pas la bonne d'autant plus que la valeur mesurée pour SLRS 4 correspond à la valeur certifiée.

De plus, des sédiments certifiés NCS DC 70311 et NCS DC 70317 ont été attaqués puis analysés de la même façon que les échantillons lors de 2 séries de mesures par ICP-MS (Figure 9). Les valeurs mesurées avec leur écart type sont comprises dans la gamme des valeurs certifiées à 25% près correspondant aux écart-types. Ainsi, les analyses menées dans le cadre de cette étude montrent des concentrations comparables aux valeurs certifiées, ce qui valide notre technique analytique.

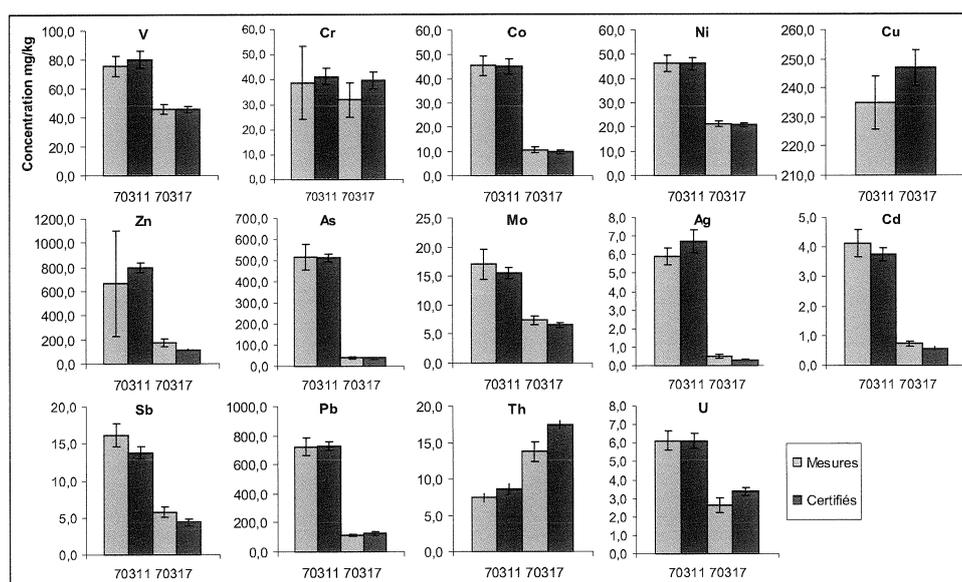


Figure 9: Comparaison entre les concentrations particulières des sédiments certifiées et celles mesurées

2.3.5. Dosage du mercure particulaire par DMA

Pour le dosage du mercure, le DMA-80 (Direct Mercury Analyzer) de Milestone est utilisé. L'échantillon broyé est pesé dans une nacelle en nickel puis introduit dans le passeur automatique. Il est envoyé dans un premier four dans lequel il est séché puis décomposé thermiquement à 1160°C sous flux d'oxygène. Les produits de combustion sont éliminés puis une décomposition plus poussée est opérée dans un deuxième four à 2680°C contenant un lit catalyseur chaud. Les vapeurs de mercure sont piégées sur un amalgame en or puis désorbées pour la mesure par spectrométrie d'absorption à 254 nm [Castelle *et al.*, 2007].

J'ai choisi, pour mes analyses, d'utiliser le sédiment certifié LGC 6187 qui est une référence internationale certifiée à 1400 +/- 100 µg/kg. La moyenne obtenue pour mes analyses est de 1222 +/- 63 µg/kg démontrant une justesse de 87 %.

3. Résultats et discussion

3.1. Qualité géochimique des eaux du lac urbain

La distribution statistique des concentrations en métaux dissous mesurées dans le lac de Bordeaux Lac montre que l'essentiel des éléments ont une faible gamme de concentrations, excepté pour Pb (Figure 10). En effet, les rapports entre les écart-types sur les moyennes permettent de classer les éléments selon la séquence de variabilité spatiale suivante : $0.5\% < Mo < Sb < As < V < U < Co < Ni < Ba < Cu < Cr < 10\% < 50\% < Zn < Th < 70\% < Pb = 129\%$. Un point de prélèvement (lac 11 ; Figure 5) explique à lui seul la forte variabilité de Pb dissous ; ce point peut être lié à une pollution très ponctuelle. Pour Ag et Cd, les valeurs mesurées sont inférieures à la limite de détection calculée à partir des valeurs trouvées pour les blancs.

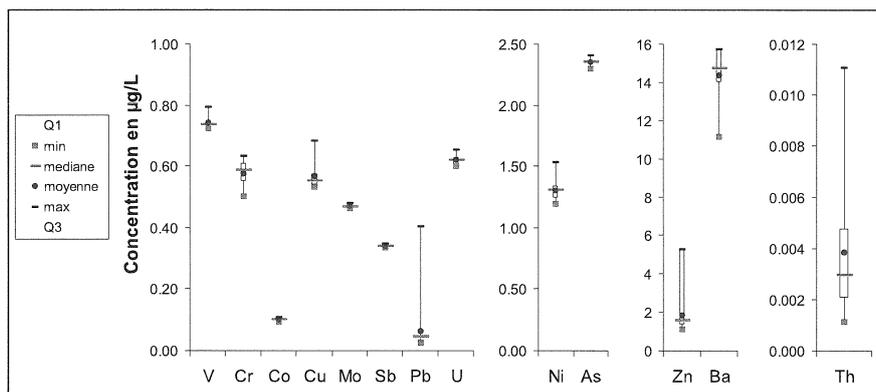


Figure 10: Distribution statistique des concentrations dissoutes dans le lac de Bordeaux-Lac

Etant donnée la faible variabilité des concentrations, il est possible d'utiliser la moyenne des concentrations sur le lac pour comparer avec des références mondiales et régionales afin d'évaluer si les niveaux sont élevés et présentent des anomalies. Nous avons choisi d'utiliser les valeurs moyennes mesurées sur le bassin de la Garonne déterminées à partir du réseau d'observation géochimique de l'équipe TGM ainsi que les moyennes mondiales déterminées par *Viers et al.*, [2009] calculées à partir d'une base de données sur les grands fleuves mondiaux (Tableau 1).

Tableau 1: Comparaison des concentrations dissoutes mesurées dans le lac avec des valeurs mondiales et régionales

Eléments En ng/L	Bordeaux Lac 03/2012	Garonne régionales	
		[Masson et al., 2006; Lanceleur et al., 2011] Données non publiées	Valeur moyenne mondiale [Viers et al., 2009]
Ag	0,9 = LD	4	-
As	2349	2140	620
Cd	< 6,4 = LD	52	80
Zn	1819	5900	600
Cu	566	1350	1480
Pb	60	179	80
V	739	1030	710
Cr	575	349	700
Co	98	133	150
Ni	1301	498	800
Mo	468	285	420
Sb	338	256	70
Ba	14311	-	23000
Th	3,8	11	40
U	618	643	370

La comparaison montre des valeurs comparables à l'échelle régionale et/ou mondiale pour la plupart des éléments, exceptés pour Cd, Cu et Ag qui présentent des valeurs plus faibles dans le lac de Bordeaux-Lac. Notons que As, Sb et Zn ont des valeurs très élevées par rapport à la moyenne mondiale mais restent comparables à celles mesurées dans les eaux de la Garonne ; cela peut provenir d'un bruit de fond régional plus élevé et/ou à une légère contamination à l'échelle régionale.

Ces valeurs peuvent également être comparées au système d'évaluation de la qualité des eaux (SEQ-Eau) dont les valeurs sont en annexe IV. Il ressort que la qualité de l'eau dans le Lac est plutôt bonne avec un classement « bleu » ou « vert » pour tous les échantillons en Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd et Pb sauf pour Zn au point 8 (club de voile) (Figure 5).

3.2. Qualité géochimique des sédiments de surface du lac urbain

3.2.1. Caractéristiques sédimentologiques des sédiments

Les analyses granulométriques réalisés sur nos sédiments montrent que ces derniers présentent une forte variabilité spatiale. Les sédiments sont soit à dominante argile-silt avec des médianes granulométriques d'environ 20 μm ou bien ils correspondent à des sables moyens et grossiers avec des médianes granulométriques entre 350 et 400 μm . Une telle hétérogénéité dans la granularité aura probablement des conséquences sur la répartition spatiale des teneurs en métaux particuliers.

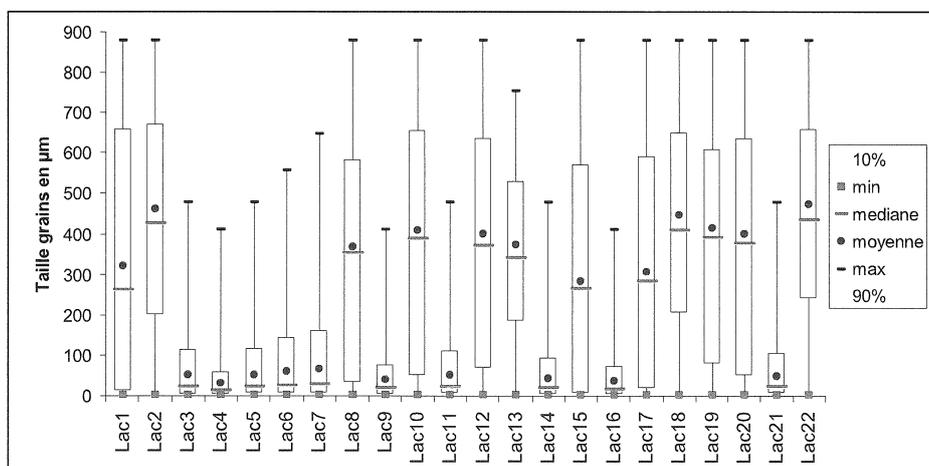


Figure 11: Distribution statistique des résultats granulométriques

3.2.2. Teneurs en éléments métalliques dans les sédiments

La distribution statistique des teneurs en COP et des concentrations en métaux particuliers mesurées dans le lac de Bordeaux Lac montre que les gammes de concentrations sont plus importantes pour le particulaire que pour le dissous (Figure 12). En effet, les rapports entre les écart-types sur les moyennes permettent de classer les éléments selon la séquence de variabilité spatiale suivante : $75\% < \text{U} < \text{Th} < \text{Co} < \text{As} < \text{Sb} < \text{V} < \text{Cr} < \text{Ni} < \text{COP} < \text{Mo} < \text{Zn} < 100\% < \text{Cu} < \text{Pb} < \text{Hg} < 120\% < 140\% < \text{Cd} < \text{Ag}$. Ces fortes variabilités en particulier pour Th qui est un élément détritique sont dues à la granularité d'où la nécessité de normaliser par rapport à Th pour s'affranchir des différences de capacité d'absorption des métaux par les grains et pouvoir comparer les différents échantillons. Les sédiments sableux identifiés (Figure 11) ont une teneur en COP $< 0.75\%$. Pour les autres sédiments, la teneur en COP est comprise entre 1

et 11 %. La matière organique, ayant une affinité plus ou moins prononcée pour certains métaux, peut également influencer la distribution spatiale des concentrations en métaux particuliers.

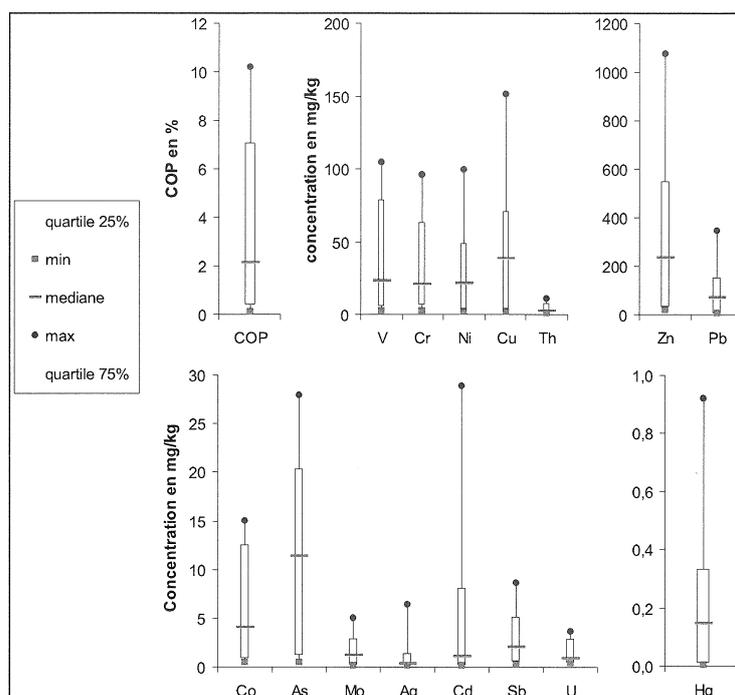


Figure 12: Distribution statistique des concentrations particulières dans le lac de Bordeaux Lac

Les moyennes et les concentrations maximales obtenues sont comparées avec des références mondiales et régionales afin d'évaluer si les niveaux sont élevés et présentent des anomalies. Nous avons choisi d'utiliser les valeurs moyennes mesurées sur la Garonne, les moyennes mondiales déterminées par *Viers et al.* [2009] et les valeurs de la croûte terrestre supérieure UCC déterminées par *Wedepohl* [1995]. Les résultats sont aussi comparés avec les valeurs de TEC et PEC qui permettent d'évaluer l'effet des concentrations sur les organismes aquatiques. Le TEC correspond à la valeur limite en dessous de laquelle aucun effet n'est observé et le PEC correspond à la concentration probable à laquelle les effets sont observables [*MacDonald et al.*, 2000].

Tableau 2: Comparaison des concentrations particulières mesurées dans le lac avec des valeurs régionales, mondiales et avec des indices ecotoxicologiques (TEC et PEC)

Eléments En µg/g	Bordeaux Lac 29/03/2012 moyennes	Bordeaux Lac 01/03/2012 Valeurs maximales	Garonne [<i>Masson et al.</i> , 2006] Moyennes 2006-2011 non publiées	UCC [<i>Wedepohl</i> , 1995]	Valeur moyenne mondiale [<i>Viers et al.</i> , 2009]	TEC/PEC [<i>MacDonald et al.</i> , 2000]
Ag	1,1	6,3	0,8			
As	11,5	27,9	25,3	2	36,3	9,79/33
Cd	4,9	28,8	4,01	0,102	1,55	0,99/4,98
Zn	331	1072	636	52	208	121/459
Cu	44,8	151	81	14,3	75,9	31,6/149
Pb	82,9	344	86	17	61,1	35,6/128
V	41,1	105	103,7	53	129	
Cr	36	95,5	104,9	35	130	43,3/111
Co	6,75	14,9	14,5	11,6	22,5	
Ni	28,4	99	61	18,6	74,5	-/48,6
Mo	1,69	5	5	1,4	2,98	
Sb	2,94	8,6	3,6	0,31	2,19	
Th	4,27	10,3	11	10,3	12,1	
U	1,61	3,6	2,4	2,5	3,3	

Les valeurs moyennes sur le lac de Bordeaux-Lac sont comparables à l'échelle régionale et/ou mondiale pour la plupart des éléments et sont comprises entre le TEC et le PEC mais ces moyennes sont effectuées sur des échantillons ayant des matrices et des concentrations très hétérogènes suggérant que cette comparaison n'est peut être pas très fiable. Cependant, les valeurs maximales ont tendance à être élevées pour Ag, Cd, Zn, Pb et Ni en particulier ; ces valeurs sont d'ailleurs supérieures au PEC.

Les concentrations ont aussi été comparées aux valeurs du Système d'Evaluation de la Qualité des Eaux (annexe 35IV). Les sédiments du lac de Bordeaux sont classés « vert » sur la plupart du lac mais au niveau du rejet de la Lyonnaise des eaux (points 1 à 7, 9 et 11, Figure 5) ils sont classés « jaune » pour Cr, Cu et As et orange pour Ni, Zn, Cd et Pb.

3.2.3. Coefficient de partage entre phases particulaire et dissoute

Le coefficient de partage représente la fraction du métal en phase particulaire par rapport à la fraction en phase dissoute. Ainsi, plus il est élevé, plus le métal a tendance à se trouver en phase particulaire (Figure 13).

$$\log K_d = \log \frac{1000 \times M_{\text{part}} (\text{mg/kg})}{M_{\text{dis}} (\mu\text{g/L})}$$

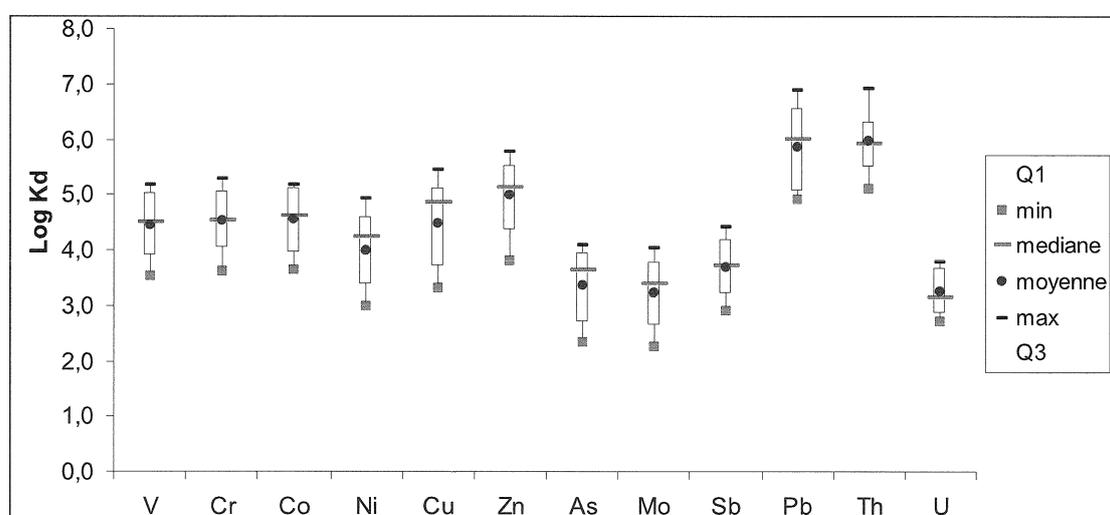


Figure 13: Coefficient de partage entre la phase particulaire et la phase dissoute

Les résultats montrent que Th et Pb ont les logKd les plus élevés. Ils sont donc plutôt sous forme particulaire. Ceci s'explique par leur origine lithogénique. A l'inverse, As, Mo, Sb et U ont plutôt tendance à se retrouver en phase dissoute. Les logKd sont comparables aux valeurs obtenues sur le réseau d'observation du bassin de la Gironde [Audry et al., 2004b] et dans le Fleuve Rouge à son exutoire [Dang, 2011]. Seuls V, Cr, Ni, As et Th montrent un logKd légèrement plus faible (0,5 à 1 unité) que dans le Fleuve Rouge. Cette particularité à être en phase dissoute ou particulaire dépend de la mobilité des métaux et des propriétés physicochimiques du milieu aquatique. Les propriétés physicochimiques du lac de Bordeaux-Lac ont donc légèrement tendance à mobiliser les métaux en phase dissoute mais ceci est très minime.

3.2.4. Spéciation solide des métaux

Ceci nous amène à étudier la spéciation solide des métaux effectuée à l'aide d'attaques sélectives au H₂O₂ et HCl parallèlement. Nous avons choisi de présenter les résultats des 2

extractions pour les éléments présentant une forte variabilité spatiale et identifiés comme traceurs urbains ainsi que pour Th.

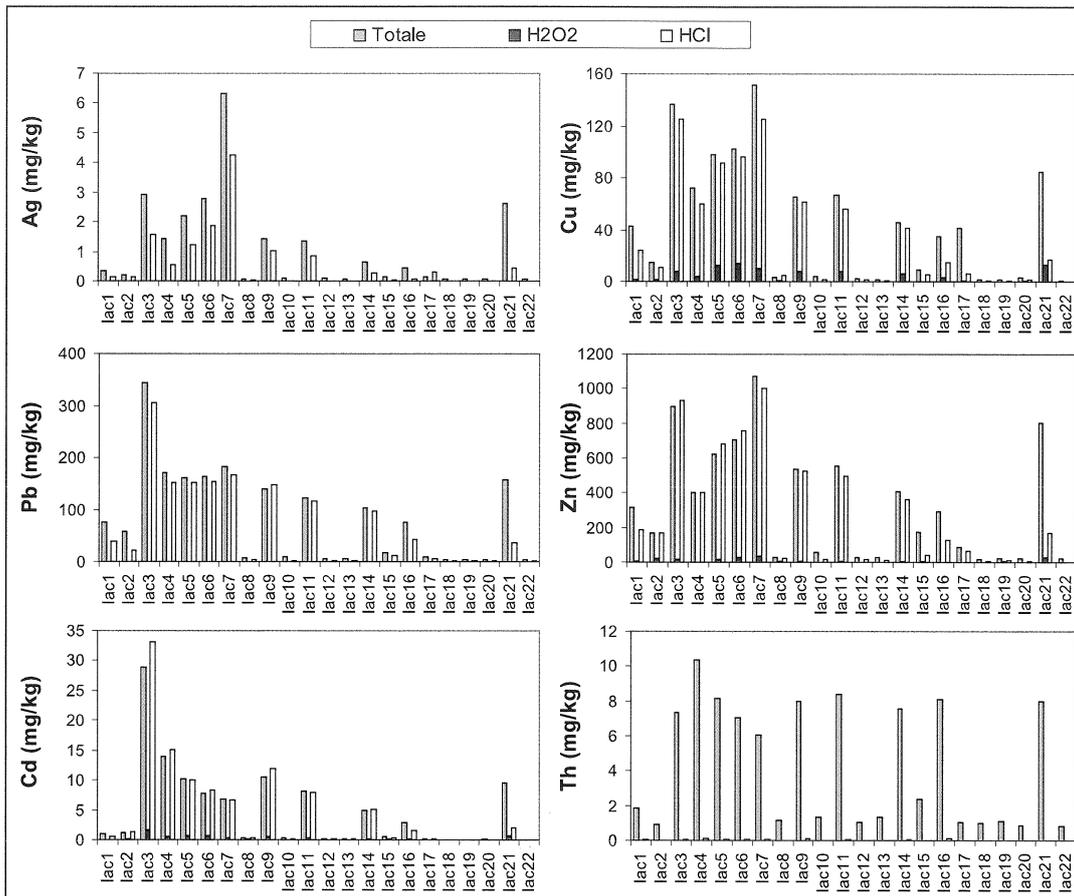


Figure 14: Comparaison de l'attaque totale et des attaques sélectives sur les sédiments Bordeaux Lac

L'attaque au HCl extrait une part très importante des métaux particulaires, entre 70 et 100% pour Cu, Pb, Zn et Cd et 30 à 70% pour Ag. Ceci suggère une forte biodisponibilité des métaux. Ainsi, pour tout changement physicochimique, il y a possibilité de désorption de ces métaux fortement mobile et à fortiori de contamination de l'eau et des organismes. A l'inverse, Th est contenu dans la phase résiduelle et est très peu mobile.

L'attaque au H₂O₂, censée extraire les métaux associés à la matière organique, extrait une très faible fraction, 10 à 15% pour Cu, Zn et Cd, pour les échantillons à forte teneur en COP. La MO ne serait donc pas une phase porteuse significative.

3.2.5. Facteur d'enrichissement en métaux dans les sédiments

Développés pour estimer les apports anthropiques en métaux, les facteurs d'enrichissement (FE) permettent d'estimer la contribution d'une fraction métallique par rapport à une autre (anthropique/totale par exemple). Les FE reposent sur le choix du matériel de référence et d'un élément normalisant permettant de s'affranchir de l'artefact lié à la granularité des sédiments. Les contaminants métalliques s'adsorbent préférentiellement sur les particules présentant les surfaces spécifiques les plus importantes i.e les argiles et silts. Le choix de l'élément normalisant doit répondre à 2 critères :

- il ne doit pas être influencé par les processus d'adsorption/désorption, d'oxydo-réduction ou de diagénèse dans les sédiments.

- il ne doit pas présenter d'apports anthropiques modifiant sa distribution dans le milieu [Loring et Rantala, 1992].

L'élément Th répond à ces critères car il est décrit comme peu soluble et très faiblement réactif. De plus, nous avons démontré dans cette étude qu'il n'était pas extrait par HCl ou H₂O₂. Il est contenu à plus de 99% dans la matrice cristalline des particules. Ces résultats nous permettent de valider Th comme élément normalisant.

L'évaluation des FE en métaux nécessite de connaître la part naturelle des ETM retrouvé dans le milieu. Les concentrations dans la croûte continentale terrestre (UCC, [Wedepohl, 1995]) sont couramment utilisées mais ne tiennent pas compte ni des processus d'altération des roches conduisant à la formation d'un sol, ni des spécificités locales (anomalies naturelles liées à la géologie). Notre choix s'est finalement porté sur l'échantillon 19 qui semble être le moins contaminé du lac. En effet, les teneurs en métaux totaux après normalisation par Th sont les plus faibles sur tout le lac et le moins touché par les contributions anthropiques d'après les résultats des attaques sélectives qui ont extrait très peu de métaux. Cet échantillon sera donc utilisé en tant que référence pour le calcul du facteur d'enrichissement

$$EF = \frac{(M/Th)_{ech}}{(M/Th)_{19}}$$

Il est possible ensuite de caractériser nos échantillons en considérant que pour

FE < 1.5 : Pas d'enrichissement

1.5 < FE < 3 : Enrichissement mineur

3 < FE < 5 : Enrichissement modéré

5 < FE < 10 : Enrichissement fort

FE > 10 : Enrichissement sévère [Roussiez et al., 2006]

Cuivre, Cd et Pb présentent des facteurs d'enrichissements forts à sévères sur la majorité du lac, 9, 14 et 5 respectivement, en moyenne sur le lac. Argent montre lui un enrichissement modéré, FE=5 en moyenne. Les contaminations les plus importantes sont situées au niveau du rejet de la Lyonnaise des eaux (points 1 à 7, Figure 5). Une contamination en Cu importante (FE = 34) est présente au niveau du rejet de voirie (point 17, Figure 5). Finalement, la plus grosse contamination semble provenir du rejet de la station de traitement, puis des rejets de voiries pour Cu. A l'inverse, les rejets du parc des expositions ne semblent pas engendrer de contamination dans le lac.

Cette première étude a permis de montrer que les sédiments du lac de Bordeaux présentent donc des teneurs élevées en Ag, Cd, Zn, Pb, Ni, Cr, Cu et As. La teneur en As étant peut être due à un bruit de fond régional élevé et/ou une légère contamination à l'échelle régionale. Il est donc nécessaire de prendre des mesures de gestion pour limiter les rejets de la Lyonnaise des eaux et améliorer la qualité des sédiments, d'autant plus que le lac est ouvert à la baignade.

3.3. Enregistrement historique des contaminations métalliques

3.3.1. Qualité géochimique des sédiments

A l'ouverture, la carotte de la Jalle de Blanquefort présentait deux unités sédimentologiques : la première unité (surface à 50 cm) est composée de sable avec présence de matière organique et correspond à l'époque plus récente. La seconde unité (50 à 492 cm) semble homogène avec un niveau d'argile bleue connue dans la région comme étant liée à la transgression flandrienne. La transgression flandrienne correspond à une spectaculaire remontée postglaciaire du niveau marin amorcée il y a plus de huit mille ans et qui a initié la

formation des estuaires. Après le remodelage du littoral, la sédimentation d'origine marine et l'accumulation des alluvions d'origine fluviales ont comblé les basses vallées. La stabilisation du niveau marin s'est faite il y a environ 3000 ans [Alard, 2008]

La carotte a été échantillonnée tous les 5 cm dans la 1^{ère} unité sédimentologique puis tous les 10 cm dans la seconde du fait de son homogénéité.

Dans un premier temps, l'ensemble des résultats a été synthétisé dans le

Tableau 3. La distribution statistique des teneurs en métaux particuliers mesurées le long de la carotte de la Jalle de Blanquefort montre une forte variabilité temporelle, d'autant plus marquée pour Ag et Cd. En effet, les rapports entre les écart-types sur les moyennes permettent de classer les éléments selon la séquence de variabilité suivante : Ni<V<Cr<Sr<As<Co<Sb<Sn<Ba<U< 50%<Cu<Mo<Pb<Zn<100%<Cd<Ag.

D'après les valeurs du Système d'Evaluation de la Qualité des Eaux (Annexe IV), la carotte est classée orange pour Cr et Ni, jaune pour Zn et As et verte pour Cu et Cd et entre verte et jaune pour Pb.

Tableau 3 : Niveaux de concentrations mesurés sur la carotte sur la Jalle de Blanquefort et facteurs d'enrichissement

En µg/g	V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Pb	Th	U
quartile 25%	117,6	99,2	14,8	44,1	25,7	198,4	19,2	119,8	1	0,5	0,4	4,1	1,8	359,4	31,4	12,2	2,6
min	6,6	6,1	2,2	2,9	4,8	97,2	1,7	15,9	0,1	0,3	0,1	0,2	0,3	115,8	8,7	1,4	0,6
mediane	137,4	113,1	17	49,8	26,9	215,9	22,1	130	1,2	0,5	0,5	4,6	2	414,5	34	14,1	2,8
max	150,8	125	22,1	54,8	101,1	329,4	36,6	173	3,9	4,7	2,1	5,2	3,9	490,3	67,7	16,7	3,5
quartile 75%	143,7	120,3	17,8	51,3	28	232,9	27,6	135,7	1,4	0,6	0,5	4,8	2,2	444,2	35,6	15,1	3
ecart type	45,5	36,8	4,5	15,5	17,9	46,7	9,4	42	0,7	1	0,4	1,2	0,7	104,8	12,2	4,6	0,7
moyenne	116,7	97,9	15,7	42,5	29,5	217,1	22,1	116,8	1,3	0,8	0,6	4,2	2	381,4	35,5	12,2	2,6
% variation normalisation Th	18	22,3	30,1	13,2	59	94,8	27,9	25,8	63,1	148,1	109,6	41,5	40,4	48,6	71,2	/	49,1
FE	0,7	1	1,5	0,9	2,4	3,6	1	1,4	2,1	10,9	5,5	1,5	1,9	2,1	3,4	0,3	2,3

Dans un second temps, nous avons analysé l'évolution temporelle des concentrations dans les sédiments ainsi que les concentrations normalisées par Th pour tenir compte de l'hétérogénéité granulométrique observée avec la médiane granulométrique (alternance d'argile et de sable dans la première unité et argile homogène dans la seconde) (Figure 15). En raison de cette homogénéité nous n'avons représenté nos résultats que jusqu'à 150 cm de profondeur. La teneur en eau et la médiane granulométrie ont des tendances opposées dans la première unité puis les valeurs se stabilisent dans la deuxième unité. En effet, les argiles ont un pouvoir de rétention des eaux plus important que les sables. La photographie de la carotte et l'image RX montrent cette homogénéité dans la seconde unité et les variations de composition dans la première.

Comme nous l'avons démontré précédemment, la normalisation par Th permet de s'affranchir de l'hétérogénéité granulométrique. Elle permet de mettre clairement en évidence que la première unité est caractérisée par des fortes teneurs avec des pics de contaminations tandis que la seconde est représentée par une ligne de base avec des rapports élémentaires Ag/Th=0.04, Cd/Th=0.03, Cu/Th=1.9, Pb/Th=2.4 et Zn/Th=16 avec Th= 14 mg/kg, correspondant au bruit de fond géochimique du bassin versant de la Jalle de Blanquefort. L'augmentation des concentrations dans la première unité met en évidence l'impact des activités humaines. Les sédiments les plus superficiels semblent être caractérisés par une diminution de la contamination. Cette évolution récente est similaire à celle rapportée pour le bassin versant du Lot (Figure 2).

Pour Pb, Cu et Ag, deux pics de contamination coïncident à 10 cm (EF = 4.5, 3.5 et 18.5 respectivement) et à 40 cm (EF = 4.5, 4 et 21 respectivement). Pour Zn, une légère augmentation est observée à 40 cm (EF = 3.5) et un pic plus important à 20 cm (EF = 10).

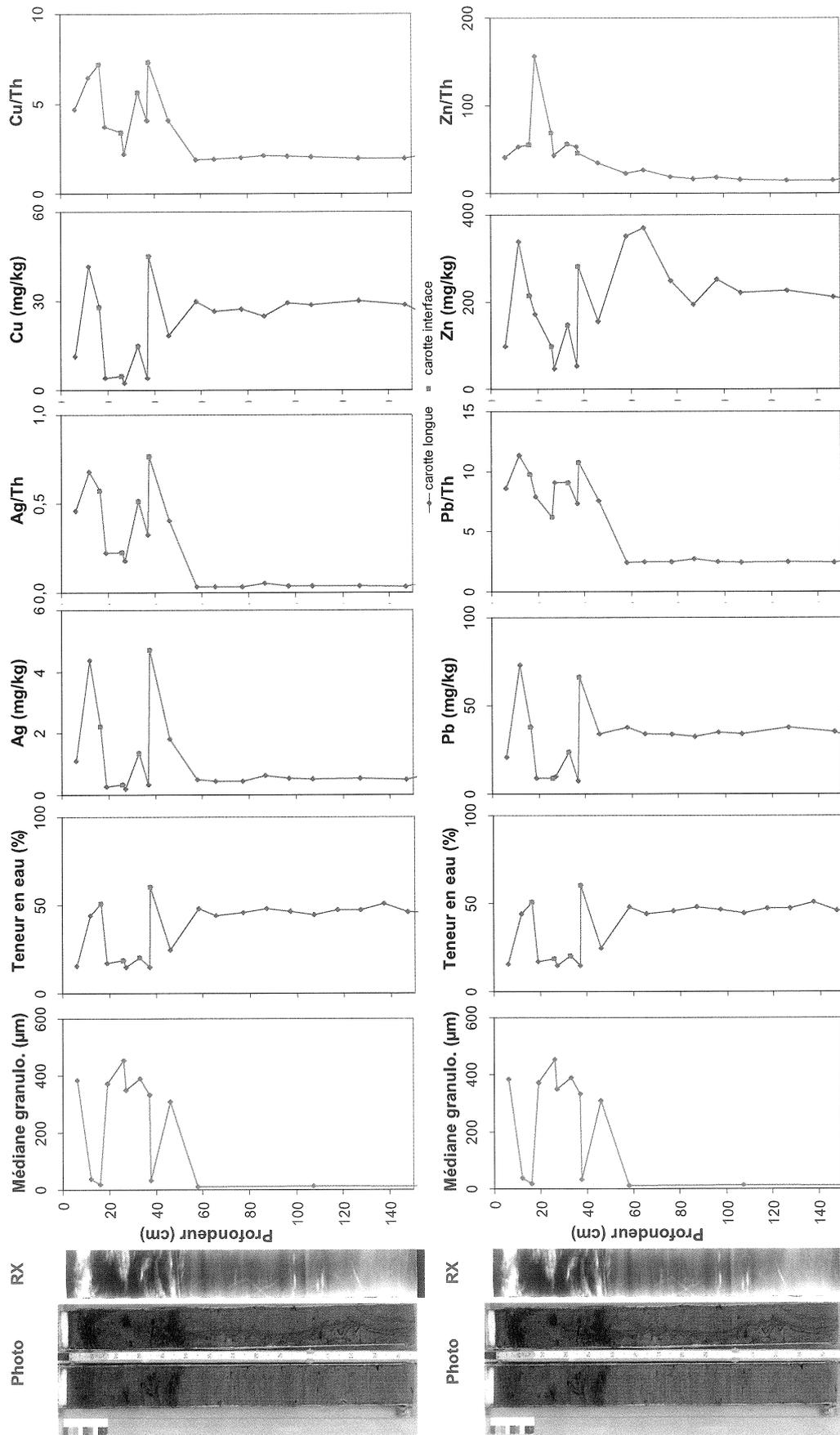


Figure 15: Profil sédimentologique et des teneurs en métaux dans la carotte sur la Jalle de Blanquefort

3.3.2. Sources potentielles des contaminations

La carotte n'ayant pas encore été datée, on ne peut, pour l'instant, qu'émettre des hypothèses quant à l'origine des contaminations.

Des études portant sur l'hydrosystème de la Seine ont montré que les quatre métaux présentés sont des traceurs urbains et sont présents dans les rejets de station de traitement de l'eau [Buzier *et al.*, 2011]. La canalisation des eaux usées a débuté au milieu du XIX^{ème} siècle et ces eaux n'ont été traitées qu'à partir du XX^{ème}. Cette période peut donc engendrer le premier pic de contamination pour tous les métaux.

Les sources anthropiques en Ag peuvent être l'extraction minière, la photographie argentique, les ruissellements urbains, les rejets des usines de traitement d'eau... A notre connaissance, l'extraction minière n'étant pas présente sur le bassin de la Jalle de Blanquefort, la photographie pourrait être la source principale jusqu'en 2007 [Lanceleur *et al.*, 2011]. Le profil des teneurs en Ag dans les huîtres semble fortement corrélé avec la production de films photographiques (Figure 16). Le second pic en Ag dans la carotte sur la Jalle de Blanquefort pourrait aussi être corrélé à cette période de production de films argentiques.

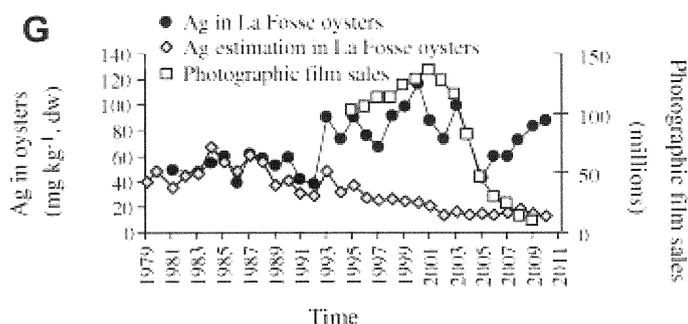


Figure 16: Comparaison de l'évolution de la concentration en Ag dans les huîtres avec la vente de films photographiques [Lanceleur *et al.*, 2011b]

Dans la région de Bordeaux, les sources anthropiques en Cu sont principalement agricoles (présence de cuivre dans les engrais et surtout dans la bouillie bordelaise) [Masson *et al.*, 2006]. Le second pic observé pour Cu pourrait donc provenir de cette activité agricole dont la réglementation sur les pesticides a permis de diminuer cette contamination.

Dans les milieux urbains, les principales sources anthropiques de Pb sont l'essence et les rejets industriels [Alfonso, 2000]. L'évolution de la quantité de plomb dans l'essence est marquée par plusieurs événements :

- 1920 : Début de l'essence avec Pb
- 1980 : Réduction de la quantité de Pb dans l'essence
- 1990 : Apparition de l'essence sans Pb
- 2000 : Interdiction de l'essence avec Pb.

L'essence avec plomb pourrait donc être la source correspondant au second pic observé pour Pb.

Les points aux environs de 30 cm et 40 cm de profondeur correspondant à des minima et observés pour tous les métaux représentent peut être les deux guerres mondiales pendant lesquelles la production industrielle et l'agriculture était ralenties voire stoppées. Ensuite, la reprise de l'activité pourrait engendrer les réaugmentations assez brutales observées.

Pour finir, nous pouvons à présent comparer les deux études réalisées sur le lac de Bordeaux-Lac et la Jalle de Blanquefort. Tout d'abord, l'échantillon 19 pour le lac et la ligne de base de la seconde unité sédimentologique pour la Jalle de Blanquefort définissent des bruits de fond géochimiques comparables avec celui de Audry [2003] (Tableau 4). Une teneur

plus élevée en Zn se retrouve dans nos deux systèmes et semblerait donc montrer un bruit de fond géochimique local différent de celui dans la Garonne. Cette comparaison permet de valider l'utilisation de l'échantillon 19 en tant que référence pour les calculs du facteur d'enrichissement.

Tableau 4 : Comparaison des bruits de fond géochimiques dans le lac de Bordeaux-Lac, la carotte sur la Jalle de Blanquefort et le bruit de fond géochimique dans la Garonne

Eléments M/Th	Bordeaux Lac 01/03/2012	Jalle de Blanquefort 28/03/2012	Garonne, Marcenac [Audry, 2003]
Ag	0,05	0,04	
Cd	0,06	0,03	0,06
Zn	20	16	8,1
Cu	1,2	1,9	1,7
Pb	3,3	2,4	3,1

Enfin, les teneurs en Ag obtenues dans les sédiments de surface du lac et de la carotte peuvent être comparées à l'étude effectuée sur les sédiments de surface de la Jalle de Blanquefort (Figure 4). En surface de la carotte, la teneur en Ag est 6.6 mg/kg, dans le lac de Bordeaux-Lac, les teneurs varient de 0.05 à 6.3 mg/kg, et les concentrations obtenues par Zhao [2011] sont supérieures à 5 mg/kg. Les teneurs obtenues dans notre étude sont donc du même ordre de grandeur que celles obtenues par Zhao [2011].

4. Conclusions et perspectives

Dans le cadre du projet ETIAGE et de la DCE, cette étude s'intéressait à l'impact des activités urbaines de l'agglomération bordelaise sur la qualité biogéochimique des hydrosystèmes.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la contamination actuelle des eaux et sédiments de surface dans le Lac de Bordeaux-Lac. Il en ressort que les eaux du lac respectent les normes de qualité et ne présentent pas d'anomalies. Ceci est donc en accord et confirme les analyses effectuées par la ville de Bordeaux afin d'ouvrir la zone de baignade. Néanmoins, les sédiments sont concentrés en polluants et présentent des anomalies au niveau des rejets de la station de traitement et des rejets de voiries en particulier. De plus, la spéciation des métaux, c'est-à-dire les phases porteuses, conditionne leur toxicité et leur mobilité dans l'environnement. Nous avons montré que Cd, Pb, Zn et Cu sont extraits à plus de 70% par HCl et Ag à plus de 30% ; ces métaux sont donc fortement biodisponibles. Ceci implique qu'un changement des conditions physico-chimiques du lac ou un dragage du lac, par exemple, pourrait remobiliser ces métaux dans la phase dissoute. Les perspectives afin d'améliorer notre connaissance sur la contamination actuelle dans les eaux et sédiments de surface de l'agglomération bordelaise seraient l'analyse des eaux et MES des rejets de la station de traitement et la généralisation de cette étude sur d'autres lacs urbains tel que le Lac Bourran, situé dans la partie ouest de Bordeaux.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'évolution temporelle des pressions anthropiques sur les rivières drainant l'agglomération bordelaise. Ne possédant pas de chronique de MES, nous avons donc réalisé des carottages sédimentaires. La carotte sur la Jalle de Blanquefort a permis d'analyser l'évolution temporelle des teneurs en métaux. La stabilité du signal obtenu pour la seconde unité sédimentologique a permis de définir un bruit de fond géochimique du bassin versant. Ce bruit de fond géochimique a été utilisé pour calculer des facteurs d'enrichissement et d'identifier de fortes anomalies en Ag et Cd, EF = 10.9 et 5.5 respectivement. Des teneurs assez élevées en Zn, Pb et Cu ont aussi été identifiées. Ces contaminations semblent montrer deux pics, excepté pour Zn, qui peuvent être associés à des sources différentes. Les sources potentielles de contamination pourraient être le rejet de la station de traitement, la photographie argentique pour Ag, l'agriculture pour Cu et l'essence avec plomb pour Pb. Néanmoins, nous avons montré que les concentrations sont en phase de diminution en surface grâce aux normes de rejets dans l'environnement et aux mesures de plus en plus nombreuses de protection de l'environnement. Dans le but d'améliorer notre connaissance et notre interprétation de cet historique des pressions urbaines, il serait intéressant de doser le mercure afin de voir si l'on retrouve les mêmes pics de contaminations. Une analyse XRF de la carotte permettrait une analyse continue et confirmerait les pics de contamination voir identifierait des pics supplémentaires. L'XRF est une technique permettant de mesurer la variation de la proportion des éléments chimiques présents dans le sédiment par fluorescence X. Un nombre de coups par seconde est obtenu pour chaque élément et tout le long de la carotte. Cela permet donc une étude semi-quantitative, pour voir s'il y a des variations de concentrations importantes le long de la carotte. Il faut ensuite analyser quelques échantillons de la carotte par ICP-MS pour quantifier et corréler les résultats avec les coups par seconde correspondants pour avoir un résultat quantitatif. Une étude des facteurs de la diagenèse et des phases porteuses Fe et Mn permettrait de connaître la mobilité des métaux et d'expliquer les augmentations de concentrations plus ou moins brutales. De plus, une datation de la carotte permettrait de voir les activités présentes sur le bassin versant de la Jalle de Blanquefort aux périodes correspondant aux pics de contamination. Ensuite, pour tracer l'origine des métaux et confirmer les sources de contamination une étude des rapports isotopiques serait intéressante. Pour Pb, par exemple, les rapports isotopiques permettraient de différencier le Pb provenant de l'essence ou de

l'industrie. Enfin, cette carotte pourra être comparée avec les résultats de la seconde carotte sur l'Eau Bourde, représentant un autre bassin versant de l'agglomération bordelaise.

Le dernier objectif de cette étude est de s'intéresser à la contribution des apports atmosphériques par la mise en place d'un réseau d'observation sur l'agglomération bordelaise. Ce réseau sera composé de sites ruraux, permettant d'identifier un bruit de fond géochimique, de sites urbains pouvant ainsi caractériser la contribution du trafic routier, des installations de chauffage...et de sites industriels comprenant les incinérateurs d'ordures ménagères soupçonnés de rejetés des métaux. De plus, il serait intéressant de quantifier les apports atmosphériques au niveau du lac de Bordeaux-Lac, et des deux carottes effectuées.

Bibliographie

- * Abril G., S. A. Riou, H. Etcheber, M. Frankignoulle, R. de Wit, J. J. Middelburg (2000), Transient, Tidal Time-scale, Nitrogen Transformations in an Estuarine Turbidity Maximum—Fluid Mud System (The Gironde, South-west France), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 50, 703-715.
- * Alard D. (2008), Estuaires, Deltas et baies, *Zones Humides Infos*, 61.
- * Alfonso, S. (2000), Etude de Paléoenvironnements littoraux. Contribution à l'établissement d'une échelle chronostatigraphique à partir des retombées atmosphériques des métaux lourds, Thèse, Université Bordeaux 1, 260p.
- * Amiard J. C., C. Amiard-Triquet, B. Berthet, C. Metayer (1987), Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 106, 73-89.
- * Audry S. (2003), Bilan géochimique du transport des éléments traces métalliques dans le système fluvial anthropisé Lot-Garonne-Gironde, Thèse, Université Bordeaux, 1441p.
- * Audry S., G. Blanc, J. Schäfer (2004a), Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France) – temporal variability and a model for flux estimation, *Science of The Total Environment*, 319, 197-213.
- * Audry S., J. Schäfer, G. Blanc, C. Bossy, G. Lavaux (2004b), Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot-Garonne fluvial system (France), *Applied Geochemistry*, 19, 769-786.
- * Audry S., J. Schäfer, G. Blanc, J. M. Jouanneau (2004c), Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France), *Environ Pollut*, 132, 413-426.
- * Audry S., G. Blanc, J. Schäfer (2005), The impact of sulphide oxidation on dissolved metal (Cd, Zn, Cu, Cr, Co, Ni, U) inputs into the Lot-Garonne fluvial system (France), *Applied Geochemistry*, 20, 919-931.
- * Audry S., G. Blanc J. Schäfer (2006a), Solid state partitioning of trace metals in suspended particulate matter from a river system affected by smelting-waste drainage, *The Science of the Total Environment*, 363, 216-236.
- * Audry S., G. Blanc, J. Schäfer, G. Chaillou, S. Robert (2006b), Early diagenesis of trace metals (Cd, Cu, Co, Ni, U, Mo, and V) in the freshwater reaches of a macrotidal estuary, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 2264-2282.
- * Audry S., C. Grosbois, H. Bril, J. Schäfer, J. Kierczak, G. Blanc (2010), Post-depositional redistribution of trace metals in reservoir sediments of a mining/smelting-impacted watershed (the Lot River, SW France), *Applied Geochemistry*, 25, 778-794.
- * Baudrimont M., J. Schäfer, V. Marie, R. Maury-Brachet, C. Bossy, A. Boudou, G. Blanc (2005), Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Medoc salt marshes (Gironde estuary, France), *The Science of the Total Environment*, 337, 265-280.
- * Buzier R., M.H. Tusseau-Vuillemin, C. Martin dur Meriadec, O. Rousselot, J.M. Mouchel (2006), Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant: Impact of the successive treatments stages, *Chemosphere*, 65, 2419-2426.
- * Buzier R., M.H. Tusseau-Vuillemin, M. Keirsbulck, J.M. Mouchel (2011), Inputs of total and labile trace metals from waste water treatment plants effluents to the Seine River, *Physics and Chemistry of the Earth*, 36, 500-505.

- * Castelle S., J. Schäfer, G. Blanc, S. Audry, C. Bossy, J.P. Lissalde (2007), 50-year record and solid state speciation of mercury in natural and contaminated reservoir sediment, *Applied Geochemistry*, 22, 1359-1370.
- * Coynel A., J. Schäfer, G. Blanc, C. Bossy (2007a), Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals, *Applied Geochemistry*, 22, 821-836.
- * Coynel A., J. Schäfer, A. Dabrin, N. Girardot, G. Blanc (2007b), Groundwater contributions to metal transport in a small river affected by mining and smelting waste, *Water Research*, 41, 3420-3428.
- * Coynel A., G. Blanc, A. Marache, J. Schäfer, A. Dabrin, E. Maneux, C. Bossy, M. Masson, G. Lavaux (2009), Assessment of metal contamination in a small mining-affected watershed - high resolution monitoring coupled with spatial analysis by GIS, *Journal of Environmental Monitoring*, 11, 962-976.
- * Deycard V. (En cours), Etude des apports métalliques dans les eaux de la section Garonnaise de l'estuaire de la Gironde et réactivité et efficacité de rétention des éléments traces métalliques dans les stations d'épuration de Bordeaux, Thèse, Université Bordeaux 1.
- * Dabrin A., J. Schäfer, G. Blanc, E. Strady, M. Masson, C. Bossy, S. Castelle, N. Girardot, A. Coynel (2009), Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: application to the Gironde Estuary, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 84, 429-439.
- * Dang T.H. (2011), Erosion et Transferts de matières en suspension, carbone et métaux dans le bassin versant du fleuve Rouge depuis la frontière sino-vietnamienne jusqu'à l'entrée du delta, Thèse, Université Bordeaux 1, 309p.
- Doxaran D., J. M. Froidefond, P. Castaing, M. Babin (2009), Dynamics of the turbidity maximum zone in a macrotidal estuary (the Gironde, France): Observations from field and MODIS satellite data, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81, 321-332.
- * Förstner U., W. Salomons (2008), Trends and challenges in sediment research 2008: the role of sediments in river basin management, *J Soils Sediments*, 8, 281-283.
- * Garret G. G. (2000), Natural sources of metals to the environment, *Human & Ecological Risk Assessment*, 6, 945-963.
- * Hochella M. F., Jr. J. N. Moore, U. Golla, A. Putnis (1999), A TEM study of samples from acid mine drainage systems: Metal-mineral association with implications for transport, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63, 3395-3406.
- * Horowitz A. J. (2009), Monitoring suspended sediments and associated chemical constituents in urban environments: lessons from the city of Atlanta, Georgia, USA Water Quality Monitoring Program, *J Soils Sédiments*, 9, 342-363.
- * Korfali S. I., B. E. Davies (2004), Speciation of metals in sediment and water in a river underlain by limestone : role of carbonate species for purification capacity of rivers, *Advances in Environmental Research*, 8, 599-612.
- * Lancelleur L., J. Schäfer, C. Bossy, A. Coynel, A. Larrose, M. Masson, G. Blanc (2011a), Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale, *Applied Geochemistry*, 26, 797-808.
- * Lancelleur L., J. Schäfer, J.-F. Chiffolleau, G. Blanc, D. Auger, S. Renault, M. Baudrimont, S. Audry (2011b), Long-term records of cadmium and silver contamination in sediments and oysters from the Gironde fluvial-estuarine continuum – Evidence of changing silver sources, *Chemosphere*, 85, 1299-1305.
- * Lancelleur L., J. Schäfer, G. Blanc, A. Coynel, C. Bossy, M. Baudrimont, C. Glé, A. Larrose, S. Renault, E. Strady (Sous presse), Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary, *Environmental Science and Pollution Research*.

- * Larrose A., A. Coynel, J. Schäfer, G. Blanc, L. Massé, E. Maneux (2010), Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment, *Applied Geochemistry*, 25, 1912-1923.
- * Loring D. H., R. T. T. Rantala (1992), Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter, *Earth-Science Reviews*, 32, 235-283.
- * MacDonald D. D., C. G. Ingersoll, T. A. Berger (2000), Development and Evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39, 20-31.
- * Masson M., G. Blanc, J. Schäfer (2006), Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries, *The Science of the Total Environment*, 370, 133-146.
- * Meybeck M., L. Lestel, P. Bonté, R. Moilleron, J.R. Colin, O. Rousselot, D. Hervé, C. De Ponteves, C. Grosbois, D.R. Thévenot (2007), Historical perspective of heavy metals contamination (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) in the Seine river basin (France) following a DPSIR approach (1950-2005), *The Science of the Total Environment*, 375, 204-231.
- * Pascaud A. (2009), Contamination polymetallique intra-estuarienne de l'estuaire de la Gironde, Rapport de stage de M2, Université Bordeaux 1, 32p.
- * Pye K., S. J. Blott (2004), Particle size analysis of sediments, soils and related particulate materials for forensic purposes using laser granulometry, *Forensic Science International*, 144, 19-27.
- * Robert S., G. Blanc, J. Schäfer, G. Lavaux, G. Abril (2004), Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone, *Marine Chemistry*, 87, 1-13.
- * Roussiez V., W. Ludwig, A. Monaco, J.-L. Probst, L. Bouloubassi, R. Buscail, G. Saragoni (2006), Sources and sink of sediment-bound contaminants in the Gulf Of Lions (NW Mediterranean Sea) : A multi-tracer approach, *Continental Shelf Research*, 26, 1843-1857.
- * Salomons W. (1995), Environmental impact of metals derived from mining activities : Processes, predictions, prevention, *Journal of Geochemical Exploration*, 52, 5-23.
- * Schäfer J., G. Blanc (2002), Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France, *Science of The Total Environment*, 298, 103-108.
- * Schäfer J., G. Blanc, Y. Lapaquellerie, N. Maillet, E. Maneux, H. Etcheber (2002), Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium, *Marine Chemistry*, 79, 229-242.
- * Schäfer J., G. Blanc, S. Audry, D. Cossa, C. Bossy (2006), Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and antropogenic component, *Applied Geochemistry*, 21, 515-527.
- * Schäfer J., S. Norra, D. Klein, G. Blanc (2009), Mobility of trace metals associated with urban particles exposed to natural waters of various salinities from the Gironde estuary, France, *J Soils Sediments*, 9, 374-392.
- * Strady E., G. Blanc, J. Schäfer, A. Coynel, A. Dabrin (2009), Dissolved Uranium, Vanadium and Molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 83, 550-560.
- * Viers J., B. Dupre, J. Gaillardet (2009), Chemical composition of suspended sediments in World Rivers: New insights from a new database, *The Science of the Total Environment*, 407, 853-868.
- * Wedepohl K. H. (1995), The composition of the continental crust, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59, 1217-1232.

* Wu Z., M. He, C. Lin, Y. Fan (2010), Distribution and speciation of four heavy metals (Cd, Cr, Mn and Ni) in the surficial sediments from estuary in daliiao river and yingkou bay, *Environmental Earth Sciences*, 63, 163-175.

* Zhao X. (2011), Etat des lieux de la contamination metallique dans les bassins urbains de l'agglomération bordelaise: distribution spatiale, stratégie d'échantillonnage et mobilité, Rapport de stage de M2, Université Bordeaux 1, 39p.

Annexe 6

Impact de la dégradation de la matière organique des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Garonne.

Rapport de fin d'étude, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Rennes, 43 p.

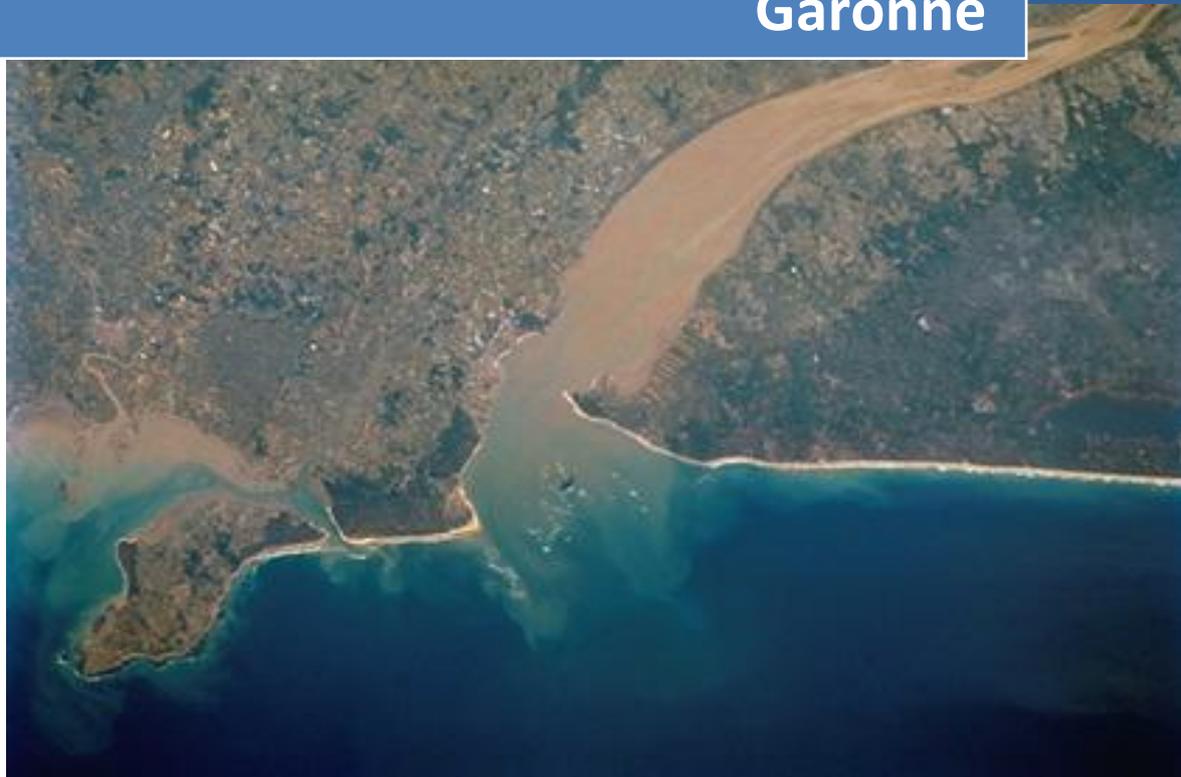
Coularis C. (2012).



Cindy Coularis

Elève ingénieur 3ème année

Impact de la dégradation de la matière organique des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Garonne



Période de stage : 1^{er} mars-31 août 2012

Présentation des résultats du 1^{er} mars au 15 juin 2012

UMR CNRS 5805 EPOC

Environnements et
Paléoenvironnements Océaniques et
Continents à Talence (33)

Maîtres de stage

Mr Henri Etcheber et Mlle Aurélie
Lanoux

Tuteur

Mr Nicolas Cimetière

Sommaire

Sommaire	1
Table des illustrations.....	2
Liste des abréviations.....	3
Glossaire.....	3
Avant-propos.....	1
Remerciements	1
Introduction.....	2
I. Synthèse bibliographique	3
1. Présentation de l'écosystème étudié.....	3
2. Zone de turbidité maximum.....	3
3. L'oxygénation des eaux.....	4
4. Les cycles biogéochimiques.....	5
II. Matériels et méthodes	7
1. Les stations d'épuration	7
2. Méthodes analytiques.....	7
3. Expérimentations	7
III. Résultats et discussion.....	11
1. Détermination des paramètres physico-chimiques des effluents	11
2. Effet du bouchon vaseux sur la dégradation du matériel organique des eaux de STEP : Méthode par incubation.....	13
3. Effet du bouchon vaseux sur l'oxygénation des eaux : Méthode de la respiration.....	17
IV. Conclusion	20
Références bibliographiques.....	21
V. Annexes	24
1. Politique HSE	24
2. AXE 1 du projet ETIAGE: Caractérisation et rôle respectif des apports organiques amont et locaux sur l'oxygénation des eaux de la Garonne estuarienne.....	26
3. La station d'épuration Clos de Hilde	30
4. Matériels et méthodes	32
5. Généralités sur les nitrates et les phosphates	39

Table des illustrations

Figure 1: Carte de l'estuaire de la Gironde	3
Figure 2: Phénomènes biogéochimiques dans la Garonne	4
Figure 3: Cycle de l'azote	6
Figure 4: Schémas des incubations sur les mélanges effluents/BV	9
Figure 5 : Descriptif d'une boîte à moustaches.....	11
Figure 6 : Graphiques représentant les paramètres physico-chimiques des eaux brutes et traitées de la STEP Clos de Hilde	11
Figure 7 : Evolution de la concentration du COD pendant les incubations des eaux brutes (a) et des eaux traitées (b)	13
Figure 8 : Evolution de la concentration du COP pendant les incubations des eaux brutes (a) et des eaux traitées (b)	14
Figure 9 : Evolution des concentrations en ammonium, nitrites et nitrates pendant l'incubation dans l'eau brute a), le mélange CHEB/BV 1g/L b) et le mélange CHEB/BV 3 g/L c)	15
Figure 10 : Evolution des concentrations en ammonium, nitrites et nitrates pendant l'incubation dans l'eau traitée a), le mélange CHET/BV 1g/L b) et le mélange CHET/BV 3 g/L	17
Figure 11 : Evolution de la respiration dans la Garonne et la Dordogne en fonction du temps.....	18
Figure 12 : Vitesse de consommation de l'oxygène en fonction du temps dans la Garonne et la Dordogne	18
Figure 13 : Vitesse de consommation de l'oxygène en fonction du pourcentage de bouchon vaseux dans le mélange effluent/BV.....	19
Figure 14 : Carte représentant la limite de la CUB (en gris) et la zone d'influence de la STEP (en rouge).	30
Figure 15 : Processus de traitement de l'eau et les différents points de prélèvements de CH	31
Figure 16 : Schéma de fonctionnement de l'analyseur Shimadzu	33
Figure 17 : Schéma de principe de l'analyse des ions ammonium.....	34
Figure 18 : Schéma de principe de l'analyse des nitrates	36
Tableau 1: Tableau récapitulatif des méthodes d'analyse utilisées.....	8
Tableau 2: Mélange eau traitée/bouchon vaseux réalisés lors de la 2ème expérimentation de respiration.....	10
Tableau 3 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du COD dans les eaux brutes et les eaux traitées après incubation	13
Tableau 4 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du NH_4^+ et des facteurs de croissance des NO_3^- dans les eaux brutes après incubation.....	16
Tableau 5 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du NH_4^+ et des facteurs de croissance des NO_3^- les eaux traitées après incubation	17
Tableau 6 : Traitements réalisés à la station d'épuration Clos de Hilde	30

Liste des abréviations

BV : Bouchon Vaseux
CH : Clos de Hilde
CHEB : Clos de Hilde Eau Brute
CHET : Clos de Hilde Eau Traitée
COD : Carbone Organique Dissous
COP : Carbone Organique Particulaire
CUB : Communauté Urbaine de Bordeaux
ETIAGE : ETude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuaire
MES : Matières En Suspension
MO : Matière Organique
NH₄⁺ : Ammonium
NO₂⁻ : Nitrites
NO₃⁻ : Nitrates
O₂D : Oxygène Dissous
PO₄³⁻ : Phosphates
STEP : STation d'EPuration
ZTM : Zone de Turbidité Maximum

Glossaire

Allochtone : Se dit d'une espèce animale ou végétale qui n'est pas originaire de la région où elle se trouve.

Anthropique : Dû à l'action de l'homme.

Autochtone : Qualifie ce qui habite en son lieu d'origine.

Etiage : correspond à la période de l'année où les débits d'un cours d'eau sont faibles

Hétérotrophe : Qualifie un être vivant qui ne peut fabriquer lui-même tous ses constituants et doit, de ce fait, utiliser des matières organiques exogènes.

Hypoxie : L'hypoxie des eaux douces, saumâtres et marines, souvent directement causée par les activités humaines peut conduire un milieu aquatique à l'anoxie (privation totale de dioxygène) et au phénomène plus ou moins durable de zone morte (disparition des formes de vie supérieures).

Silt : Limon, sable de taille comprise entre 16 et 63 µm.

Avant-propos

L'UMR EPOC, *Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux* est une Unité Mixte de Recherche (UMR 5805) commune à plusieurs organismes : L'université Bordeaux 1, l'Université 4, l'École Pratique des Hautes Ecoles et le Centre National de la Recherche Scientifique via l'Institut National des Sciences de l'Univers.



Sa création a été officialisée en 1999 par le Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de la Technologie.

L'UMR EPOC regroupe actuellement quatre anciens laboratoires aux spécialités différentes : le Département de Géologie et Océanographie, le Laboratoire d'Océanographie Biologique, le Laboratoire d'Écotoxicologie et d'Écophysiologie des Systèmes Aquatiques et le Laboratoire de Physico-chimie et de Toxicologie de l'environnement. De plus, depuis 2001, l'UMR EPOC fait partie de l'Observatoire Aquitain des Sciences de l'Univers.

Ses principaux domaines d'activité sont:

- La Recherche scientifique dans l'ensemble des domaines relatifs à l'étude des environnements et paléo-environnements aquatiques, océaniques et continentaux,
- La Formation à et par la Recherche,
- L'Observation : ces activités sont alors conduites en étroite association avec l'OASU (Observatoire Aquitain des Sciences de l'Univers) et souvent dans le cadre de réseaux nationaux.

Enfin, l'UMR EPOC se compose d'environ 175 personnes, dont 75 chercheurs et enseignants-chercheurs, et s'étend sur 3 sites géographiques (deux bâtiments sur le campus de Talence et la station marine d'Arcachon).

Remerciements

Je tiens à remercier mon maître de stage, Mr Henri Etcheber, pour m'avoir accueillie au laboratoire et dans son bureau où les carambars n'ont jamais manqué!

Je remercie également Aurélie Lanoux pour m'avoir encadrée pendant mon stage et pour toute son aide. Merci de m'avoir permise de prendre part à ta thèse et pour ta confiance.

Merci également à Gwenaél Abril, pour sa transmission de connaissances et pour son aide pendant mon stage et à Dominique Poirier, « Domi », pour son soutien et sa bonne humeur matinale.

Merci à tous les autres membres du laboratoire, chercheurs et thésards.

Merci à Laureline, Aude, mes supers collègues du bureau avec qui j'ai beaucoup joué à la chaise musicale (et oui, 3 bureaux pour 4, cela nécessite une bonne organisation !).

Orianne, Lucile, Jonathan, Ludovic et Damien, merci pour les bons moments que nous avons passés. Nos karaokés improvisés dans les laboratoires resteront mémorables.

Enfin, merci à ma copine rennaise Camille et Kahina pour votre bonne humeur et tous ces déjeuners pris ensemble !

Introduction

La notion de Développement Durable est actuellement considérée comme « un véritable sésame vers l'avenir ». C'est un thème privilégié, sujet de multiples discours politiques, mais aussi une préoccupation récente des entreprises, faisant l'objet d'accords cadres internationaux.

Cette notion passe par le respect de l'environnement et notamment de l'eau, dont la gestion, des points de vue quantitatif et qualitatif, devient une priorité absolue.

Si l'on pense que d'ici 20 ans, 75% de l'humanité vivra dans une bande côtière de 100 km de large, on peut craindre une pression croissante synonyme de destruction et de fragmentation accélérée des milieux du littoral, dont les estuaires. Or ces derniers ont une importance écologique majeure en tant que rôle de nourricerie pour de nombreuses espèces, d'intérêt commercial ou patrimonial, et de passage obligé pour les poissons migrateurs.

Les estuaires européens sont, en grande majorité, de type macrotidal, c'est-à-dire subissant de très forts marnages induisant un long temps de résidence des eaux et des matières en suspension (MES). Cela en fait de véritables réacteurs chimiques : les micropolluants, organiques et métalliques, y subissent de multiples transformations, les rendant souvent beaucoup plus « bio-assimilables » aux populations biologiques en place (Etcheber et Gonthier, 2009)

De par ses caractéristiques et le fait qu'il soit très représentatif d'un grand nombre d'estuaires européens, le système fluvio-estuarien de la Gironde mérite d'être surveillé de près. Cette interface continent-océan est un des plus vastes estuaires macrotidaux européens avec ses 625 km² de superficie et une influence marine s'exerçant à plus de 150 km en amont de l'embouchure. Il est le seul estuaire ouest européen possédant encore tout son cortège de poissons migrateurs amphihalins et peut donc être considéré comme proche de l'état naturel.

Ses eaux sont fortement turbides avec présence d'un bouchon vaseux très important. Il s'en suit que le bouchon vaseux est le lieu de processus hydrosédimentaires et biogéochimiques complexes, qui provoquent la transformation des apports continentaux arrivant dans ce milieu.

Or, un des problèmes affectant le système Gironde est une sous-oxygénation locale des eaux dans la partie fluviale de l'estuaire, pouvant engendrer des phénomènes épisodiques d'hypoxie (par convention, oxygène dissous < 2 mg/L), avec blocages migratoires potentiels des populations biologiques.

C'est dans ce cadre que j'ai intégré l'unité EPOC, sous la tutelle de Mr Henri Etcheber, avec comme objectif principal de mon stage l'étude de l'impact de la dégradation de la matière organique des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Garonne. Ce sujet fait partie des 5 actions de l'axe 1 du projet ETIAGE, présenté en annexe 2, suivant l'annexe 1, relative à la politique HSE du laboratoire.

Pour cela, mon rapport se décomposera en trois parties : la première proposera une synthèse bibliographique sur le sujet, la deuxième s'intéressera aux matériels et méthodes utilisés et enfin, la présentation des résultats et leur exploitation seront abordées en troisième partie.

Remarque : les mots associés à un astérisque sont définis dans le glossaire.

I. Synthèse bibliographique

1. Présentation de l'écosystème étudié

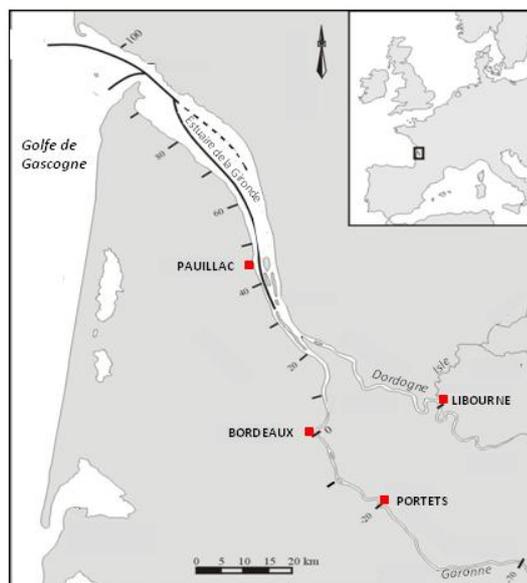


Figure 1: Carte de l'estuaire de la Gironde

L'estuaire de la Gironde (Figure 1) draine un bassin versant de 71000 km² et résulte de la jonction entre la Garonne et la Dordogne (apports respectifs de 65 et 35% d'eaux douces). Cet estuaire est l'un des plus larges estuaires européens en termes de surface (625 km²) et a un débit moyen annuel d'environ 1000 m³/s (Etcheber et al., 2007). L'estuaire est partiellement bien mélangé avec une amplitude de marée oscillant entre 1.5 m et 5.5 m à l'embouchure. La profondeur varie entre 5 et 8 m dans l'estuaire fluvial (partie amont) et peut atteindre jusqu'à 20 m dans la partie aval (Etcheber et al., 2011). L'effet de la marée est complètement atténué à 180 km en amont de l'embouchure (Sottolichio et Castaing, 1999).

Bien que ce système transporte l'un des cours d'eau les moins industrialisés en Europe (Abril et al., 2002), il est pollué par des métaux lourds, empêchant la production d'huîtres et de moules dans l'estuaire. Cette pollution chronique par les métaux est due à des activités d'extraction minière et de fonte au 19^{ème} siècle (Schäfer et al., 2006 ; Saari et al., 2007). Il est également pollué par certains polluants organiques dont les teneurs sont parfois inquiétantes, tels que les HAP (Budzinski et al., 1997).

2. Zone de turbidité maximum

La principale caractéristique de l'estuaire de la Gironde est la présence d'une zone de turbidité maximum (ZTM), ou plus communément appelée « bouchon vaseux », caractérisée par de très fortes turbidités (plusieurs g/L), contrôlée par la marée et les débits. Quand les débits sont faibles, la ZTM est présente sur environ 70 km de long à travers la section fluviale de la Garonne (Sottolichio et Castaing, 1999). Quand les débits augmentent, le bouchon vaseux (BV) est expulsé vers l'embouchure. En raison d'une forte influence marine, les temps de résidence de l'eau et des particules sont longs dans l'estuaire. Ils varient entre 20 et 86 jours pour les masses d'eau et entre 12 et 24 mois pour les particules en suspension (MES), en fonction des débits (Jouanneau et Latouche, 1981 ; Saari et al., 2010). Les concentrations en matière en suspension sont comprises entre quelques g/L en surface et peuvent atteindre plusieurs g/L au sein du BV (Castaing et Allen, 1981). Les MES sont principalement composées d'argiles (45-65%) et de silts* (Castaing et al., 1984).

En raison d'une forte turbidité, la faible pénétration de la lumière dans le BV limite l'activité photosynthétique (Irigoiien et Castel, 1997 ; Garnier et al., 2001). La productivité primaire est donc limitée à la section fluviale et à l'embouchure de l'estuaire (Goosen et al., 1999). Cependant, le développement de bactéries hétérotrophes* est largement favorable dans le BV (Heip et al., 1995). Par exemple, dans l'estuaire de la Gironde, environ 10⁷ bactéries par mL ont été déterminées dans les eaux avec une part importante de bactéries liées aux particules ou « particules fixées » (Hernandez, 1977).

3. L'oxygénation des eaux

L'oxygène dissous est l'un des paramètres environnementaux les plus importants pour la qualité de l'eau. Il doit être présent en quantité suffisante dans la colonne d'eau pour maintenir la vie aquatique. Quand l'hypoxie* se produit (concentration en oxygène dissous < 2 mg/L), cela peut engendrer des effets négatifs sur les écosystèmes aquatiques et sur le comportement des organismes (Diaz et Rosenberg, 2008 ; Billen et al., 1995 ; Rabalais et al., 2010). L'hypoxie est un phénomène fréquemment documenté et généralement associé à l'eutrophisation estuarienne et côtière (Lowery et al., 1998 ; Newton et al., 2010). Néanmoins, une autre cause majeure de cette sous-oxygénation est due aux apports allochtones* (rejets urbains riches en fraction organique labile et en nutriments inorganiques dissous) engendrant une consommation d'oxygène lors de leur oxydation (Garnier et al., 2001).

Au vu de l'écosystème de l'estuaire de la Garonne, de faibles concentrations en oxygène dissous ont été enregistrées dans la zone proche de Bordeaux. Plusieurs évènements hypoxiques ont été rapportés surtout en période de sécheresse prononcée (1976, 1989, 2006) (Etcheber, et al., 2011).

Globalement, les processus responsables de la diminution de la concentration en oxygène dans la colonne d'eau sont de deux types:

- la respiration particulaire effectuée par des bactéries hétérotrophes attachées sur les particules en suspension qui utilisent l'oxygène pour dégrader la matière organique particulaire ; cette respiration est dépendante de la concentration en matières en suspension ;
- la respiration dissoute, effectuée par les bactéries libres dans l'eau et qui provoquent la dégradation de la matière organique dissoute.

De plus, un dernier puits existe : la consommation d'oxygène induite par la remise en suspension de crème de vase (CV) anoxique (sans oxygène) dans la colonne d'eau (Figure 2).

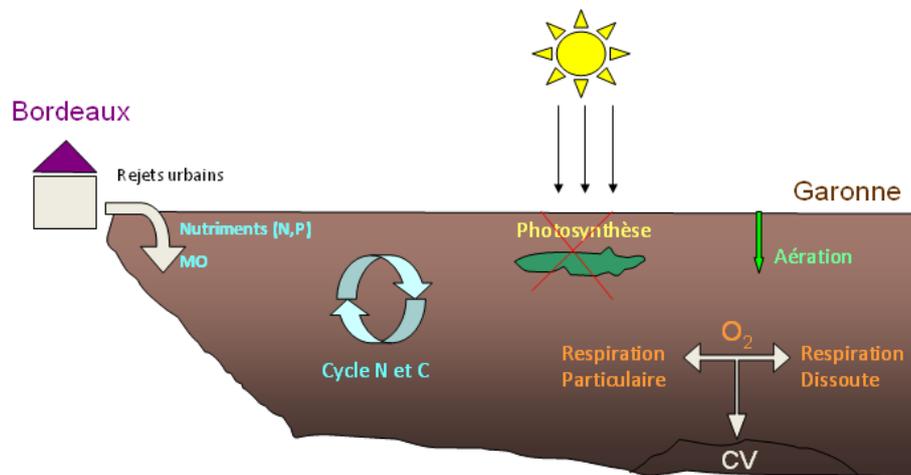


Figure 2: Phénomènes biogéochimiques dans la Garonne

La dégradation de la matière organique par des bactéries hétérotrophes est l'un des processus majeurs contrôlant le niveau d'oxygène dans les écosystèmes aquatiques et donc de leur qualité. Dans la plupart des écosystèmes aquatiques, la matière organique est principalement d'origine autochtone* mais, pour les rivières proches d'une zone urbanisée, les rejets d'effluents sont une source majeure de matière organique et de nutriments (azote et phosphore). Les paramètres écologiques peuvent, par exemple, affectés les bactéries nitrifiantes qui jouent un rôle dans les déficits d'oxygène (Servais P. et al., 1999). Ceci se produit fréquemment en milieu estuarien et peut même engendrer des phénomènes d'agrégation de particules (Talke et al., 2009).

4. Les cycles biogéochimiques

a. Le cycle du carbone

Les flux dynamiques du carbone organique ont été profondément modifiés par les activités anthropiques* (Veyssy et al., 1999). En effet, les activités humaines contribuent fortement à l'augmentation de la concentration en carbone organique dans les rivières et les estuaires européens (Abril et al., 2002).

Il existe deux types de carbone : le carbone organique et le carbone inorganique. Durant notre étude, nous nous sommes concentrés sur l'étude du carbone organique. Celui-ci est présent sous deux formes (dissoute COD et particulaire COP) dont la limite est définie analytiquement par filtration à travers un filtre en membrane de verre de porosité 0.45 µm. Les apports fluviaux de carbone organique sont classés en deux groupes : les apports **autochtones**, issus de la production primaire fluviale, constituée en majeure partie de phytoplancton et de bactéries ; les apports **allochtones**, issus du lessivage continental (sols et litières) et des apports anthropiques (rejets domestiques, industriels ou agricoles).

Dans le milieu aquatique, il existe une fraction organique dite **labile** (bioassimilable) opposée à une autre dite **réfractaire** (peu ou pas dégradable). Dans notre étude, le carbone organique labile représente une grande part de la matière organique liée aux rejets domestiques. A l'opposé, la matière organique issue du lessivage des sols a subi de nombreuses transformations biogéochimiques dans les sols avant son arrivée dans la rivière. Elle présente donc une large part de carbone organique réfractaire.

En général, les pourcentages en carbone organique particulaire (COP) associés aux particules du BV de la Garonne sont faibles et de l'ordre de $1.5 \pm 0.1\%$ quelle que soit la saison (Veyssy et al., 1999 ; Etcheber et al., 2007) et des valeurs similaires ont déjà été reportées dans des études antérieures (Etcheber, 1983 ; Lin, 1988). En comparaison, le pourcentage moyen annuel en COP est de 3.3% dans l'estuaire de la Loire (Etcheber, 1983 ; Abril et al., 2002) et de 3.1% dans l'estuaire de la Seine (Servais et al., 1998).

Dans les estuaires, le COP est sujet à des processus de sédimentation, de rétention et de minéralisation, qui est particulièrement forte. Environ 50% du COP transporté dans la Gironde est minéralisé dans la zone de turbidité maximum ce qui représente près de 150 tC par jour (Frankignoulle et al., 1998). L'empreinte du COP autochtone est la plus haute de juin à novembre pendant les périodes de bas débits, caractérisés par une haute température des eaux (>20°C) et une longue période d'ensoleillement. Durant cette période, la matière organique est très labile (Veyssy et al., 1999). Les échanges entre phase particulaire et dissoute du carbone sont divers : ingestion par les organismes vivants, adsorption sur des MES de COD et transformation de COP en COD par des processus physico-chimiques et bactéries de dégradation (Etcheber, 1983).

b. Le cycle de l'azote

L'azote est présent dans la nature sous différentes formes, qui revêtent chacune un caractère bien spécifique. On y trouve :

- l'azote organique, constituant des cellules vivantes ;
- l'azote ammoniacal, résultant de la minéralisation du précédent ;
- les nitrites, formes chimiques instables ;
- les nitrates, formes stables oxydées ;
- l'azote gazeux, largement présent dans l'air.

L'azote présent dans les eaux résiduaires provient principalement des déjections humaines. Les urines contribuent largement à cet apport essentiellement sous forme d'urée et d'ammoniac. Par ailleurs, les eaux de cuisine véhiculent des agents de surface (assouplissant...) qui incluent dans leurs molécules des radicaux azotés (Annexe 5).

Le cycle de l'azote, dans lequel les phénomènes de nitrification et de dénitrification interviennent, est décrit dans la Figure 3 ci-après. L'ammonium se transforme progressivement en nitrites puis en nitrates par l'intermédiaire de bactéries spécifiques. La totalité de la quantité d'ammonium est nitrifiée dans l'estuaire pouvant engendrer un déficit en oxygène durant les périodes estivales. La dénitrification, quant à elle, nécessite un milieu anoxique, tel que la crème de vase. Dans cette étude, seuls les processus de nitrification seront abordés.

Aussi longtemps que l'oxygène est disponible, il sert d'accepteur final d'électrons pour l'activité hétérotrophique (Garnier et al., 2007).

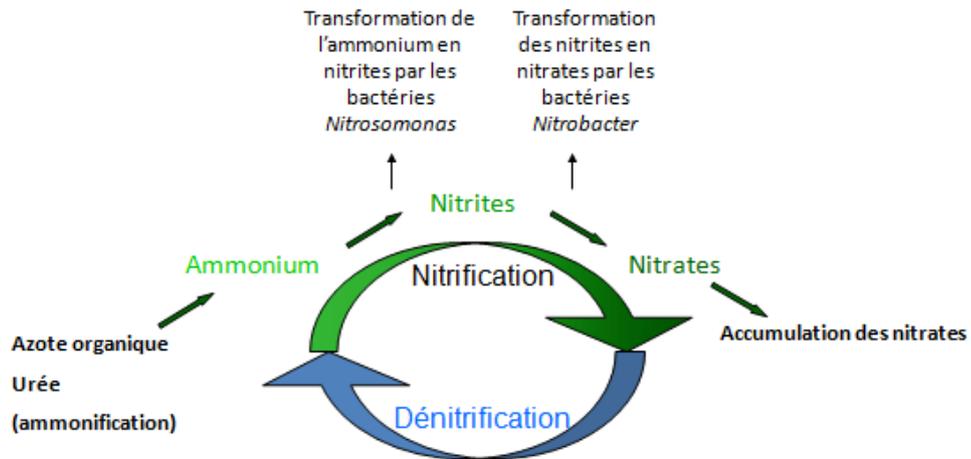


Figure 3: Cycle de l'azote

Le processus de nitrification peut s'avérer très important dans le bilan de la concentration en oxygène dissous en rivière à court terme (heures), particulièrement dans les cas où il y a présence de rejets d'eaux usées. Ainsi, des rejets d'ammoniaque d'une usine de traitement des eaux usées peuvent être la cause d'une chute de la concentration journalière moyenne en oxygène. La demande en oxygène peut être particulièrement forte au niveau des sédiments dans une rivière recevant de tels rejets ou pour une rivière dans laquelle s'accumulent des sédiments en période d'étiage* à cause de la présence de réservoirs le long de son cours (Villeneuve et al., 2006).

II. Matériels et méthodes

1. Les stations d'épuration

L'étude menée durant ce stage s'est intéressée à l'analyse et au devenir des eaux provenant des stations d'épuration (STEP).

Les STEP traitent les eaux domestiques et industrielles. La CUB possède 6 stations d'épuration, mais seules les deux plus grandes ont été étudiées durant le stage : Clos de Hilde (CH) et Louis Fargue (LF). Environ 78% de la capacité du réseau de la CUB est assurée par ces deux stations.

Seule la filière « traitement des eaux » nous intéresse car c'est elle qui a une influence directe sur le milieu naturel. Dans un souci de concision, seuls les résultats concernant la STEP de Clos de Hilde seront présentés ici. Les eaux transitant à Clos de Hilde subissent un prétraitement, un traitement primaire physico-chimique et un traitement secondaire biologique par biofiltration. Une description plus détaillée de cette station d'épuration est disponible en annexe 3.

Différents types de prélèvements ont été réalisés dans les STEP : des échantillons **bilans**, moyennés sur 24h à partir de préleveurs automatiques présents en différents points. Ils vont servir à préciser la qualité physico-chimique des eaux sur une journée ; des échantillons **instantanés**, prélevés à un instant « t » dans la station et représentatifs de l'état de la station à cet instant.

Nous distinguerons ainsi différents types d'échantillons à Clos de Hilde : des échantillons d'eaux brutes (CHEB) et des échantillons d'eaux traitées (CHET).

2. Méthodes analytiques

Sur l'ensemble des échantillons prélevés, les principaux paramètres étudiés sont les MES, le COP, le COD, l'oxygène dissous et les sels nutritifs (N, P). Parmi les sels nutritifs, nous trouvons les ions ammonium (NH_4^+), nitrites (NO_2^-), nitrates (NO_3^-) et phosphates (PO_4^{3-}).

Les principes simplifiés de l'ensemble des méthodes utilisées sont décrits dans le Tableau 1 ci-après. Une description plus détaillée de chaque méthode est disponible en annexe 4.

3. Expérimentations

a. Effet du bouchon vaseux sur la dégradation du matériel organique des eaux de STEP : Méthode par incubation

Le bouchon vaseux est le siège de processus hétérotrophiques qui sont à la base de la dégradation de la matière organique contenue dans les eaux. Ici, nous allons étudier le rôle « accélérateur » ou « inhibiteur » du bouchon vaseux. Pour cela, nous avons suivi la dégradabilité de la matière organique des effluents en présence de particules du bouchon vaseux, via des incubations. Ces incubations sont réalisées selon un protocole proche de celui utilisé par Servais et al. (1999). L'incubation des échantillons est faite à $20 \pm 2^\circ\text{C}$, à l'obscurité et pendant 30 jours. Des conditions d'aérobiose sont maintenues durant l'incubation par bullage d'air et une agitation continue. Le COD et le COP sont dosés en début et en fin d'incubation ; les valeurs obtenues en fin d'incubation représentent les fractions réfractaires respectivement du COD et du COP, les fractions biodégradables sont obtenues par différence entre les valeurs initiales et finales du COD et du COP.

Pour chacune des expériences, l'effluent est mélangé avec des particules du bouchon vaseux dans différentes proportions massiques, afin de reproduire les périodes spécifiques d'étiage : périodes où les arrivées d'eaux fluviales sont faibles (moindre dilution des effluents) et où le bouchon vaseux est présent. J'ai ainsi participé aux prélèvements d'eau de la Garonne et d'eaux de STEP, qui ont été réalisés avant chaque lancement d'incubation.

Par ailleurs, ces expériences dépendent de la turbidité des eaux de la Garonne. En effet, nous prélevons une grande quantité d'eau (40L), que nous laissons décanter afin de récupérer le maximum de particules

Tableau 1: Tableau récapitulatif des méthodes d'analyse utilisées

Analytes	Modes d'analyse	Références bibliographiques	Méthode de conservation de l'échantillon	% d'erreur	Principe simplifié
Matières En Suspension (MES)		Coynel et al., 2002	Echantillon conservé à 6°C	3-5%	Filtration sur filtre GF/F 0.45µm
Carbone Organique Particulaire	Analyseur LECO ©	Coynel et al., 2002	Filtre séché à l'étuve à 50°C	3-5%	Analyse par spectrophotométrie Infra-Rouge. Utilisation du LECO©
Carbone Organique Dissous	Analyseur SHIMADZU ©	Coynel et al., 2002	Echantillon acidifié (HCl) et conservé à 6°C	2%	Analyse par spectroscopie Infra-Rouge. Utilisation du SHIMADZU©
Phosphates	Spectrophotométrie	Murphy et Riley, 1962	Echantillon acidifié (HNO ₃) et conservé à 6°C	< 5%	Formation d'un composé coloré bleu en milieu acide. Mesure de l'absorbance proportionnelle à la concentration à λ = 885 nm.
Ammonium-Basse concentration (~20 µmol/L)	Spectrophotométrie	Koroleff, 1969 Grasshof et Johannsen, 1972	Echantillon congelé à -20°C	< 5%	Formation d'un composé de couleur bleu d'indo-phénol. Mesure de l'absorbance proportionnelle à la concentration à λ = 630 nm.
Ammonium-Haute concentration (~200 µmol/L)	Conductimétrie par injection en flux continu	Hall, Aller, 1992	Echantillon congelé à -20°C	8%	Transformation en ammoniac gazeux, puis diffusion à travers une membrane perméable au gaz. Re-transformation en ions dissous induisant une diminution de la conductivité. Diminution proportionnelle à la concentration.
Nitrites	Spectrophotométrie	Strickland et Parsons, 1972	Echantillon congelé à -20°C	< 5%	Formation d'un composé coloré rose en milieu acide. Mesure de l'absorbance proportionnelle à la concentration à λ = 543 nm.
Nitrates	Spectrophotométrie par Injection en Flux Continu	Wood, 1967 Anderson, 1979	Echantillon congelé à -20°C	< 10%	Réduction des nitrates en nitrites par une colonne de cadmium dopée au cuivre. Dosage de la somme des nitrites issus de la transformation des nitrates. Principe de dosage identique à celui des nitrites.
Dioxygène- Faible précision	Sonde à oxygène	Commarieu, 2007	Echantillon conservé sous agitation	10 %	Analyse par la sonde à oxygène ISO 5000
Dioxygène- haute précision	Méthode Winkler	Abril, 2008	Echantillon conservé sous agitation	< 5%	Analyse par la méthode Winkler

avec un minimum d'eau, pour limiter l'effet de dilution. Afin d'avoir des conditions proches de celles observées en période estivale dans le milieu naturel (fortes turbidités), la concentration finale des échantillons de chaque incubation a été fixée à 1 et 3g/L.

Jusqu'à ce jour, et en raison des conditions météorologiques, seules 2 séries d'incubation ont pu être étudiées (mélanges eaux brutes et eaux traitées) entre Mars et Avril. En effet, à cette période, les conditions hydrologiques (débits < 200 m³/s) étaient particulièrement favorables à la remontée du bouchon vaseux autour de Bordeaux, avec des concentrations en MES de l'ordre de 6g/L. Or, depuis fin Avril, les épisodes pluvieux prolongés ont fait augmenter les débits fluviaux (Q > 1000 m³/s en moyenne) provoquant l'expulsion du BV en dehors de l'estuaire. Actuellement, les concentrations en MES dans l'eau de la Garonne sont aux alentours de 500 mg/L. Etant donné que le volume d'eau à prélever est important, même lorsque les conditions sont favorables (eaux chargées en particules), d'un point de vue technique et pratique, aucune autre expérience n'a pu être lancée depuis ces événements pluvieux.

Afin de déterminer les paramètres physico-chimiques, des prélèvements sont réalisés le 1^{er} jour (T₀), puis à T+2j, T+5j, T+8j, T+15j et T+30j.

Afin de visualiser l'impact du bouchon vaseux sur la dégradation de la matière organique contenue dans les effluents, nous avons réalisé des incubations sur les eaux brutes et les eaux traitées de Clos de Hilde. Les schémas des deux expérimentations sont représentés dans la Figure 4 ci-dessous. Pour plus de clarté sur les schémas, les eaux brutes seront notées EB, les eaux traitées ET et le bouchon vaseux BV. De plus, EB, ET et BV seuls servent de témoin tout au long de l'expérience.

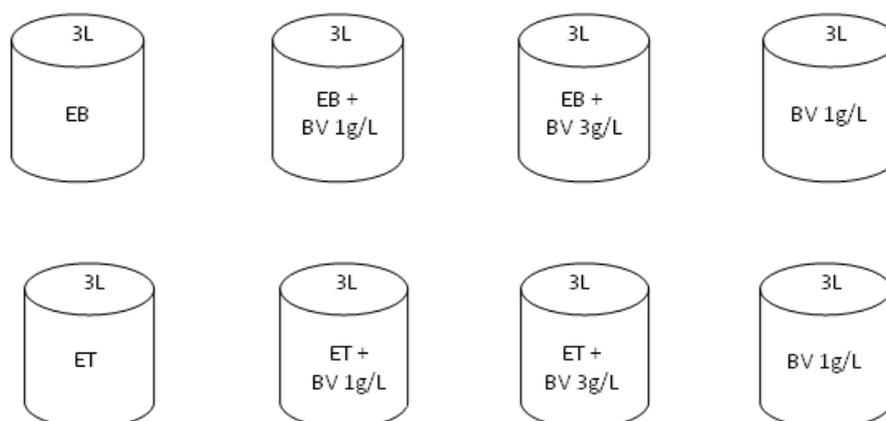


Figure 4: Schémas des incubations sur les mélanges effluents/BV

b. Effet du bouchon vaseux sur l'oxygénation des eaux : Mesure de la respiration

L'objectif est d'évaluer la cinétique de consommation de l'oxygène dissous dans un mélange effluents/eaux de la Garonne. Pour cela, j'ai réalisé des mélanges effluents/eaux de Garonne en proportion volumique, puis dosé l'oxygène, soit par sonde, soit par la méthode Winkler à des temps précis.

1^{ère} expérimentation

Dans un premier temps, nous avons voulu comparer les cinétiques de consommation de l'oxygène dissous par respiration, dans les eaux de la Garonne (prélèvement à Bordeaux) et de la Dordogne (prélèvement à Libourne). Le but étant de vérifier si la respiration est plus importante dans des eaux situées à proximité d'un grand centre urbain tel que Bordeaux. Compte-tenu de la marée, les eaux de la Garonne ont été prélevées à basse mer et à pleine mer sur la Dordogne. De retour au laboratoire, un aliquote de chaque échantillon est filtré à 0.45 µm pour calculer la concentration en MES. Les échantillons non filtrés sont ensuite mis à buller toute la nuit à température constante (bain thermostaté à 20°C). Les échantillons sont ensuite transvasés dans des bouteilles DBO de 60 mL à col

rodé. Ces dernières sont introduites dans des contenants remplis d'eau, afin d'empêcher tout échange d'oxygène entre l'air et l'eau. Ces derniers sont disposés sur un agitateur à rouleaux afin de garder les particules en suspension durant la durée l'opération. Pour des eaux de rivières, compte-tenu d'une faible consommation d'oxygène avec le temps, les concentrations en oxygène dissous ont été mesurées par méthode chimique (Winkler), plus adaptée et plus précise que la sonde, aux temps 0, 24h et 48h.

2^{ème} expérimentation

Afin d'évaluer l'impact des rejets d'effluents sur l'oxygénation de la Garonne, nous avons réalisé des mélanges volumiques effluent-bouchon vaseux, le but étant de mesurer l'impact de ces rejets dans des conditions normales de dilution et dans des conditions d'étiage. Nous voulons vérifier que plus la concentration en bouchon vaseux est importante, plus la matière organique est dégradée et donc la consommation d'oxygène est importante.

Pour cela, les mélanges volumiques réalisés sont les suivants (Tableau 2):

Tableau 2: Mélange eau traitée/bouchon vaseux réalisés lors de la 2ème expérimentation de respiration

BV	0%	50%	75%	90%	100%
Effluent	100%	50%	25%	10%	0%
Méthode d'analyse	Sonde	Sonde	Sonde	Winkler + Sonde	Winkler
Durée d'expérimentation	6h	6h	6h	24h	36h
Nombre d'analyses	4	3	3	Winkler : 3 Sonde : 5	3
Nombre de répliquas	3	3	3	3	4

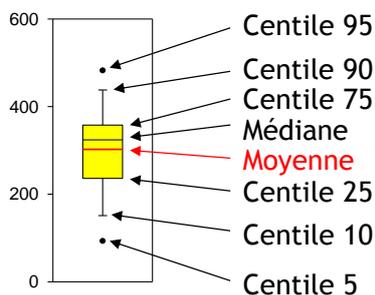
Au total, 4L d'eau de la Garonne et 4L d'eau traitée de la STEP de Clos de Hilde sont mis à buller pendant toute une nuit, pour saturer l'échantillon en oxygène (teneurs comprises entre 85 - 100%). La teneur en MES est déterminée pour chacun des échantillons. En ce qui concerne l'effluent, la préparation d'échantillons est identique à celle de l'eau de la Garonne dans la 1^{ère} expérimentation.

Le mélange 90 % BV/10% effluent est analysé par les deux méthodes, car nous ne savions pas si la sonde serait une méthode de mesure assez précise pour cette gamme de concentration. L'utilisation des deux méthodes permettra de faire un comparatif.

III. Résultats et discussion

1. Détermination des paramètres physico-chimiques des effluents

Dans cette première partie, il s'agit de caractériser la composition des effluents entrants et sortants de la STEP Clos de Hilde. Dans la figure ci-dessous (Figure 6), l'ensemble des données est représenté sous forme de boîtes à moustaches. Ce type de graphique permet de visualiser rapidement la distribution des valeurs et de déterminer la variabilité des divers paramètres des échantillons. Durant le stage, une douzaine d'échantillons bilans de la STEP de Clos de Hilde ont été analysés (3 prélèvements/mois en entrée et en sortie de STEP). Au total, près de 80 échantillons, dont ceux analysés durant mon stage, ont permis de réaliser ce graphique.



Les données statistiques (Figure 5) indiquent que 50% de nos échantillons sont compris entre le centile 25 et 75, et donc que 25% de échantillons sont compris entre le centile 25 et la médiane, et 25% compris entre la médiane et le centile 75.

Plus la moyenne et la médiane sont proches, plus la distribution est symétrique et plus la moyenne est représentative de l'ensemble des échantillons.

Figure 5 : Descriptif d'une boîte à moustaches

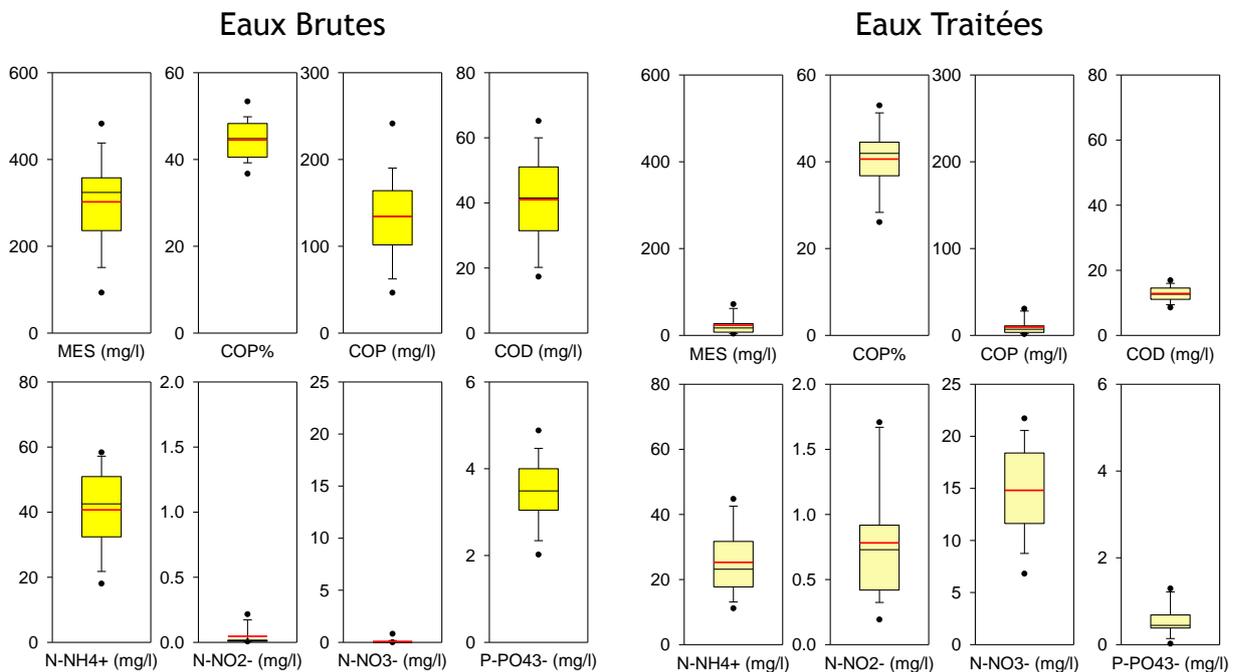


Figure 6 : Graphiques représentant les paramètres physico-chimiques des eaux brutes et traitées de la STEP Clos de Hilde

a. Paramètres MES, COP et COD

Pour l'ensemble des paramètres étudiés (Figure 6), la médiane et la moyenne sont assez proches donc on peut considérer que la moyenne est représentative de l'ensemble des échantillons. Le paramètre présentant la plus grande variabilité est celui des MES en entrée de station. La partie centrale (50% des données) ainsi que les « moustaches » sont plus étalées que pour les autres paramètres (valeurs comprises entre 150 et 440 mg/L). En moyenne, on trouve près de 300 mg/L de MES en entrée tandis

qu'il y a environ 10 mg/L en sortie de STEP, soit un abattement de près de 96%, témoin de l'efficacité du traitement sur le matériel particulaire.

De plus, on peut dire que les eaux brutes sont très chargées en carbone sous toutes ses formes. Le COP% présente une excellente distribution des valeurs avec la médiane et la moyenne qui sont confondues, et des valeurs extrêmes proches de la boîte. Les pourcentages en COP sont en moyenne compris entre 40 et 45% en entrée comme en sortie, avec une faible variabilité. D'un point de vue qualitatif, les eaux de sortie sont tout aussi riches en COP% que les eaux d'entrée. Globalement, le matériel qui rentre et qui sort de la station est environ à 80% organique. De plus, des incubations ont déjà été réalisées (Garnier et al., 2007) témoignant que ce matériel organique est majoritairement labile.

Il existe une relation quasi linéaire entre les MES et le COP. Le COP en pourcentage de matière sèche étant relativement constant quel que soit l'endroit du prélèvement de l'échantillon (43% en moyenne), la concentration en COP suivra donc la même tendance que les concentrations en MES. Pour ce paramètre, les valeurs sont en moyenne de 135 mg/L dans les eaux brutes (compris entre 60 et 190 mg/L) et en moyenne de 8 mg/L dans les eaux traitées (compris entre 4 et 30 mg/L), soit 94% d'abattement.

Concernant la phase dissoute, les teneurs en COD sont comprises entre 20 et 60 mg/L (moyenne de 40 mg/L) dans les eaux brutes, et entre 10 et 16 mg/L (moyenne de 12 mg/L) dans les eaux traitées, soit un abattement d'environ 70%. On constate donc que la STEP est moins efficace pour le traitement du matériel dissous comparé au matériel particulaire (96-98%). Les premières études d'incubation ont par ailleurs révélé que ce matériel dissous est relativement biodégradable.

b. Paramètres sels nutritifs

Concernant l'ammonium, on peut noter que la station traite peu efficacement ce paramètre. En effet, il y a en moyenne 40 mg/L (teneurs comprises entre 20 et 58 mg/L) d'ammonium qui arrive en entrée de STEP, tandis qu'il en ressort en moyenne 25 mg/L (teneurs comprises entre 13 et 42 mg/L), soit près de 40% d'abattement.

Pour les nitrites, on observe qu'il y en a très peu en entrée de STEP. Seulement 0.05 mg/L en moyenne, tandis qu'on en retrouve environ 15 fois plus en sortie (0.78 mg/L en moyenne).

Concernant les nitrates, on observe le même phénomène que pour les nitrites. On peut également dire que ce paramètre est présent à l'état de « trace » en entrée de STEP, tandis qu'on trouve en moyenne près de 150 fois plus de nitrates rejetés dans le milieu naturel (15 mg/L).

Ces observations permettent de dire que l'azote qui arrive en entrée de la station est essentiellement sous la forme ammoniacale. Cet ammonium va ensuite subir différentes transformations en présence d'oxygène. Il est tout d'abord réduit en nitrites (nitritation) puis en nitrates (nitratisation) selon le processus de nitrification. Les équations mises en jeu sont les suivantes :



Les proportions ainsi rencontrées vont être différentes suivant la quantité d'oxygène présente dans la STEP. Pour Clos de Hilde par exemple, c'est au niveau du traitement ultime des eaux par biofiltration que l'on va rencontrer le plus d'oxygène et donc que l'essentiel de la transformation va s'effectuer.

En ce qui concerne les phosphates, on remarque la STEP traite relativement bien ce paramètre avec en moyenne 3.5 mg/L dans les eaux brutes et seulement 0.5 mg/L, soit près de 86% d'abattement. Le traitement du phosphore est lié à un traitement physico-chimique qui consiste à faire précipiter les phosphates par injection de sels de fer (chlorure ferrique), qui, à Clos de Hilde, est fait juste avant le traitement par décantation. Après injection, on obtient ainsi des précipités insolubles comme le montre l'équation de la réaction de précipitation chimique :



De plus, un polymère est injecté en même temps que le chlorure ferrique afin de faciliter la précipitation de matières en suspension (formation de « floccs »). Ces précipités vont donc décanter sous l'effet de leur propre poids dans les bassins de décantation.

2. Effet du bouchon vaseux sur la dégradation du matériel organique des eaux de STEP : Méthode par incubation

a. Influence sur la dégradation du Carbone Organique

Dégradation du Carbone Organique Dissous

Les graphiques ci-dessous (Figure 7) témoignent de l'influence du bouchon vaseux sur la dégradation du Carbone Organique Dissous dans les eaux brutes et les eaux traitées de la station Clos de Hilde.

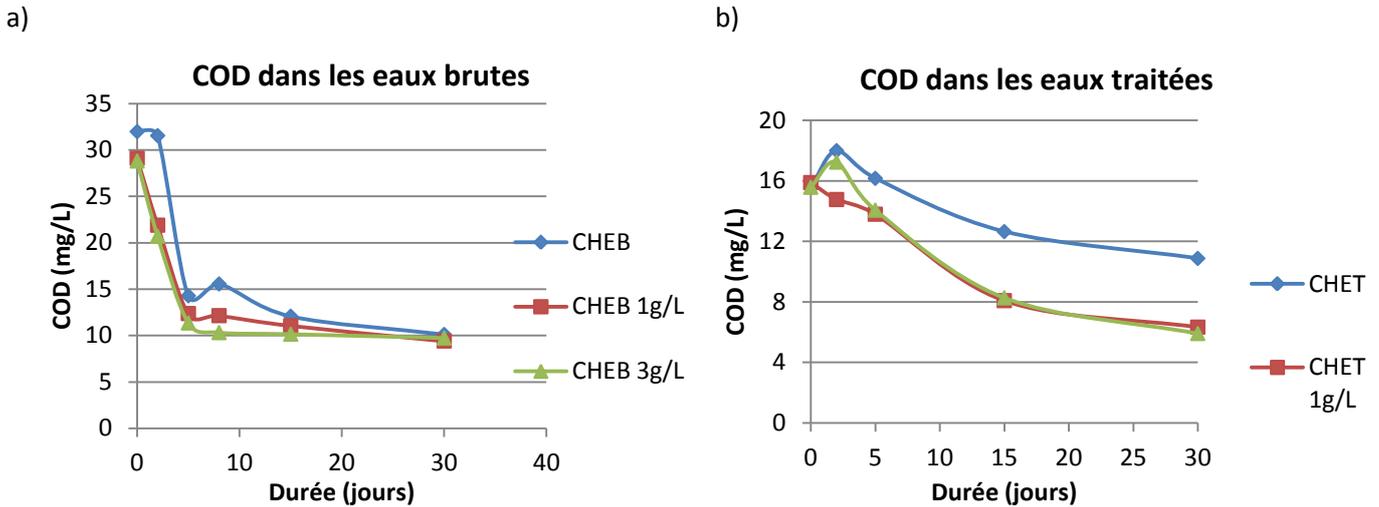


Figure 7 : Evolution de la concentration du COD pendant les incubations des eaux brutes (a) et des eaux traitées (b)

En moyenne, la teneur en COD est de 30 mg/L dans les eaux brutes et de 16 mg/L dans les eaux traitées au début des incubations. Au bout de 30 jours, ces teneurs sont respectivement de 10 et 6 mg/L pour les eaux brutes et traitées. La dégradation du matériel dissous est plus rapide dans les eaux brutes que dans les eaux traitées. En effet, le COD atteint sa valeur finale en 10 jours d'incubation pour les eaux brutes alors que, dans les eaux traitées, le COD n'atteint pas de valeur palier nette : La valeur de 6 mg/L est celle déterminée au bout de 30 jours et une pente décroissante est encore enregistrée. La quantité importante de bactéries dans les eaux brutes est responsable de ce phénomène, car elles utilisent entre autres ce COD pour respirer.

De plus, nous pouvons remarquer un petit décrochage intervenant lors des deux premiers jours sur la courbe des eaux traitées : du COP est transformé en COD lors de divers processus physico-chimiques.

Les tableaux ci-dessous indiquent le taux d'abattement de la quantité de COD dans les eaux brutes et les eaux traitées après incubation.

Tableau 3 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du COD dans les eaux brutes et les eaux traitées après incubation

	CHEB	CHEB 1g/L	CHEB 3g/L
T0 (mg/l)	32,0	29,1	28,8
T30 (mg/L)	10,1	9,4	9,7
Abattement COD	68,4%	67,7%	66,2%

	CHET	CHET 1g/L	CHET 3g/L
T0 (mg/L)	15,6	15,9	15,6
T30 (mg/L)	10,9	6,3	5,9
Abattement COD	30,1%	60,1%	62,0%

Les taux d'abattement du COD dans les eaux brutes est de 67% en moyenne quelle que soit la concentration du bouchon vaseux mélangée. L'ajout de bouchon vaseux n'a visiblement aucune influence sur la dégradation de la matière organique dissoute contenue dans les eaux brutes. Ceci peut être expliqué par le fait que les bactéries introduites par le bouchon vaseux se retrouvent dans des eaux

contenant une grande quantité de molécules biodégradables (glucides, protéines et lipides libres par exemple). Ce sont ces types de molécules facilement bioassimilables que les bactéries minéralisent en priorité. Pour mesurer l'effet du bouchon vaseux dans le cas des eaux traitées, il aurait fallu faire des incubations plus longues pour parfaitement chiffrer la dégradation de la matière organique.

Concernant les eaux traitées, le taux d'abattement du COD est d'autant plus important que la concentration de BV est grande, allant de 30% pour des eaux traitées sans BV à près de 60% quand la concentration du mélange est de 3g/L. Le bouchon vaseux permet donc une dégradation de la matière organique deux fois plus rapide. Toutefois les résultats donnés en présence de BV à 1 g/L et 3 g/L sont tout à fait similaires. Le BV à concentration de 1 g/L doit donc être suffisamment élevée pour atteindre la vitesse maximale de dégradation de la MO.

Dégradation du Carbone Organique Particulaire

Les graphiques ci-dessous (Figure 8) témoignent de l'influence du bouchon vaseux sur la dégradation du Carbone Organique Particulaire dans les eaux brutes et les eaux traitées de la station Clos de Hilde.

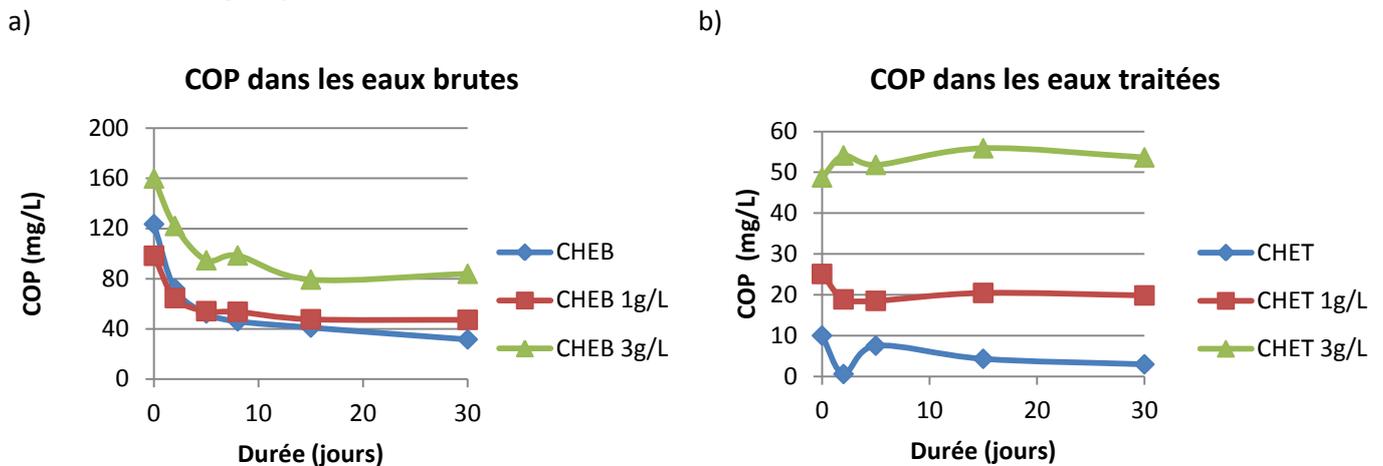


Figure 8 : Evolution de la concentration du COP pendant les incubations des eaux brutes (a) et des eaux traitées (b)

Dans les eaux brutes, quelles que soient les incubations étudiées (eaux brutes seules, eaux brutes + mélanges 1 et 3 g/L de BV), les 3 profils de courbe sont quasi-identiques. La teneur en COP décroît rapidement (de l'ordre de 5 jours) puis, se stabilise. La perte de COP pour les eaux brutes seules est de 67% sur les 30 jours. Le test fait, sur le même laps de temps, d'un échantillon de BV confirme les résultats de Lin (1988), à savoir qu'il n'y a pas d'évolution significative des teneurs en COP. Toutes variations enregistrées lors des incubations faites sur des mélanges effluent + BV affectent donc la teneur en COP relative aux effluents. Ils en sont que ces diminutions de COP affectent 80% et 75% du COP des effluents dans le cas des eaux mélangées avec du matériel de BV à 1 g/L et 3 g/L respectivement. On peut en conclure que le BV renforce la dégradation de la phase particulaire organique des effluents à une concentration de 1g/L qui est suffisante pour produire un tel phénomène, les concentrations supérieures de MES du BV ne produisant pas un effet supplémentaire.

En ce qui concerne les eaux traitées, d'une incubation à l'autre (eau traitée seule, eau traitée + BV à 1g/L et 3 g/L), l'évolution des courbes diffèrent. Pour l'échantillon d'eau traitée seule, on passe de 10 g/L à 3 g/L, soit une baisse de 70%, confirmant que le COP évacué présente lui aussi une forte labilité. Le fait de se retrouver mélangé aux particules du BV ne renforce pas significativement la dégradation de ce matériel organique des effluents, puisque des dégradations du même ordre (72-75%) sont alors enregistrées. Comme le contenu organique (majoritairement réfractaire) dû à l'ajout du BV est très supérieur à celui des effluents dans nos incubations, on peut craindre que les résultats concernant l'évolution du COP des effluents aient été imprécis. Nos expériences relatives à ces incubations sont prévues pour conforter les interprétations de ces premières données.

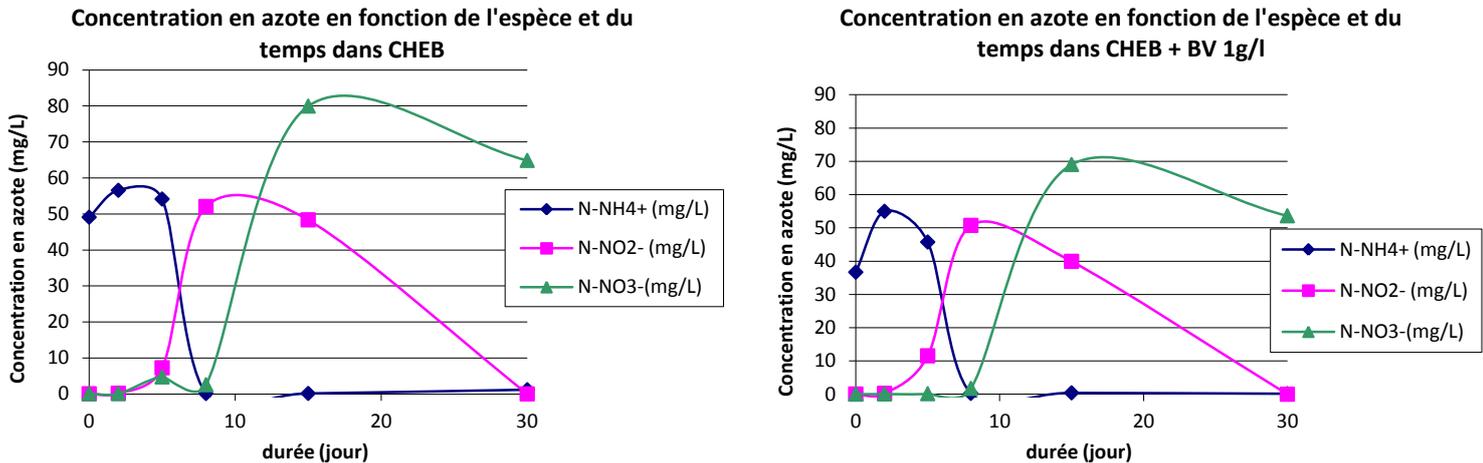
b. Influence sur la dégradation des sels nutritifs dissous

Les eaux brutes

Les graphiques suivants (Figure 9) présentent l'évolution des concentrations des paramètres azotés en fonction du temps. Pour chacune des figures, nous remarquons clairement chaque étape du processus de nitrification avec transformation de l'ammonium en nitrites en moins de 10 jours, puis transformation des nitrites en nitrates pendant le reste du temps d'incubation. Le pic des nitrites est toujours observé aux alentours du 10^{ème} jour.

a)

b)



c)

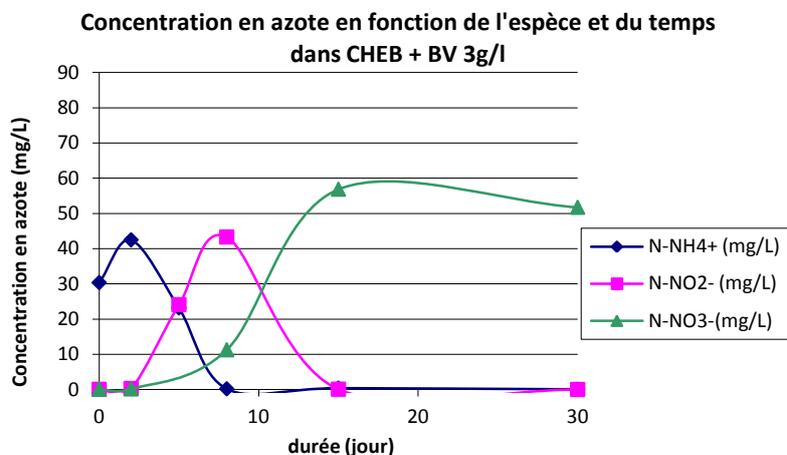


Figure 9 : Evolution des concentrations en ammonium, nitrites et nitrates pendant l'incubation dans l'eau brute a), le mélange CHEB/BV 1g/L b) et le mélange CHEB/BV 3 g/L c)

Premièrement, quand les nitrates commencent à se former, les ions ammonium ont tous été consommés quelle que soit la concentration en MES du bouchon vaseux. En d'autres termes, la première étape du processus de nitrification est complète avant d'entamer la deuxième. La nitrification est terminée au bout de 8 jours d'incubation. Pour l'effluent seul, la quantité initiale d'azote ammoniacal est de 50 mg/L alors qu'elle est de 40 mg/L pour le mélange CHEB/BV 1g/L et de 30 mg/L pour le mélange CHEB/BV 3g/L. le bouchon a une tendance générale à diminuer les concentrations maximales des différentes espèces de l'azote.

En effet, nous constatons le même phénomène pour les nitrites. Le pic de nitrites est mesuré au bout de 8 jours avec des concentrations maximales respectives de 55, 50 et 45 mg/L pour (a), (b) et (c). De plus, les nitrites sont consommés plus rapidement quand la concentration du BV augmente.

Les nitrates suivent la même tendance que les nitrites, car leur concentration diminue avec l'augmentation de la quantité de bouchon vaseux. Nous constatons également que la concentration en nitrates augmente puis diminue. Les nitrates étant la dernière espèce du processus, nous devrions observer un palier ou une augmentation constante et non pas une diminution. Cette diminution reste difficilement interprétable sachant que les conditions dans lesquelles on observe une consommation des nitrates sont des conditions anaérobies, or ce n'est pas le cas ici. La deuxième anomalie se situe au niveau du pic des ions ammonium en début d'expérience. Ces pics d'ammonium et de nitrates peuvent résulter de plusieurs explications. Première hypothèse, il y a un problème au niveau de l'analyse par un possible effet de matrice induit par des composés dissous dans les eaux brutes. Seconde hypothèse, nous avons un relargage de produits azotés qui étaient fixés sur les particules en suspension. Toutes ces hypothèses seront approfondies lors des prochaines expérimentations.

Tableau 4 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du NH_4^+ et des facteurs de croissance des NO_3^- dans les eaux brutes après incubation

	CHEB	CHEB/BV 1g/L	CHEB/BV 3g/L
T0 μM	3506.7	2620.0	2166.7
T30 μM	83.8	11.2	4.2
Taux d'abattement NH_4^+	97.6%	99.6%	99.8%

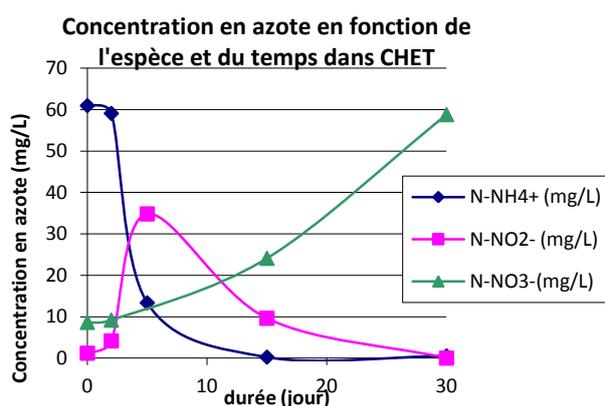
	CHEB	CHEB/BV 1g/L	CHEB/BV 3g/L
T0 μM	4.3	2.7	3.7
T30 μM	4633.0	3830.3	3692.7
Facteur de croissance NO_3^-	1089.1	1417.6	1005.2

Selon les tableaux ci-dessus (Tableau 4), les mélanges avec bouchon vaseux éliminent mieux les ions ammonium avec un pourcentage de transformation de plus 99.5%. Mais, le coefficient d'élimination de l'effluent seul est très proche (97.6%). Donc on ne peut pas affirmer que le bouchon vaseux ait un réel effet sur la transformation des ions ammonium. Concernant les nitrates, le facteur de croissance du mélange CHEB/BV 1g/L est meilleur que les deux autres (1417 contre environ 1089 et 1005). Ce mélange favorise leur formation.

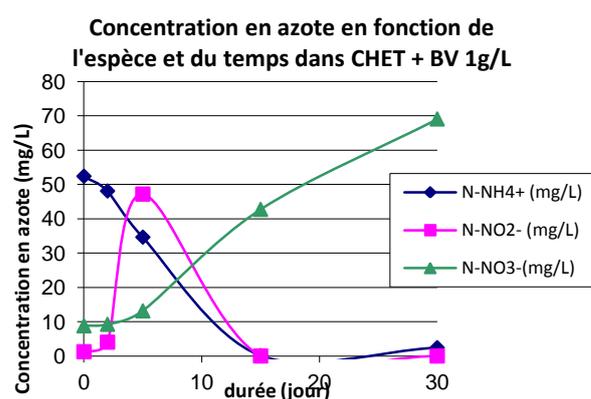
Les eaux traitées

Les graphiques suivants (Figure 10) présentent les concentrations des espèces azotées en fonction du temps.

a)



b)



c)

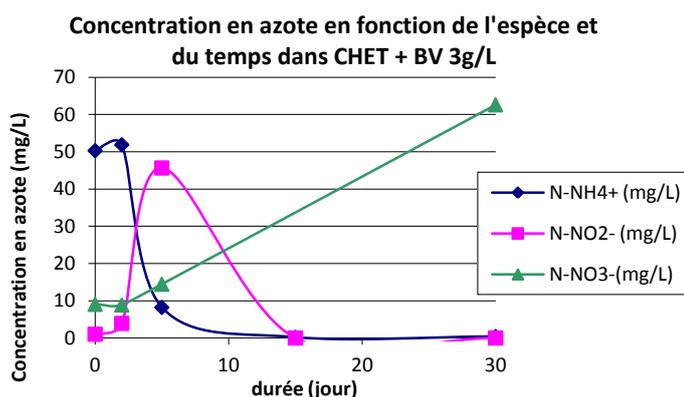


Figure 10 : Evolution des concentrations en ammonium, nitrites et nitrates pendant l'incubation dans l'eau traitée a), le mélange CHET/BV 1g/L b) et le mélange CHET/BV 3 g/L

La totalité du stock d'ammonium a été transformé en 15 jours avec ou sans bouchon vaseux. L'influence du bouchon vaseux s'observe sur les teneurs en nitrites même si nous visualisons dans tous les cas un pic aux alentours de 5j d'incubation. Sans BV, la décroissance de l'azote nitreux est étalée sur les 30 jours. Avec le bouchon vaseux, les nitrites ont tous été consommés au bout de 15 jours. Egalement, nous pouvons remarquer qu'il se forme plus de nitrites avec bouchon vaseux (environ 50 mg/L contre 30 mg/L sans bouchon vaseux). Il semblerait que la présence du BV accélère légèrement les processus de transformation. Concernant les nitrates, l'incubation commence avec une concentration en azote nitrique de 10 mg/L. Au bout de 30 jours, leur concentration dans les trois milieux est identique (environ 60 mg/L). Plus la quantité de bouchon vaseux introduite est importante, plus la formation de nitrates est rapide. Dans le cas des eaux traitées, le bouchon vaseux semble n'avoir aucune influence sur le cycle de nitrification.

Tableau 5 : Tableaux récapitulatifs des taux d'abattement du NH_4^+ et des facteurs de croissance des NO_3^- les eaux traitées après incubation

	CHET	CHET/BV 1g/L	CHET/BV 3g/L
TO (μM)	4353,3	3740,0	3593,3
T30 (μM)	37,3	174,8	28,7
Taux d'abattement NH_4^+	99,1%	95,3%	99,2%

	CHET	CHET/BV 1g/L	CHET/BV 3g/L
TO (μM)	615,4	628,9	645,6
T30 (μM)	4197,3	4931,2	4472,5
Facteur de croissance NO_3^-	5,8	6,8	5,9

Dans les tableaux ci-dessus (Tableau 5), les taux d'abattement des ions ammonium et de croissance pour les nitrates ont été calculés pour les réacteurs avec ou sans bouchon vaseux. Le taux d'abattement est quasi le même pour les 3 cas étudiés (en moyenne 97%) et il en est de même en ce qui concerne le taux de croissance des nitrates (en moyenne 6.2). Si le bouchon vaseux avait une influence notable sur le COD, on peut dire qu'il n'en a qu'une relativement modérée sur la détérioration des sels nutritifs dissous contenus dans les eaux traitées.

3. Effet du bouchon vaseux sur l'oxygénation des eaux : Méthode de la respiration

1^{ère} expérimentation

Dans cette première expérience, nous avons voulu déterminer si la respiration est plus forte dans la Garonne que dans la Dordogne. Nous avons obtenu le graphique suivant (Figure 11).

Les minimas d'oxygène sont détectés à basse mer à Bordeaux et à pleine mer à Libourne. En effet, compte tenu de la marée, la masse d'eau située près de Bordeaux, avec des teneurs en oxygène plus

faibles, remonte jusqu'à Libourne. Nous voudrions donc démontrer qu'au minima d'oxygène, la respiration est plus importante à Bordeaux du fait de l'impact du centre urbain (715000 habitants) qu'à Libourne (23700 habitants).

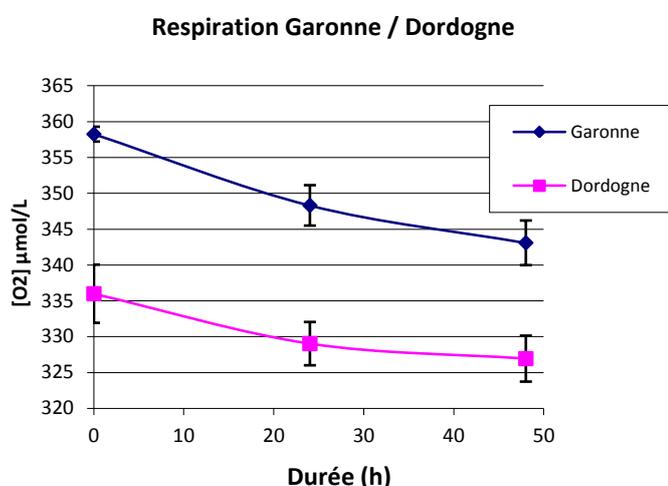


Figure 11 : Evolution de la respiration dans la Garonne et la Dordogne en fonction du temps

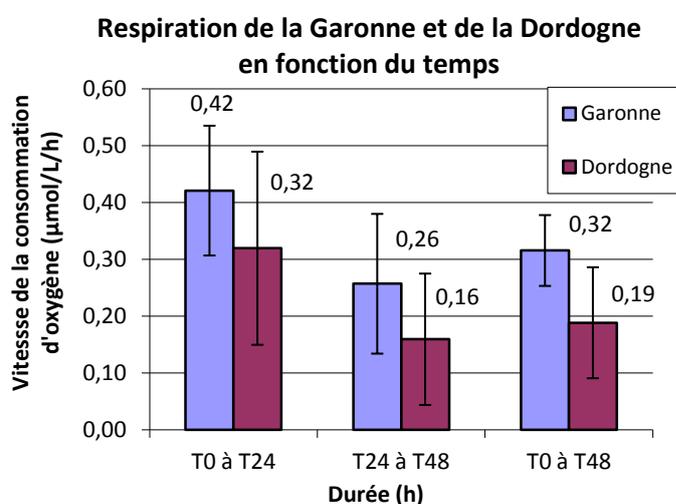


Figure 12 : Vitesse de consommation de l'oxygène en fonction du temps dans la Garonne et la Dordogne

La Figure 11 montre l'évolution des teneurs en oxygène dissous en fonction de la période d'incubation pour les eaux de la Garonne (Bordeaux) et les eaux de la Dordogne (Libourne).

Initialement, la concentration en oxygène à Libourne est plus faible qu'au niveau de Bordeaux (335 contre 360 $\mu\text{mol/L}$) comme nous pouvons l'observer sur la Figure 11. Le profil des courbes est relativement similaire quel que soit l'endroit du prélèvement. La respiration est plus rapide dans les premières 24h. Ensuite, elle diminue d'environ 25% pour arriver au final, à 0,32 $\mu\text{mol O}_2/\text{L/h}$ pour la Garonne et 0,19 $\mu\text{mol O}_2/\text{L/h}$ pour la Dordogne.

Sur la Figure 12, nous remarquons que la respiration des eaux de la Dordogne est environ 25% plus faible que celle dans les eaux de la Garonne pendant les premières 24h. En revanche, elle est 40% plus faible le 2^{ème} jour. Comme la respiration tend à augmenter quand la quantité de matière organique biodégradable à disposition pour les bactéries est plus grande, nous pourrions dire que notre hypothèse de départ est vérifiée, c'est-à-dire, que la respiration est plus importante à Bordeaux à cause d'une source supplémentaire de rejets d'effluents dans le fleuve pour le site de Bordeaux. Or, si nous regardons uniquement la Figure 12, on s'aperçoit que les écart-types de la Garonne et de la Dordogne, se chevauchent quelle que soit la période considérée. Nous ne pouvons donc pas affirmer que la respiration à Bordeaux est plus forte qu'à Libourne. Ce résultat est à modérer car quand nous faisons le test statistique non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (logiciel STATISTICA), nous obtenons que les résultats enregistrés lors des premières 24h ne sont pas significativement différents ($p=0.055 > 0.05$) donc que la respiration est similaire dans les deux fleuves. En revanche, le test démontre que les périodes T24 à T48 et T0 à T48 présentent des différences significatives entre la Garonne et la Dordogne (respectivement $p=0.009 < 0.05$ et $p=0.0004 < 0.05$) et tend à valider notre hypothèse initiale. Ces résultats sont en cours de confirmation par la mise en place de nouvelles mesures de respiration.

2^{ème} expérimentation

Dans cette partie, le but est d'étudier si la présence de particules du bouchon vaseux a un effet sur la respiration bactérienne qui consomme la matière organique des effluents. Pour cela, la respiration est mesurée pour des mélanges d'eau traitée et d'eau estuarienne. Nous émettons l'hypothèse que l'augmentation de la quantité de particules du bouchon vaseux devrait augmenter la vitesse de consommation de l'oxygène dans les bouteilles.

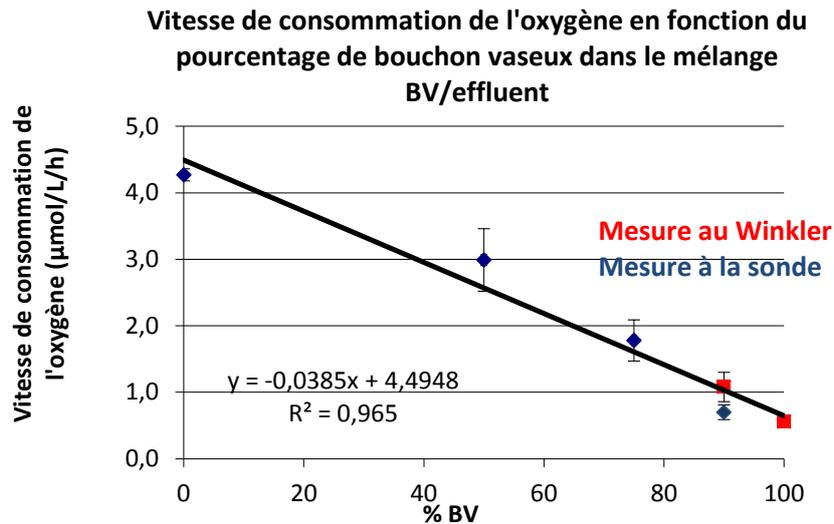


Figure 13 : Vitesse de consommation de l'oxygène en fonction du pourcentage de bouchon vaseux dans le mélange effluent/BV

La Figure 13 présente l'évolution de la consommation de l'oxygène dissous (vitesse en $\mu\text{mol O}_2/\text{L/h}$) en fonction du mélange BV/effluent. Nous observons que la respiration décroît linéairement quand le pourcentage du bouchon vaseux introduit augmente. Notre hypothèse n'est donc pas vérifiée. Nous supposons que le phénomène observé est dû à l'effet de dilution induit par les mélanges volumiques et non massiques. Cette expérience nous a permis de mettre au point notre technique d'analyse. Dans les prochaines expériences, les mélanges seront faits en pourcentage massique comme pour les incubations de 30j, en prenant le maximum de particules et le minimum d'eau, dans le but de limiter les effets de dilution.

De plus, nous avons réalisé les mesures d'oxygène des mélanges à 90% de bouchon vaseux/ 10% d'effluent, par la sonde et par la méthode Winkler. La mesure par la sonde montre une respiration de $0.7 \mu\text{mol/L/h} \pm 0.11$ contre $1.08 \mu\text{mol/L/h} \pm 0.22$ par la méthode Winkler. Sur le graphique, nous pouvons vérifier que les écart-types ne se chevauchent pas, donc les valeurs de respiration sont significativement différentes. De plus, l'écart-type calculé par rapport aux mesures à la sonde est plus faible que celui calculé par rapport aux mesures par la méthode Winkler. Il est vrai que le milieu peut présenter une hétérogénéité d'une bouteille de mesure à une autre. Pour confirmation, de tels résultats sont en cours.

IV. Conclusion

Les objectifs de cette étude étaient de déterminer les paramètres physico-chimiques des effluents afin d'évaluer l'apport et l'impact de ces eaux usées sur la Garonne. Puis, nous avons voulu évaluer le rôle du bouchon vaseux sur la dégradation de la matière organique par l'intermédiaire d'incubations. Enfin, la vitesse de consommation de l'oxygène a été estimée en réalisant des mesures de respiration.

Concernant l'étude des paramètres physico-chimiques, nous trouvons près de 300 mg/L de MES en entrée tandis qu'il y a environ 10 mg/L en sortie de STEP, soit un abattement de près de 96%, témoin de l'efficacité du traitement sur le matériel particulaire. De plus, on peut dire que les eaux brutes sont très chargées en carbone. Les pourcentages en COP sont en moyenne compris entre 40 et 45% en entrée comme en sortie. Il existe une relation quasi linéaire entre les MES et le COP. Concernant la phase dissoute, les teneurs en COD sont comprises entre 20 et 60 mg/L (moyenne de 40 mg/L) dans les eaux brutes, et entre 10 et 16 mg/L (moyenne de 12 mg/L) dans les eaux traitées, soit un abattement d'environ 70%. On constate donc que la STEP est moins efficace pour le traitement du matériel dissous comparé au matériel particulaire (96-98%). L'azote qui arrive en entrée de la station est essentiellement sous la forme ammoniacale. Cet ammonium va ensuite subir différentes transformations en présence d'oxygène. Il est tout d'abord réduit en nitrites (nitritation) puis en nitrates (nitratisation) selon le processus de nitrification. En ce qui concerne les phosphates, on remarque que la STEP traite relativement bien ce paramètre avec en moyenne 3.5 mg/L dans les eaux brutes et seulement 0.5 mg/L, soit près de 86% d'abattement.

Les résultats de la première étude ont démontré que, malgré les traitements utilisés en STEP, les concentrations des différentes espèces sont bien supérieures à celles rencontrées dans la Garonne qui sont en moyenne de : COD = 1.80 mg/L, N-NH₄⁺ = 0.03 mg/L, N-NO₂⁻ = 0.00 mg/L, N-NO₃⁻ = 2.00 mg/L et PO₄³⁻ = 0.10 mg/L. Malgré cela, les débits de rejets, très inférieurs au débit de la Garonne (< 0.4% du débit de la Garonne), ne devraient pas constituer une réelle menace pour l'écosystème. Toutefois, cette étude devrait être réalisée en période d'étiage prononcée. La période de mon stage devait correspondre à une période d'étiage, mais les épisodes pluvieux récurrents de ces derniers mois ne m'ont pas permis de le faire. Un impact de ces rejets sera peut être constaté pendant les derniers mois de mon stage (juillet, août).

Les incubations ont permis d'avoir une première idée de l'effet accélérateur du bouchon vaseux sur la dégradation de la matière organique contenue dans les eaux traitées. En effet, nous avons aussi constaté une différence de comportement entre les eaux traitées et brutes. Le bouchon vaseux n'a vraisemblablement aucun effet sur la dégradation du matériel dissous des eaux brutes.

Les mesures de respiration ont permis de démontrer que la présence de particules du bouchon vaseux avait un impact beaucoup moins important que celui de la matière organique dissoute de l'effluent et du facteur de dilution entre l'eau traitée et l'eau estuarienne. Nous avons, en effet, constaté un effet de dilution dû aux mélanges volumiques. Par contre, nous avons confirmé la valeur de 0.5 µmol/L/h pour la respiration du bouchon vaseux seul. Ces mesures vont être complétées dans les mois à venir par d'autres essais utilisant des mélanges massiques.

Références bibliographiques

- Abril G., Noguiera M., Etcheber H., Cabeçadas G., Lemaire E., Brogueira M.J., 2002**, *Behaviour of organic carbon in nine contrasting european estuaries*, Estuarine, Coastal and Shelf Science, 54 : 241-262.
- Abril G., 2008**. *Dosage de l'oxygène dissous par la méthode Winkler*, document interne laboratoire : 1-4.
- Anderson L., 1979**, *Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis*, Analytica Chimica Acta, 110 : 123-128.
- Banas D., Lata D., 2007**, *Les phosphates*, Université Paris-Sud, 6 pp.
- Banas D., Lata D., 2008**, *Les nitrates*, Université Paris-Sud, 10 pp.
- Billen G., Décamps H., Garnier J., Meybeck M., Servais P., Boët P., 1995**, *River and Stream ecosystems*, Elsevier, France, Belgium, Netherlands, 389-418.
- 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: 85-97.
- Carpenter J., 1965**, *The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis*, Department of Oceanography, The Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, 135-140.
- Castaing P., Allen G.P., 1981**, *Mechanisms controlling seaward escape of suspended sediment from the Gironde: a macrotidal estuary in France*, Marine Geology, 40 : 101-118.
- Castaing P., Jouanneau J.M., Prieur D., Rangel-Davalos C., Romaña L.A., 1984**, *Variations spatio-temporelles de la granulométrie des suspensions de l'estuaire de la Gironde*, Journal de Recherche Océanographique 9 : 115-119.
- Commarieu M-V., 2007**, *Oxygénation des eaux dans un estuaire hyperturbide (Gironde) : Observations in situ, expérimentations et modélisation*, Thèse, Université Bordeaux 1, N° d'ordre : 3536, 180 pp.
- Coyne A., Schäfer J., Hurtrez J-E., Dumas J., Etcheber H., Blanc G., 2004**, *Sampling frequency and accuracy of SPM flux estimates in two contrasted drainage basins*, Science of the Total Environment, 330 : 233-247.
- Diaz R.J., Rosenberg R., 2008**, *Spreading dead zone and consequences for marine ecosystems*, Science, 321 : 926-929.
- Etcheber H., 1983**, *Biogéochimie de la Matière Organique en Milieu Estuarien : Comportement, Bilan, Propriétés. Cas de la Gironde*, Université de Bordeaux 1, 352 pp.
- Etcheber H., Taillez A., Abril G., Garnier J., Servais P., Moatar F., Commarieu M-V., 2007**, *Particulate organic carbon in the estuarine turbidity maxima of the Gironde, Loire and Seine estuaries : origin and liability*, Hydrobiologia, 588 : 245-259.
- Etcheber H., Gonthier P., 2009**, *Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE)*, rapport technique, 58 pp.
- Etcheber H., Schmidt S., Sottolichio A., Maneux E., Chabaux G., Escalier J-M., Wennekes H., Derriennic H., Schmeltz M., Quémener L., Repecaud M., Woerther P., Castaing P., 2011**, *Monitoring water quality in estuarine environments : lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system*, Hydrology and Earth System Sciences, 15 : 831-840.
- Frankignoulle M., Abril G., Borges A., Bourge I., Canon C., Delille B., Libert E., Théate J-M., 1998**, *Carbon dioxide emission from european estuaries*, Science, 282 : 434.
- Garnier J., Servais P., Billen G., Akopian M., Brion N., 2001**, *Lower Seine River and estuary (France) carbon and oxygen budgets during low flow*, Estuaries and Coasts, 24 : 964-976.
- Garnier J., Billen G., Cébron A., 2007**, *Modelling nitrogen transformations in the lower Seine river and estuary (France) : impact of wastewater release on oxygenation and N₂O emission*, Hydrobiologia, 588 : 291-302.
- Goosen N.K., Kromkamp J., Peene J., van Rijswijk P., van Breugel P., 1999**, *Bacterial and phytoplankton production in the maximum turbidity zone of three*

European estuaries: the Elbe, Westerschelde and Gironde, Journal of Marine Systems, 22 : 151-171.

Grasshoff K., Johannsen H., 1972, *A new sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in sea water*, Journal Conseil International de l'exploration de la Mer, 34 : 516-521.

Hall P.O.J., Aller R.C., 1992, *Rapid, small volume, flow injection analysis for Sigma CO₂ and NH₄⁺ in marine and freshwater*, Limnology and Oceanography, 37 : 89-111.

Heip C.H.R., Goosen N.K., Herman P.M.J., Kromkamp J., Middelburg J.J., Soetaert K., 1995, *Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries*, Oceanography and Marine Biology an Annual Review, 33 : 1-149.

Hernandez P., 1997, *Etude écologique du comportement bactérien dans les estuaires de l'Elbe, de l'Escaut et de la Gironde : dynamique, rôle dans le réseau trophique et caractéristiques métaboliques*, Université de Bordeaux 1, France, 288 pp.

Irigoien X., Castel J., 1997, *Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France)*, Estuarine, coastal and Shelf Science, 44 : 507-517.

Jouanneau J.M., Latouche C., 1981, *The Gironde Estuary*, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 115 pp.

Koroleff F., 1969, *Direct determination of ammonia in natural waters as indo-phenol blue*, International Council for the Exploration of the Sea, 9-22.

Legros A., Villain N., L'élimination du phosphore présent dans les eaux résiduaires urbaines, L'eau, l'industrie, les nuisances, n°274.

Lin R.G., 1988, *Etude du Potentiel de Dégradation de la Matière Organique Particulaire au Passage Eau Douce-Eau Salée : Cas de l'Estuaire de la Gironde*, Université de Bordeaux 1, p. 209.

Lowery T.A., 1998, *Modelling estuarine eutrophication in the context of hypoxia, nitrogen loadings, stratification and nutrient ratios*, Journal of Environmental Management, 52 : 289-305.

Murphy J., Riley J-P., 1962, *A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water*, Analytica Chimica Acta, 27 : 31-36.

Newton A., Oliveira P.S., Icely J.D., Foster P.A., 2010, *Monitoring of oxygen condition in the Ria Formosa coastal lagoon, Portugal*, Journal of Environmental Monitoring, 12 : 355-360.

Rabalais N.N., Díaz R.J., Levin L.A., Turner R.E., Gilbert D., Zhang J., 2010, *Dynamics and distribution of natural and human-caused hypoxia*, Biogeosciences, 7 : 585-619.

Relexans J.C., Etcheber H., 1986, *Characterization of the particulate organic matter in the Loire Estuary (France) using ETS activity measurements*, Organic Geochemistry, 10 : 743-749.

Saari H.-K., Schmidt S., Coynel A., Huguet S., Schäfer J., Blanc G., 2007, *Potential impact of former Zn ore extraction activities on dissolved uranium distribution in the Riou-Mort watershed (France)*, Science of The Total Environment 382 : 304-310.

Saari H.-K., Schmidt S., Castaing P., Blanc G., Sautour B., Masson O., Cochran J.K., 2010, *The particulate ⁷Be/²¹⁰Pbxs and ²³⁴Th/²¹⁰Pbxs activity ratios as tracers for tidal-to-seasonal particle dynamics in the Gironde estuary (France): Implications for the budget of particle-associated contaminants*, Science of The Total Environment, 408 : 4784-4794.

Schäfer J., Blanc G., Audry S., Cossa D., Bossy C., 2006, *Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and anthropogenic component*, Applied Geochemistry, 21 : 515-527.

Servais P., Billen G., Garnier J., Idlafkih Z., Mouchel J.-M., Seidl M., Meybeck M., 1998, *La Seine en son bassin : Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé*, Elsevier, Paris.

Servais P., Garnier J., Demarteau N., Brion N., Billen G., 1999, *Supply of organic matter and bacteria to aquatic ecosystems through waste water effluents*, Water Research, 33 : 3521-3531.

Sottolichio A., Castaing P., 1999, *A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary*, Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science, 329, 795-800.

Strickland J.D.H., Parsons T.R., 1972, *A practical handbook of seawater analysis*, Bulletin Fisheries research Board of Canada, 310 pp.

Talke S.A., de Swart H.E., de Jonge V.N., 2009, *An idealized model and systematic process study of*

oxygen depletion in highly turbid estuaries, Estuaries and Coasts, 32 : 602-620.

Veyssy E., Etcheber H., Lin R.G., Buat-Menard P., Maneux E., 1999, *Seasonal variation and origin of particulate organic carbon in the lower Garonne river at La Reole (southwestern France)*, Hydrobiologia, 391 : 113-126.

Villeneuve V., Légaré S., Painchaud J., Warwick V., 2006, *Dynamique et modélisation de l'oxygène dissous en rivière*, Journal of Water Science, 19 : 259-274.

Wood E.D., 1967, *Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite*, Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 47 : 23-31.

V. Annexes

1. Politique HSE

a. Comité Hygiène et Sécurité

La constitution d'un Comité Hygiène et Sécurité (CHS) au sein de l'UMR EPOC est indispensable car l'infrastructure de l'unité est de plus en plus importante, répartie sur trois sites géographiques, avec des activités diverses comportant des risques variés (chimiques, biologiques, physique, etc...) et un nombre de personnels très important (>50). Le CHS a pour objectif d'organiser et de structurer la démarche Hygiène et Sécurité (H&S) au sein de l'unité et de veiller à la formalisation des actions (déjà menées ou à venir). La plupart des demandes H&S sont traitées en internes (environ 80%) avec des moyens propres à l'unité.

Les rôles du CHS sont les suivants :

- analyser le Registre Hygiène et Sécurité servant à définir les tâches pour solutionner les problèmes,
- faire le point sur l'avancée des travaux des ateliers,
- valider les procédures et les solutions proposées par les ateliers thématiques,
- examiner les suggestions,
- faire remonter l'information,
- tenir un calendrier en fixant des objectifs et des échéances,
- analyser un accident, pour trouver la cause et apporter des solutions.

Le CHS se constitue de 5 Ateliers thématiques créés selon les risques identifiés au sein de l'unité :

- Atelier Chimie
- Atelier Biologie (Les risques biologiques sont identifiés au niveau de la station marine d'Arcachon)
- Atelier Physique
- Atelier Terrain
- Atelier Incendie (Infrastructure)
 - Site d'Arcachon
 - Site de Talence-B18
 - Site de Talence-A12

Afin de veiller au respect des règles de sécurité, des Agents Chargés à la Mise en Œuvre (ACMO) sont nommés. L'ACMO au sein d'une organisation H&S doit :

- veiller au bon déroulement des opérations,
- alerter et veiller aux dysfonctionnements des dispositifs de sécurité,
- conseiller la direction pour mener à bien les tâches H&S qui lui sont confiées.

b. Accueil des nouveaux entrants

Lors de l'arrivée d'un nouvel entrant, il lui est remis une pochette d'accueil comprenant :

- Une présentation de l'UMR EPOC + Liste des numéros utiles + Règlement intérieur
- Le guide « Hygiène et Sécurité au CNRS »
- La plaquette « Les nouvelles missions du Poste Central de Sécurité Incendie (PCSI) »
- La plaquette « Le FEU, l'essentiel du premier secours »
- Plan d'évacuation et localisation des principaux dangers et des moyens de secours (fonction du site géographique)
- Un récapitulatif pour organiser une mission terrain
- Un feuillet « Tri des déchets »

- Charte informatique REAUMUR
- Une fiche d'analyse des risques du poste de travail est également à lire et à compléter.

c. **Tri des déchets**

Chaque type de déchet a son propre mode de recyclage.

Pour le verre :

bouteilles de produits chimiques préalablement rincées placées dans les containers dédiés
pipettes Pasteur, petite verrerie sont à stocker dans des bidons + nécessiter de contacter les AMOS pour évacuation

verres ordinaires (boissons, ...) -> à jeter personnellement dans les bornes ad'hoc en ville

Pour les piles, les batteries et les accumulateurs :

- des Mini Batribox sont placées dans les lieux communs à chaque étage

- Il y a un fût de 200 litres où vider ces boites remplies et déposer les batteries de grand volume.

Pour les consommables bureautiques :

Des contenants en carton appelés Atmosph'AIRRE sont placés dans les lieux communs. L'association passe une fois par mois pour récupérer les cartouches d'encre.

Pour les encombrants et les cartons :

Une collecte contractuelle, par une association intermédiaire d'insertion, a lieu tous les jeudis. Cette association récupère les encombrants et palettes.

Pour les ordinateurs et appareils électroniques :

Pour ces déchets des équipements électriques et électroniques, appelés DEE, il faut contacter l'association.

Pour les tubes fluorescents et les métaux ferreux et non-ferreux :

Un point central de collecte se trouve derrière le bâtiment pour chacun de ces déchets

Pour les déchets chimiques :

Pour tous ces déchets (solvants, acides, bases, flacons périmés ou dégradés...), il est nécessaire de contacter Marie-Hélène Castera. Une société extérieure s'occupera de les éliminer

Pour les plastiques:

Il existe un container dédié au rez-de-chaussée

2. AXE 1 du projet ETIAGE: Caractérisation et rôle respectif des apports organiques amont et locaux sur l'oxygénation des eaux de la Garonne estuarienne

a. Contexte scientifique et objectifs de l'étude

Les estuaires macrotidaux européens sont caractérisés par la présence de zones de turbidité maximales (ZTM) en rapport direct avec les longs temps de résidence des eaux et des matières en suspension (MES) dans de tels milieux. Dans ces zones d'accumulation de particules, la fraction organique subit de multiples transformations : les processus hétérotrophiques, très largement dominants, aboutissent à la dégradation de la matière organique (MO) et à des émissions de gaz à effet de serre (Abril et Borges, 2004 ; Frankignoulle et al, 1998), et affectent simultanément les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore (Abril et al, 1999, 2000, 2002 ; Deborde et al, 2006 ; Etcheber et al, 2007). Chaque année, ces phénomènes sont particulièrement marqués de Juin à Septembre- Octobre, lorsque les débits fluviaux sont faibles (stagnation consécutive des eaux dans l'estuaire) et les températures des eaux élevées (Servais et Garnier, 2006). Or, si les eaux résident longuement, il est à craindre que la dégradation de la matière organique entraîne de grandes consommations d'oxygène, qui pourraient provoquer l'apparition de baisses très importantes des taux de saturation en O₂ des eaux. Ceci est observable à Bordeaux, comme cela a été signalé dans la présentation générale de ce programme de recherche et se révèle être un problème écologique majeur dans l'estuaire de la Loire. Tout porte à croire que les apports organiques des effluents de grands centres urbains (Bordeaux, Nantes par exemple) auront, en ces périodes là, un rôle important dans l'équilibre biogéochimique des eaux estuariennes.

Alors que les sources et les estimations des apports organiques fluviaux venus de la Garonne amont ont été soigneusement et longuement étudiés (Etcheber et al, 2007 ; Lemaire et al, 2002; Schäfer et al, 2002; Veyssy et al, 1999), peu de connaissances ont été rassemblées sur la MO d'origine anthropique, notamment urbaine, dans l'estuaire de la Gironde, alors que cette dimension a été prise en compte dans la Seine et son estuaire (Garnier et al, 1998 ; Servais et al, 1998).

Mieux connaître la qualité de la fraction organique liée aux effluents de la Communauté Urbaine de Bordeaux (CUB), ses flux, son comportement dans le milieu aquatique naturel et son impact éventuel sur ce milieu est la finalité de cet axe de recherche.

Les objectifs de l'étude sont alors de répondre aux questions suivantes :

- Quelle part des flux de fraction organique transitant dans les eaux de la Garonne autour de Bordeaux représente celle des rejets de la ville ?
- Quel est le potentiel de dégradation de la fraction organique liée à ces rejets ?
- Quels processus majeurs affectent ce matériel ? Quel rôle joue le bouchon vaseux sur le devenir de ce matériel et, réciproquement, quel impact ont les processus de dégradation de la MO liée aux rejets sur l'oxygénation des eaux de la Garonne ?
- L'utilisation d'une approche moléculaire, à l'aide de traceurs moléculaires ou isotopiques de la MO, pourra-t-elle amener une meilleure compréhension des phénomènes ?
- Peut-on prédire de façon pragmatique les teneurs en O₂ des eaux de la Gironde sur Bordeaux en combinant paramètres hydrosédimentaires, mesures respirométriques et caractéristiques de la fraction organique des eaux ?
- Le comportement du bouchon vaseux en Gironde est-il spécifique, comparé à ceux des bouchons vaseux en Loire et en Seine ? Quelles informations peut-on en déduire concernant la hiérarchie des facteurs forçants influant sur les teneurs en O₂ ?

La mise à disposition de ces connaissances sera un outil précieux pouvant aider à la gestion des émissions d'effluents en Garonne sur le site de la CUB.

Précisons enfin que cet axe 1 de recherche est directement lié avec les quatre autres : les comportements des micropolluants organiques (classiques ou dit « émergents ») et métalliques, ainsi que l'ensemble de la biota (dans son comportement global, y compris sa réponse à ces contaminants) sont, à des degrés divers, liés à la qualité de l'eau estuarienne, dont son taux d'oxygénation. De plus, les eaux estuariennes présentes autour de la CUB en période de faibles débits peuvent être définies comme

une masse d'eau fortement modifiée, pour laquelle il faudra chercher à atteindre un bon potentiel écologique, qu'il importe de définir, les données acquises ici devant aider à cette tâche.

Références :

- Abril G., Etcheber H., Le Hir P., Bassoullet P., Boutier B. & Frankignoulle M. (1999). Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnology and Oceanography*, 44: 1304-1315.
- Abril G., Riou S., Etcheber H., Frankignoulle M., De Wit R. & Middelburg J.J. (2000). Transient, tidal timescale Nitrogen transformations in an estuarine turbidity maximum-fluid mud system (The Gironde, France). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 50: 703-715.
- Abril G., Nogueira M., Etcheber H., Cabeçadas G., Lemaire E. & Brogueira M.J. (2002). Behaviour of organic carbon in nine contrasting European estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 54: 241-262.
- Abril G. and Borges A.V. (2004). Carbon dioxide and methane emissions from estuaries. In *Greenhouse Gas Emissions: Fluxes and Processes. Hydroelectric Reservoirs and Natural Environments*. A. Tremblay, L.
- Varfalvy, C. Roehm and M. Garneau (Eds) Environmental Science Series, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Pp. 187-207.
- Deborde J., Anschutz P., Chaillou G., Etcheber H., Commarieu M.V. & Abril G. (2006). The dynamics of phosphorus in turbid estuarine systems: Example of the Gironde estuary (France). *Limnology and Oceanography*, 52: 862-872.
- Etcheber H., Taillez A., Abril G., Garnier J., Servais P., Moatar F. & Commarieu M.-V. (2007). Particulate organic carbon in the estuarine turbidity maxima of the Gironde, Loire and Seine estuaries: origin and lability. *Hydrobiologia*. 588: 245-259.
- Frankignoulle M., Abril G., Borges A., Bourge I., Canon C., Delille B., Libert E. & Théate J.M. (1998). Carbon dioxide emission from European estuaries. *Science*, 282: 434-436.
- Garnier J., Billen G., Hanset P., Testard P. & Coste M. (1998). Développement algal et eutrophisation. Chapitre 14. In Meybeck M. et al. (eds), *La Seine en son bassin Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé*. Elsevier, Paris, Pp. 593-626.
- Lemaire E., Abril G., De Wit R. & Etcheber H. (2002). Phytoplankton pigments in nine European estuaries: implications for an estuarine typology. *Biogeochemistry*, 59: 5-23.
- Schäfer J., Blanc G., Lapaquellerie Y., Maillet N., Maneux E. & Etcheber H. (2002). Ten-years observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Mar. Chem.*, 79 : 229-242.
- Servais P., Billen G., Garnier J., Idlafkih Z., Mouchel J.M., Seidl M. & Meybeck M. (1998). Développement algal et eutrophisation. Chapitre 14. In Meybeck M. Et al. (eds), *La Seine en son bassin Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé*. Elsevier, Paris. Pp. 483-529.
- Servais P. and Garnier J. (2006). Organic carbon and bacterial heterotrophic activity in the maximum turbidity zone of the Seine estuary (France), *Aquat. Sci.*, 68: 78-85.
- Veyssy E., Etcheber H., Lin R.G., Buat-Menard P. & Maneux E. (1999). Seasonal variation and origin of Particulate Organic Carbon in the lower Garonne River at La Reole (southwestern France). *Hydrobiologia*, 391: 113-126.

b. Actions de recherche et résultats attendus

Action 1 : Etude de la charge organique des effluents de la CUB arrivant en Gironde.

L'objectif de cette action est de mesurer la charge organique des effluents émis par la CUB et d'en connaître son caractère labile ou réfractaire, le panel des échantillons analysés devant être complet :

effluents non traités, traités, de surverses ou d'orages, caractérisés par des contenus organiques très différents, des échantillons d'eaux de pluie pouvant même être envisagés à titre comparatif.

Les attendus de cette action sont:

- la mise à disposition d'une banque de données permettant de mieux cerner la variabilité des charges organiques émises (à travers les paramètres C, N et P) et de leur qualité (potentiel de dégradation) ;
- l'estimation des flux organiques parvenant à la Garonne par croisement des volumes émis d'effluents et de leur contenu en MO, permettant de les comparer aux flux de MO fluvio-estuarienne naturelle.

De telles données seront très utiles pour la mise en place de la stratégie la plus efficace possible d'émissions d'effluents en période critique (mois d'étiage en été), caractérisée par de fortes charges organiques et de longs temps de résidence des eaux autour de la CUB.

Action 2 : Effet du bouchon vaseux sur le devenir de la fraction organique des effluents de la CUB.

Connaître les quantités de MO des effluents et leur qualité ne suffit pas si l'on veut prévoir leur devenir et leur impact sur l'oxygénation des eaux dans l'environnement spécifique d'un estuaire macrotidal. Il est nécessaire de comprendre le rôle de la zone à très forte turbidité (bouchon vaseux) sur de tels apports et de pouvoir préciser l'évolution de ces derniers dans ce type de milieu.

Les objectifs sont alors :

- de préciser le rôle du bouchon vaseux en tant qu'accélérateur ou inhibiteur de la dégradation du matériel organique associé aux effluents ;
- de mesurer les cinétiques de dégradation de la MO particulaire et dissoute en présence de particules du bouchon vaseux en différentes conditions saisonnières (effets de la température et de la turbidité).

Les résultats attendus sont essentiellement centrés sur la détermination de l'effet auto-épurateur éventuel du bouchon vaseux, en fonction des saisons.

De telles connaissances seront des outils précieux pour l'adaptation optimale de l'intensité de traitement des effluents avant leur rejet en milieu naturel (problème de réduction des rejets organiques).

Action 3 : Impact des apports organiques des effluents sur l'oxygénation des eaux de la Gironde au niveau de la CUB et relations avec les apports organiques des effluents.

En milieu aqueux, tous les processus de dégradation de la MO interfèrent sur les teneurs en O₂ des eaux : minéralisation du C en CO₂, phénomènes de nitrification/dénitrification entre autres. Il importe de pouvoir chiffrer les appels d'O₂ générés par ces processus, essentiellement dans les périodes estivales du fait que: les activités bactériennes y sont fortes en liaison avec les températures élevées des eaux, les temps de résidence des eaux et des particules devant Bordeaux sont très longs. L'impact de ces effluents est attendu comme devant y être maximal, pouvant alors perturber migration et dévalaison des populations de poisson.

Les objectifs de cette action sont :

- de mesurer l'impact de la MO particulaire et dissoute des effluents sur l'oxygénation des eaux ;
- de définir les processus majeurs en jeu et les facteurs déterminants (hydrodynamique-dilution/temps de résidence des eaux ; température des eaux ; apports organiques) et la temporalité des phénomènes d'anoxie ;
- de pouvoir prédire l'oxygénation des eaux, prenant en compte l'ensemble de ces facteurs.

Les attendus sont alors :

- la connaissance des facteurs et de la temporalité des phénomènes d'anoxie ;
- l'obtention d'un modèle permettant de retrouver les valeurs mesurées et de prédire l'évolution future de l'oxygénation des eaux dans des schémas où hydrodynamique et apports organiques prévisibles sont pris en compte.

Ici encore, ces connaissances seront une aide à une gestion efficace des émissions, ne serait-ce que par la prévision des baisses préoccupantes de taux de saturation d'oxygène des eaux, durant lesquelles il importe de réduire au maximum les rejets dans la Garonne.

Action 4 : Comparaisons avec d'autres systèmes estuariens.

Se pose alors le problème de savoir si les résultats obtenus en Gironde peuvent être confirmés dans d'autres systèmes estuariens similaires.

L'application de l'approche pratiquée en Gironde à des échantillons d'eau de bouchon vaseux d'autres estuaires macrotidaux (Loire, Seine) est rendue possible grâce aux rapprochements en cours entre les chercheurs des programmes GIS ECOBAG (Gironde), GIP Loire et Seine Aval.

De telles comparaisons doivent permettre de beaucoup mieux définir la hiérarchie des facteurs forçants à la base des diminutions préoccupantes d'oxygénation des eaux, facteurs sur lesquels il faudra jouer s'il était nécessaire un jour de changer l'état des choses.

Les attendus sont alors :

- de cerner l'impact de la spécificité de la nature des bouchons vaseux sur l'évolution de la fraction organique des effluents et donc sur l'oxygénation des eaux ;
- de vérifier si le modèle d'oxygénation des eaux à vocation prédictive proposé en Gironde peut être applicable à d'autres sites (Nantes, par exemple), cet exercice permettant de ressortir les facteurs forçants dominants des processus en jeu (hydrodynamique, nature des apports, etc...).

Action 5 : Etude du devenir des effluents organiques : utilisation des traceurs isotopiques et moléculaires.

Etudier le comportement à plus long terme (rémanence) de la MO d'origine anthropique dans l'estuaire de la Gironde, vise à répondre aux questions suivantes :

- quelles sont les cinétiques de dilution et de dégradation de la MO particulière issue des effluents ?
- quelle proportion de la MO domestique est diluée et/ou minéralisée in fine dans l'estuaire ?
- jusqu'où, en aval dans l'estuaire, les effluents de Bordeaux sont-ils observables ?

Pour remplir ces objectifs, il est nécessaire de descendre à des échelles moléculaires de la fraction organique et d'utiliser des outils permettant de distinguer la MO « anthropique » de celle présente naturellement dans le milieu aquatique (MO pédologique, phytoplancton, etc...). Les marqueurs isotopiques et lipidiques sont alors des outils particulièrement bien adaptés pour répondre à ces questions.

Les premiers (isotopes stables du carbone et de l'azote) peuvent aider à définir les sources si des signatures isotopiques bien différentes apparaissent entre apports organiques anthropiques et naturels. De plus, certains biomarqueurs tels que des stérols (e.g. coprostérol, cholestérol) ou des hydrocarbures sont spécifiques de la MO anthropique. La dégradation progressive de ces molécules dans le milieu aquatique donne naissance à d'autres allomères qui témoignent alors de présence de MO anthropique à l'état dégradé. L'étude de la dilution et de la dégradation de ces molécules permettra ainsi de suivre spécifiquement le devenir de la MO anthropique le long du continuum aquifère.

Les attendus de cette action sont:

- la caractérisation isotopique et élémentaire de la matière organique particulière issue des effluents et le suivi de la rémanence plus ou moins prononcée de la MO anthropique dans les eaux ;
- l'estimation des cinétiques de dilution et de transformation de la matière organique particulière anthropique associée aux effluents, ce qui renseignera sur les processus mis en jeu.

Précisons enfin que cet AXE 1 de recherche est fortement lié à l'ensemble des quatre autres axes du programme :

- concernant les micropolluants organiques et métalliques, l'oxygénation des eaux influe sur leur comportement ;
- concernant les populations biologiques, elles réagissent directement à ce paramètre, même dans leur comportement migratoire.

3. La station d'épuration Clos de Hilde

Fonctionnement de la STEP

Plusieurs prélèvements ont été effectués sur une des plus grosses stations d'épuration de la Communauté Urbaine de Bordeaux (CUB), à savoir Clos de Hilde. La STEP a été construite en 1994.

Elle est située sur la commune de Bègles, à environ 200 m de la Garonne. Cette unité de traitement est exploitée par la Lyonnaise des Eaux, délégataire du service public de la CUB. La capacité totale de traitement est d'environ 410 000 EH, avec un volume moyen journalier proche de 100 000 m³/jour. Plus de 1 300 km de réseau cumulé se trouve raccordé à la STEP, dont 87 % en séparatif (raccordement eaux usées domestiques différent du raccordement des eaux pluviales) et 13 % en unitaire (eaux usées et pluviales transitant dans une même canalisation).

Elle dessert la rive gauche sud-ouest de l'agglomération (Bègles, Bordeaux-sud, Gradignan, Mérignac, Pessac, Talence et Villenave-d'Ornon), mais également une partie de la rive droite (Bouliac, Cenon, Floirac) (Figure 14).

Figure 14 : Carte représentant la limite de la CUB (en gris) et la zone d'influence de la STEP (en rouge).



Les différents traitements pratiqués dans la STEP sont :

- le prétraitement
- le traitement de l'eau,
- le traitement des boues,
- le traitement de l'air.

Pour cette étude, nous nous sommes intéressés uniquement à la partie du traitement de l'eau, qui a un impact direct sur la Garonne. Les étapes des traitements réalisés dans cette station sont répertoriées dans le Tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6 : Traitements réalisés à la station d'épuration Clos de Hilde

Prétraitement	Traitements physico-chimiques	Traitement biologique	Pollutions traitées
<ul style="list-style-type: none"> •Relevage des eaux par vis •Pré-dégrillage et fin dégrillage •Désuilage et dessablage 	<ul style="list-style-type: none"> •Coagulation/Floculation •Décantation primaire 	<ul style="list-style-type: none"> •Biofiltration 	<ul style="list-style-type: none"> •Carbonée (COP+++ et COD+) •Phosphatée (+++) •Azotée (+)

+++ : très efficace ; ++ : efficace ; + : peu efficace

Une fois les eaux clarifiées, elles subissent un ultime traitement biologique par biofiltration. Dans ce type de procédé, les matières particulaires en suspension s'accumulent à la surface d'une structure

microporeuse appelée « biolite », destinée à fixer les bactéries. Un biofilm se développe alors à la surface du matériau filtrant. Les microorganismes constituant le biofilm participent à l'élimination de la pollution soluble présente dans l'eau à traiter.

Les conditions d'exploitation des biofiltres sont en condition aérobie, un apport d'oxygène sous forme de bullage est réalisé en continu. Afin d'éviter un colmatage du biofiltre par un excès de matières accumulées sur le biolite. Le biofiltre doit être lavé de manière plus ou moins régulière (tous les 7 000 m³ environ). Pour ces raisons, le système de biofiltration est un procédé relativement sensible et nécessite une attention particulière.

Points de prélèvements

Plusieurs prélèvements instantanés ont été effectués à CH, en entrée de station (CHE) et après le traitement biologique (CHET). Les zones de prélèvement et les processus de traitements sont représentés sur la Figure 15 :

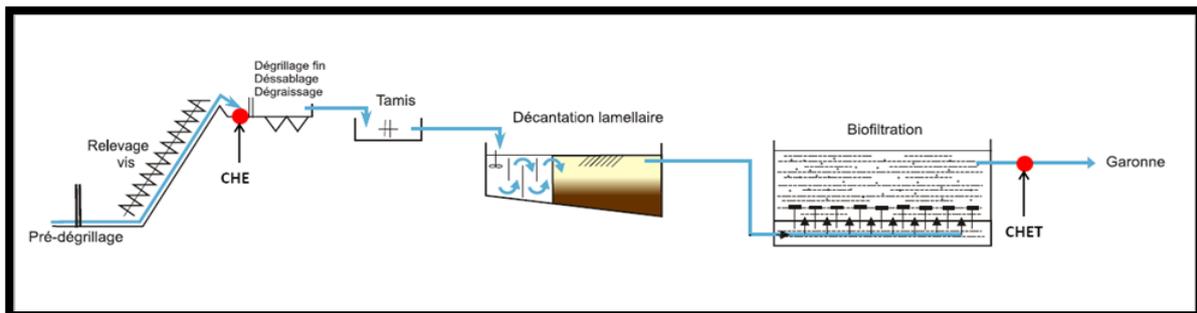


Figure 15 : Processus de traitement de l'eau et les différents points de prélèvements de CH

Pour chaque prélèvement, entre 2 et 4 L ont été récupérés à l'aide d'un seau. Chaque échantillon instantané est caractéristique de la station à l'instant « t ». De plus, des prélèvements instantanés ont déjà été réalisés à différents moments de la journée (hors épisodes pluvieux) traduisant une variabilité intra-horaire non négligeable.

a. Aparté sur la déphosphatation en station d'épuration

La déphosphatation physico chimique

Elle est adaptée aux petites installations. C'est la méthode la plus employée en France. Ce traitement consiste à faire précipiter les phosphates par injection de sels de fer, de sels d'aluminium ou de chaux. On obtient alors des précipités insolubles de phosphates métalliques. L'avantage de cette méthode est de ne pas dépendre d'un processus biologique particulier. C'est un processus simple à mettre en place, insensible à la température et ajustable en fonction des fluctuations occasionnelles de la concentration en phosphates. Par contre, elle représente une surproduction de boues comprise entre 15 % et 40 % par rapport à la production de boues issues d'un seul processus biologique. (Legros A., et Villain N.)

La déphosphatation biologique

C'est un traitement plus adapté aux grandes installations.

Le stockage de l'énergie par une bactérie se traduit par un appauvrissement du milieu en phosphore. Parallèlement, quand la concentration en oxygène dissous est trop faible, alors les bactéries relarguent du phosphore. Donc le traitement biologique se fait en alternant des phases aérobies et anaérobies. Le bassin biologique possède donc deux zones qui se succèdent, l'une en anéarobiose et l'autre en aérobiose. Attention, une trop forte concentration en nitrates peut inhiber la déphosphatation au dépend de la dénitrification.

Cette technique est très employée dans des installations de capacité supérieure à 10000 équivalent habitant (E.H) mais nécessite un suivi rigoureux des paramètres tels que la température et la concentration en oxygène dissous. Elle est souvent couplée à la déphosphatation physico-chimique pour atteindre le rendement désiré. (Legros A., et Villain N.)

4. Matériels et méthodes

b. Mesure sur la fraction solide

Mesure des Matières en Suspension (MES), (Coynel et al., 2002)

Les échantillons sont prélevés dans des flacons en propylène. Puis, les prélèvements sont filtrés sous vide sur des filtres de type Whatman GF/F en fibre de verre de porosité nominale de 0,70 µm. Ils ont été au préalable brûlés dans un four à 500°C afin d'éliminer toute trace organique susceptible de fausser la pesée et la mesure en carbone organique particulaire (COP). En effet, ces derniers sont utilisés à la fois pour la mesure des MES et du COP. Sinon, les filtres Durrieu peuvent être utilisés si la mesure des MES est l'unique but de la filtration.

La filtration doit être réalisée rapidement pour éviter que la matière organique ne se dégrade trop. Une fois filtré, le filtre pré-pesé (P0) est mis à l'étuve à 50°C. Une fois sec, le filtre (P1) est de nouveau pesé. Lors de la filtration, le volume (V) utilisé est noté. En général, les volumes vont de 40 mL pour les eaux les plus chargées à 200 mL pour les eaux en sortie de STEP.

La concentration en MES est donnée par la formule suivante :

$$[\text{MES}] \text{ mg/L} = (\text{P1} - \text{P0}) / \text{V}$$

Carbone organique particulaire (COP), (Coynel et al., 2002)

Le Carbone Organique est mesuré par un analyseur C/S (Carbone-Soufre) de type LECO C-S 125. Le dosage du LECO est basé sur l'absorbance dans le spectre infra-rouge du CO₂ formé par la combustion de l'échantillon. La source infrarouge est constituée d'un filament en nichrome porté à une température approximative de 850°C. Le CO₂ absorbe à une longueur d'onde bien déterminée (4.3 µm). Un filtre placé sur le détecteur sélectionne alors cette longueur d'onde. L'énergie infra-rouge est absorbée lorsque le gaz passe dans la cuve de mesure. La différence d'absorption est proportionnelle à la teneur en gaz. Le pourcentage d'erreur est inférieur à 5%.

Protocole

Avant analyse, on effectue une décarbonatation des échantillons pour éliminer la partie inorganique du carbone (les carbonates) et conserver seulement la partie organique. La mesure est réalisée directement à partir des filtres utilisées pour la mesure des MES. Les filtres sont imbibés d'HCl 2N à 60°C, puis sont pliés et sont déposés dans des creusets en céramique. Après 24h sur une plaque chauffante, les deux accélérateurs de combustion, à base de fer et de LECOSEL sont ajoutés avec des cuillères calibrées. L'analyse se déroule comme indiqué précédemment.

c. Mesure sur la fraction dissoute

Carbone Organique Dissous (COD), (Coynel et al., 2002)

Le COD est déterminé à l'aide d'un analyseur Shimadzu TOC 5000 (Figure 16). Dans cette méthode, la concentration en carbone organique de l'échantillon (COD) est tout d'abord déterminée en éliminant le carbone inorganique, présent dans l'échantillon, après utilisation d'HCl 2N et élimination du CO₂ formé par bullage sans oxygène.

Protocole

Le dosage comprend quatre étapes:

- l'échantillon est prélevé par une micro-seringue automatique (ou manuellement) puis introduit via une vanne 4 voies dans un tube en quartz rempli de catalyseur de platine et placé à l'intérieur d'un four chauffé à 680°C ;

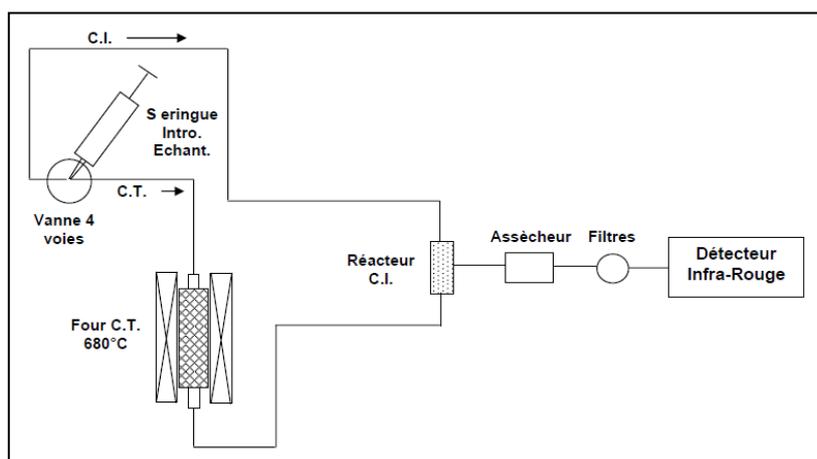


Figure 16 : Schéma de fonctionnement de l'analyseur Shimadzu

- le dioxyde de carbone issu de la combustion est alors purgé par le gaz vecteur (air ou O₂) puis transféré à l'aide de ce même gaz vecteur vers le détecteur infra rouge (IRND ou Infra Rouge Non Dispersif), via un réacteur, un système d'assèchement, un piège à chlorure et un filtre à poussières montés en série. Comme dans le cas de la méthode par oxydation chimique, la réponse du détecteur est visualisée sous la forme d'un pic dont la surface est proportionnelle à la concentration en carbone de l'échantillon (Fig. 3)
- Le détecteur intègre l'aire sous le pic qui est proportionnelle à la concentration en carbone organique (CO) de l'échantillon.
- Le logiciel de commande de l'appareil calcule alors la concentration en carbone organique dissous (COD) grâce à la droite d'étalonnage établie précédemment.

Le pourcentage d'erreur est de 2%.

Mesure des phosphates (Murphy and Riley, 1962)

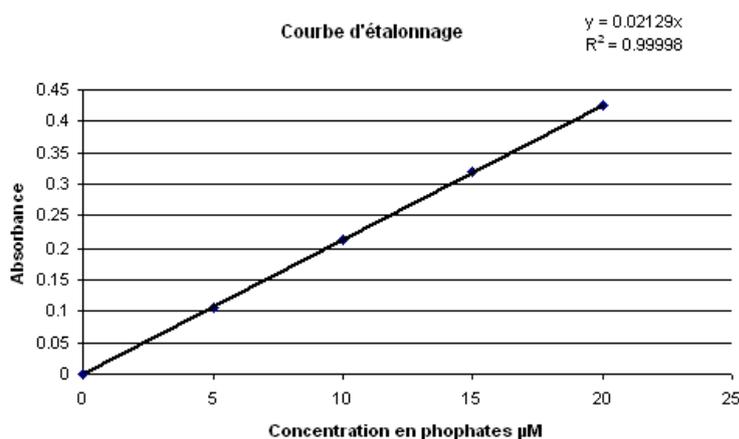
Principe

Les ions phosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium, en milieu acide et en présence d'antimoine, pour former un complexe que l'on réduit par l'acide ascorbique en complexe bleu. L'intensité du bleu formé est proportionnelle à la concentration en phosphates et peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage d'erreur de cette méthode est inférieur à 5%.

Protocole

Une gamme d'étalonnage est réalisée de 5 à 25 µmol/L. 2 mL d'échantillon sont ensuite placés dans des cuves pour spectrophotomètre auxquels sont ajoutés 200µL de réactif composé de molybdate d'ammonium, d'acide sulfurique 2.5 M, d'oxytarte de potassium et d'antimoine et d'acide ascorbique. Après 5 minutes d'attente, l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 885 nm. Les concentrations sont ensuite déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie à l'aide des étalons.

Gamme d'étalonnage	
Conc (µM)	Abs
0	0
5	0.106
10	0.214
15	0.32
20	0.425
25	0.465



Mesure de l'ammonium par FIA (Hall and Aller, 1992)

Principe

Le dosage de l'ammonium est basé sur une mesure de conductivité en FIA. L'ammonium présent est transformé en ammoniac gazeux en présence d'une solution basique de soude. Sous cette forme, il peut diffuser au travers d'une membrane en téflon perméable aux gaz. Il est ensuite retransformé en ions dissous à l'aide d'une solution légèrement acidifiée qui circule de l'autre côté de la membrane (Figure 17). La conductivité de la solution acide est mesurée en continu et lorsqu'elle est chargée en ions NH_4^+ , elle diminue. Cette différence est proportionnelle à la concentration en ammonium. Cette technique de mesure s'applique à des concentrations allant d'environ 10 à 1000 μM . Pour les faibles concentrations, le dosage se fera par colorimétrie. Le pourcentage d'erreur avec cette méthode est inférieur à 8%.

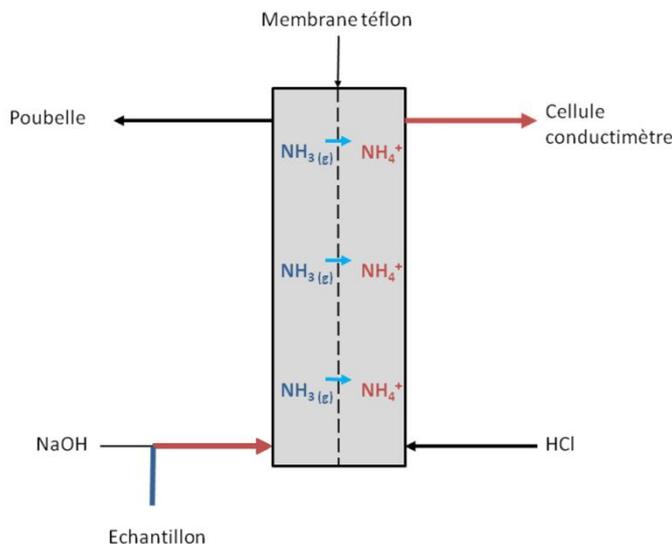
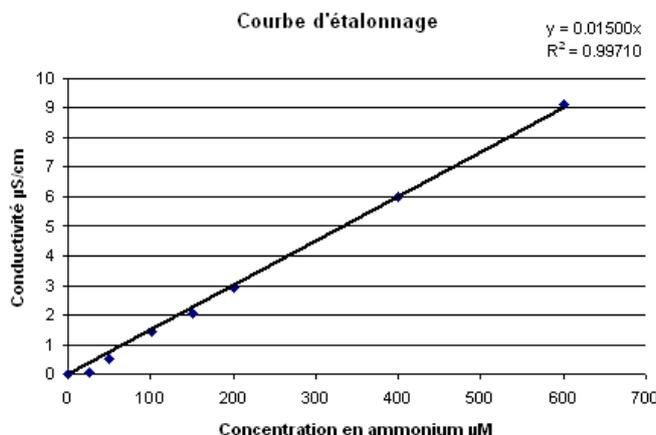


Figure 17 : Schéma de principe de l'analyse des ions ammonium

Protocole

Une gamme d'étalonnage doit être réalisée au préalable. L'échantillon ou l'étalon est injecté dans une boucle, préalablement rincée par ce dernier, et qui est connectée au circuit via un système de valves. La conductivité est mesurée en continu. Les différences de conductivité sont relevées et les concentrations sont déterminées à l'aide de la courbe d'étalonnage.

Gamme d'étalonnage			
[C] μM	LdB	Abs lu	Abs finale
0	26.69	26.69	0
25	24.74	24.67	0.07
50	24.62	24.11	0.51
100	25.06	23.63	1.43
150	25.05	22.99	2.06
200	25.03	22.07	2.96
400	24.9	18.94	5.96
600	25.35	16.22	9.13



Mesure de l'ammonium par colorimétrie (Koroleff, 1969 ; Grasshoff and Johansen, 1972)

Principe

En milieu légèrement basique, l'ammonium forme une monochloramine avec de l'acide dichloroisocyanurique. Cette dernière réagit avec le phénol pour former un composé de couleur bleu

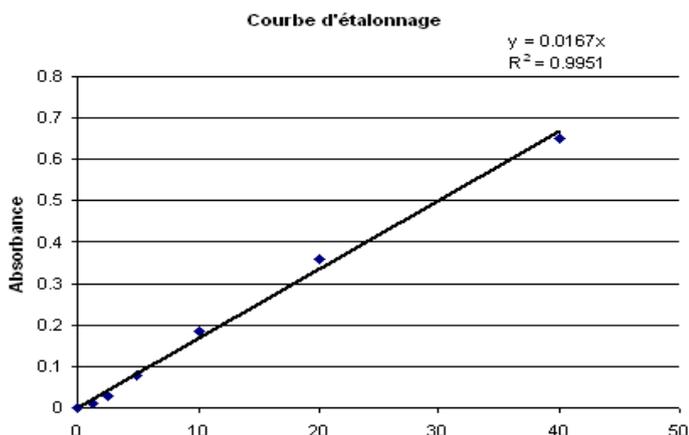
d'indo-phénol dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en ammonium ; la réaction est accélérée par le nitroprussiate. Cette technique de mesure a été appliquée pour le dosage de faibles concentrations, telles que rencontrées dans le bouchon vaseux. Le pourcentage d'erreur avec cette méthode est inférieur à 5%.

Protocole

Comme toute méthode spectrophotométrique, il est nécessaire d'établir une gamme d'étalonnage adaptée aux concentrations rencontrées. Ici, elle ira de 1.25 à 40 $\mu\text{mol/L}$.

Puis dans une cuve, les réactifs sont introduits dans l'ordre suivant : 60 μL de solution de phénol-prussiate, 2 mL d'échantillon ou étalon et enfin 60 μL de solution de dichloroisocyanurate. Après 8 heures d'attente dans l'obscurité, l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 630 nm. Les concentrations sont déterminées à l'aide de la courbe d'étalonnage.

Gamme d'étalonnage	
[C] μM	Abs
0	0
1.25	0.009
2.5	0.029
5	0.077
10	0.186
20	0.361
40	0.651



Mesure des nitrites (Strickland and Parsons, 1972)

Principe

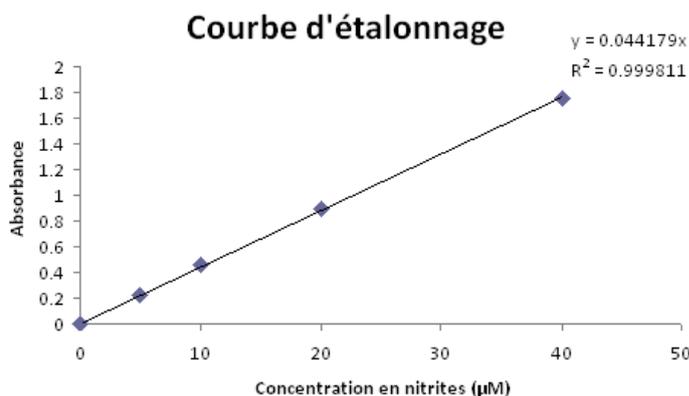
En milieu acide ($\text{pH} < 2$), les ions nitrites forment de l'acide nitreux HNO_2 qui réagit avec de la sulfanilamide pour former un complexe diazoïque. En présence de N-Naphtyl-1-éthylène diamine, il se forme un complexe rose dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites. Le pourcentage d'erreur avec cette méthode est inférieur à 5%.

Protocole

Une gamme d'étalonnage est réalisée pour établir la courbe d'étalonnage qui servira à déterminer les concentrations des échantillons. La gamme s'étend de 5 à 40 $\mu\text{mol/L}$.

2 mL d'échantillon sont ensuite introduits dans la cuve pour le spectrophotomètre auxquels 40 μL de solution de sulfanilamide sont ajoutés. 8 minutes après, 40 μL de solution de N-Naphtyl-1-éthylène diamine sont à leur tour additionnés. Après 15 minutes d'attente, l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 543 nm.

Gamme étalon	
[C] μM	Abs
0	0
5	0.222
10	0.453
20	0.896
40	1.758



Mesure des nitrates + nitrites (Wood E.D, 1967 ; Anderson L., 1979)

Principe

La méthode utilisée est celle de l'injection en flux continu (FIA pour Flow Injecting Analysis) (Figure 18). L'échantillon, tamponné par une solution de chlorure d'ammonium, passe dans une colonne de cadmium traitée au cuivre qui sert à réduire les nitrates en nitrites. C'est donc la somme des nitrites présents dans l'échantillon + ceux formés par la réduction des nitrates, qui est mesurée à l'aide des mêmes réactifs que ceux indiqués dans la section précédente. Le pourcentage d'erreur avec cette méthode est inférieur à 10%.

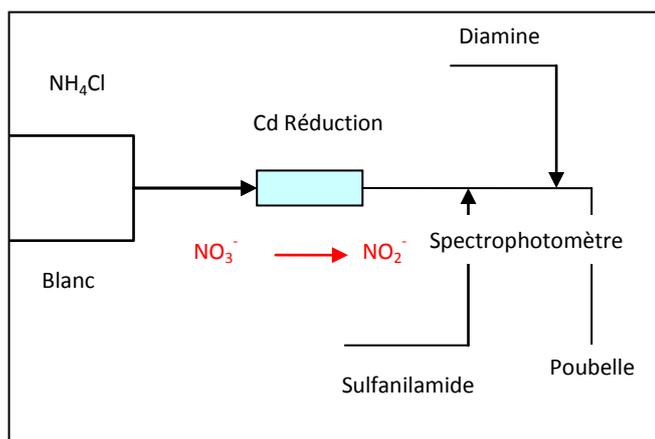
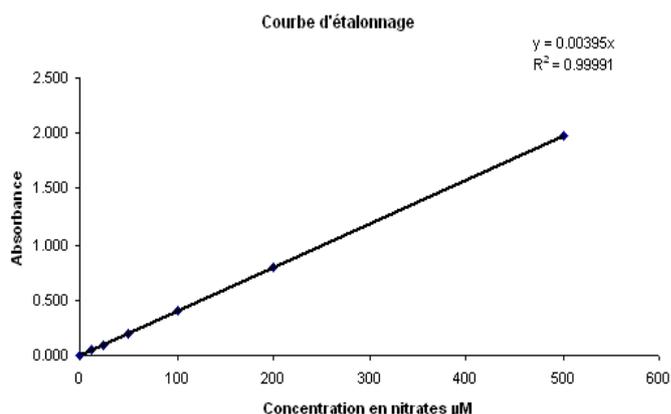


Figure 18 : Schéma de principe de l'analyse des nitrates

Protocole

Comme pour les autres mesures, une gamme d'étalonnage des nitrates est réalisée, allant de 12.5 à 500 $\mu\text{mol/L}$. L'échantillon ou l'étalon est injecté dans une boucle, préalablement rincée, et qui est connectée au circuit via un système de valves. L'absorbance du complexe violet est mesurée en continu par spectrophotomètre à 543 nm. L'absorbance maximale est relevée.

Gamme d'étalonnage			
[C] μM	LdB	Abs lu	Abs finale
0	0.000	0.000	0.000
12.5	0.000	0.048	0.048
25	0.000	0.094	0.094
50	0.000	0.195	0.195
100	0.000	0.402	0.402
200	-0.001	0.802	0.803
500	-0.001	1.969	1.970



Mesure de la concentration en Oxygène

Pour mesurer la quantité d'oxygène des eaux brutes et traitées, on utilise la sonde à oxygène.

Sonde à Oxygène

Calibration

Avant de commencer les mesures, il est nécessaire de vérifier que la sonde est bien étalonnée. La sonde est positionnée à 1 mm d'une éponge mouillée dans un flacon de 60 mL. A l'équilibre, on règle le pourcentage d' O_2 à 100%, grâce au bouton « do cal » de l'appareil.

Mesure

Les échantillons sont placés toute la nuit dans le laboratoire avec un bulleur et dans le noir grâce à du papier d'aluminium. Ce mode de conservation à l'abri de la lumière et avec un système de bullage permet d'avoir une concentration en oxygène proche ou égale à 100 %.

Le lendemain, le bullage est stoppé et les échantillons d'eau sont transvasés dans des flacons de 60 mL. Ces derniers sont ensuite placés à l'obscurité grâce à du papier d'aluminium. Cependant, 3 flacons d'eau sont conservés, afin de mesurer la concentration en O₂ au temps « t₀ ».

Pour mesurer cette concentration, on dispose un agitateur dans le fond du flacon, puis sans attendre la sonde est placée dans l'échantillon d'eau. On la place directement afin d'éviter un apport supplémentaire en oxygène lors de l'ouverture du flacon, et ainsi éviter toute erreur de pourcentage réel d'O₂ présent dans l'eau. La sonde mesure précisément la valeur en oxygène.

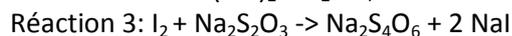
Dosage par le Winkler (Abril G., 2008)

Le dosage de l'oxygène par la méthode classique Winkler demeure la méthode de référence. Cette méthode optimisée par Carpenter (1965) est préconisée par l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

Principe

Le dosage de l'oxygène par la méthode Winkler consiste à ajouter à l'échantillon en excès une base forte contenant de l'iode (solution 1 : iodure de sodium 3M / hydroxyde de sodium 8M) et une solution de manganèse divalent (solution 2 : chlorure de manganèse 3M), ce qui mène à la précipitation quantitative d'hydroxyde de manganèse Mn(OH)₂ au sein de la solution (réaction 1a).

L'oxygène dissous dans l'échantillon oxyde alors une quantité équivalente d'hydroxyde de manganèse divalent en un hydroxyde d'état de valence supérieur : MnO(OH)₂ (réaction 1b). La déstabilisation de ce complexe par l'acide sulfurique concentré (solution 3 : H₂SO₄ 10M) et en présence de l'excès d'iodure de sodium introduit avec la solution 1 entraîne la formation d'iode en quantité proportionnelle à celle du complexe (réaction 2). On dose ensuite l'iode produit, avec une solution étalonnée de thiosulfate de sodium (réaction 3).



Protocole

Fixation de l'oxygène

La préparation des flacons est la même que pour l'analyse par la sonde. Dans les échantillons conservés pour le t₀, 500 µL de chaque solution 1 et 2 sont injectés juste sous la surface. L'ajout des solutions 1 et 2 est réalisé à chaque temps d'incubation. Le flacon est bouché sans emprisonner d'air et en prenant garde à ce que le précipité reste dans les 2/3 inférieurs du flacon. A ce stade, on peut conserver l'échantillon environ 24h. De ce fait, les échantillons t₀, t₁ et t₂ peuvent être analysés en même temps.

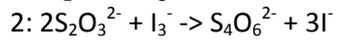
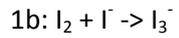
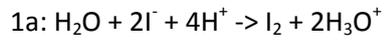
Dissolution du précipité d'hydroxyde de manganèse

Quand le précipité s'est rassemblé au fond, 500 µL de solution 3 peuvent être ajoutés. Cette étape doit être très rapide pour éviter l'évaporation de l'iode formé. On rebouche en faisant attention qu'il n'y ait pas de bulles et le flacon est agité jusqu'à dissolution complète du précipité. Un bouchon plongeur est ensuite introduit pour évacuer un certain volume d'échantillon afin de permettre l'ajout du réactif pendant le dosage. La colerette doit être bien essuyée avant le retrait du plongeur, pour ne pas que le volume analysé soit faussé.

Titration

Le complexe de manganèse est ensuite dosé par une solution de thiosulfate à 0.0085 mol/L environ. La solution de titrage est préalablement dosée par référence à l'iodate de potassium.

5 mL de KIO_3 sont introduits dans un flacon de 60 mL, suivis par 30 mL d'eau milliQ environ. 500 μL d' H_2SO_4 viennent compléter la préparation initiale (réaction 1a). Juste avant le dosage 500 μL de solution 1 sont ajoutés (réaction 1b). La solution est dosée par la solution de thiosulfate par un titrateur automatique (Réaction 2).



5. Généralités sur les nitrates et les phosphates

a. Les phosphates (Banas et al., les phosphates)

Composition chimique

Naturellement, sont présents sous forme de phosphates :

- les orthophosphates (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}), qui sont des sels minéraux de l'acide phosphorique. Cette partie peut être appelée « phosphore réactif » ;
- les polyphosphates (ou phosphates condensés), qui correspondent à des molécules plus complexes de phosphates minéraux. On parle aussi de « phosphore hydrolysable » dans l'acide ;
- les phosphates organiques comme dans la matière vivante ou morte (animaux, végétaux, etc...).

Lors de la détermination des concentrations en phosphates dans une matrice quelconque, la teneur en phosphates est exprimée en grammes de PO_4 , de P_2O_5 ou de P par litre.

D'où : $1\text{g/L de } \text{PO}_4 = 0.747\text{ g/L de } \text{P}_2\text{O}_5 = 0.326\text{ g/L}$.

Sources de phosphate

Contrairement à l'azote, les composés gazeux du phosphore sont presque inexistants dans l'atmosphère. Le phosphore est naturellement présent dans certaines roches. En absence d'intervention humaine, les eaux de surface contiennent très peu de phosphates (<0.025 mg/L).

Le phosphore est un élément minéral nutritif essentiel pour les végétaux. Les orthophosphates dissous dans l'eau sont biodisponibles, c'est-à-dire, qu'ils sont utilisables pour la croissance des végétaux. Lors de la décomposition de la matière organique phosphorée, les bactéries présentes dans les eaux, les sédiments et les sols la transforment en phosphates minéraux dissous selon le processus de minéralisation. Les phosphates sont moins lessivables que les nitrates. Ils s'adsorbent facilement aux particules de sol, de sédiment et aux particules en suspension pour former des complexes organiques ou minéraux.

Les rejets d'eaux domestiques constituent la principale source de pollution des eaux par les phosphates. En effet, ils sont utilisés comme additifs dans les lessives ou comme anticalcaires par exemple. En France, ces rejets représentent 70000 tonnes par an, dont 51% d'origine urbaine. La fertilisation des terres agricoles est, elle-aussi, à la source d'une pollution diffuse des eaux.

Les sources spécifiques de phosphates dans l'habitat

Les aliments contiennent naturellement du phosphore.

En Europe, il est estimé qu'un individu engendre un rejet de 4g de phosphore par jour. Les eaux usées domestiques ont des teneurs en phosphore généralement comprises entre 10 et 25 mg/L. Les phosphates excrétés par l'urine représentent environ 25 à 50% des rejets ménagers de phosphore. Dans les urines, le phosphore est présent majoritairement sous forme de phosphates inorganique. Dans les eaux usées, la part de ces rejets humains ne représente que 30 à 50% du P total, le reste provenant des produits de nettoyage.

La déphosphatation des eaux usées nécessite des traitements coûteux et rarement employés. Les traitements primaire, secondaire et tertiaire ont des rendements d'extraction du P de respectivement 20, 40 et 85%.

Effet sur l'environnement

Des teneurs dans l'eau supérieures à 0.5 mg/L doivent constituer un indice de pollution.

b. Les nitrates (Banas et al., les phosphates)

Composition chimique

L'azote constituant la molécule de nitrate est appelé azote nitrique et est noté N-NO_3^- . Ainsi un gramme d'ion NO_3^- correspond à 0.22g d'azote nitrique. Le nitrate est un élément minéral nutritif pour les végétaux et les microorganismes. Ils sont notamment utilisés dans la fabrication de fertilisants azotés, d'additifs et colorants alimentaires.

Sources de nitrates

- Les eaux et les sols

Les eaux superficielles et les sols contiennent de l'azote qui provient de la fixation de l'azote atmosphérique par certaines espèces végétales, par des cyanobactéries et des bactéries.

L'azote se transforme en ammonium, puis en nitrate par le cycle de nitrification. Les concentrations en nitrates des eaux souterraines et superficielles sont généralement inférieures à 1mg/L, hors zones avec activité anthropique. Une large partie de l'azote retourne dans l'atmosphère sous forme notamment de protoxyde d'azote.

En ce qui concerne les sols, la principale source provient de l'utilisation d'engrais azotés dans les cultures. Les systèmes de traitement des eaux usées défectueux ou la décomposition de la matière organique peuvent être une source de contamination, tout comme l'urine animale.

- L'atmosphère
- Biosynthèse endogène de nitrates

Un adulte sain excrète par les urines 62 mg de nitrates issus de sa production endogène chaque jour.

Sources spécifiques de nitrates dans l'habitat

- La voie d'exposition des nitrates par inhalation est négligeable par rapport aux apports alimentaires et hydriques.
- Les nitrates se retrouvent souvent dans l'eau car ils sont fortement solubles dans l'eau.
- Les aliments, en particulier les légumes, les fruits et les viandes salées peuvent contenir une dose élevée de nitrates. Dans les fromages et la charcuterie, les nitrates sont issus des additifs.
- En Europe, il est estimé qu'un individu rejette en moyenne 15g d'azote sous forme organique et ammoniacal par jour.

Effets sur l'environnement

Les nitrates favorisent la croissance végétale, ce qui s'avère désastreux pour les écosystèmes aquatiques. L'eutrophisation est alors considérablement accélérée. Elle nécessite la présence d'éléments nutritifs (carbone, azote, phosphore). En milieux aquatiques, la croissance des végétaux est limitée par l'élément dont la concentration dans le milieu est la plus faible par rapport aux besoins des végétaux. En général, c'est le phosphore ou l'azote. A la mort de ces végétaux, la matière organique se décompose en consommant tout l'oxygène de la colonne d'eau, induisant ainsi l'anoxie du milieu aquatique.

Effets connus sur la santé humaine

Les nitrates sont susceptibles de se fixer sur l'hémoglobine qui est alors oxydée en météoglobine. Le transport de l'oxygène vers les tissus qui en ont besoin ne se fait plus.

Les nitrates peuvent se transformer en nitrosamines dans le tube digestif. Ces molécules sont carcinogènes. Diverses études permettent de suspecter fortement la responsabilité de teneurs élevées en nitrates dans l'eau et les aliments, et le développement de cancers de la prostate, du pharynx, de l'œsophage ou du colon.

Méthodes de mesure

La mesure doit être réalisée dans de courts délais, car les nitrates peuvent être réduits. Les concentrations en nitrates se déduisent alors de la différence entre les concentrations en nitrites avant et après réduction.

Réglementation

La dose journalière de nitrates admissible pour l'homme est fixée entre 0 et 3.65 mg/kg/j.

Dans l'eau de consommation, la valeur est fixée à 50 mg/L mais en Europe, la valeur guide est de 25 mg/L. Dans les aliments, la limite résiduelle est de 250 mg de nitrates par kg de viande et de 150 mg/kg de charcuterie. La limite pour les aliments pour bébés est de 50 mg/kg.

Annexe 7

**Suivi des filtres UV en Station d'épuration et milieu naturel :
Optimisation de la méthode d'extraction et application à la Station
d'épuration de Bègles.**

Rapport de stage de M1.

Fuster L. (2012).

Université Bordeaux 1
MASTER SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTE
Mention STEE et Chimie
Spécialité Ecotoxicologie et Chimie de l'environnement
(EXCE)
Année Universitaire 2011 /2012

Stage réalisé du 7 mai 2012 au 29 juin 2012

RAPPORT DE STAGE

FUSTER Laura

Suivi des filtres UV en Station d'épuration et milieu naturel : Optimisation de la méthode d'extraction et application à la Station d'épuration de Bègles.



Maître de stage : **BUDZINSKI Hélène**

Doctorant tuteur : **AMINOT Yann**

Laboratoire d'accueil : **EPOC – LPTC,**

Université Bordeaux 1, Bâtiment A 12^{ème} étage Ouest, 31 cours de la Libération 33400 Talence.

Tel : 0(+33)5.40.00.36.15

Fax : 0(+33)5.40.00.22.67



REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Mme Hélène Budzinski, directrice de recherche au LPTC, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et de m'avoir permis de réaliser ce premier stage.

Merci à l'ensemble de l'équipe LPTC, pour leur disponibilité et leur accueil chaleureux.

Une pensée particulière aux autres stagiaires de Master 1 EXCE : Charlotte, Laura, Hereria, Yoann, Alban et Vincent, pour leur soutien morale et leur bonne humeur.

Un grand merci à Yann Aminot, doctorant, qui m'a orientée, soutenue pendant la durée de mon stage avec patience et disponibilité ; et en m'apportant ses connaissances, son enthousiasme au quotidien.

MERCI

AVANT- PROPOS

Lors de ce stage, j'ai été accueillie par le laboratoire de physico toxico-chimie de l'environnement ou LPTC qui cherche à identifier les sources, les impacts et le devenir de contaminants organiques au sein des différents compartiments émergents.

Il notamment spécialisé dans la détection de contaminant qui se trouvent à des concentrations ultra traces de nombreux composés comme les pesticides, les substances pharmaceutiques et récemment filtres UV.

C'est dans le cadre du programme ETIAGE, qui vise à caractériser les contaminants contenus dans les effluents urbains et à étudier leur comportement dans l'estuaire, que s'est réalisé mon stage.

GLOSSAIRE

1. **Filtres UV** : Un filtre ultraviolet est une substance capable de filtrer certaines radiations pour protéger la peau contre les effets nocifs de ces radiations.
2. **Perturbateur endocrinien** : molécules qui agissent sur l'équilibre hormonal d'espèces vivantes comme par exemple la croissance, la reproduction.
3. **Coefficient de partage Octanol / Eau ou log Kow** : Coefficient de partage n-octanol / eau d'un composé organique. Rapport entre la concentration à l'équilibre d'une substance chimique dans l'octanol et la concentration en cette même substance dans l'eau. Ce coefficient est utilisé pour estimer, de façon indirecte, la sorption d'une substance organique dans un sol ou le facteur de bioconcentration.
4. **POCIS** : Capteur passif utilisé pour piéger des molécules hydrophiles organiques dans une phase absorbante.
5. **Dopage** : Eau enrichie artificiellement dans notre cas en filtres UV pour évaluer la validité de la manipulation.
6. **Molécules deutérées** : une molécule dont on a remplacé un atome d'hydrogène par un atome de deutérium, et qui conserve les mêmes propriétés chimiques.
7. **NOEC** : Concentration maximale pour laquelle une molécule n'entraîne pas d'effet observable.
8. **Vitellogénine** : Hormone impliquée dans la maturation sexuelle et dans la reproduction des poissons et des oiseaux.
9. **Nalgène** : Matériau en plastique.
10. **RSD ou relative standard déviation** : Mesure de dispersion relative. C'est le rapport de l'écart-type sur la moyenne.

LISTE D'ABRÉVIATIONS

- **Filtres UV** : Filtres ultra-violets
- **ETIAGE** : **ET**ude **I**ntégrée de l'effet des **A**pports amont et locaux sur le fonctionnement de la **G**aronne **E**stuarienne ».
- **BP3** : Oxybenzone
- **EHMC** : Ethyl-hexyl-méthoxycinnamate
- **OD-PABA** : Acide-octyl-diméthyl-p-Aminobenzoïque
- **4-MBC** : 3-4-méthylbenzilidène-camphor
- **OC** : Octocrylène
- **STEP** : Station d'épuration
- **Log Kow** : coefficient de partage Octanol /Eau
- **SPE** : Solid Phase Extraction ou extraction sur phase solide.
- **UPLC** : Ultra Performance Liquid Chromatography
- **MS-MS** : Spectrométrie de masse en tandem
- **POCIS** : Polar Organic Chemical Integrative Sampler
- **NOEC** : No Observed Effect Concentration
- **LD**: Limite de détection.
- **RSD** : Relative standard deviation.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1. Structure, propriétés et mode d'action	1
2. Utilisation, voie d'entrée et occurrence dans l'environnement.	2
3. Objet et problématique de l'étude.	2
MATERIELS ET METHODES	3
1. Echantillonnage ponctuel.	3
2. Extraction sur phase solide (SPE).	4
2.1. Principe :	4
2.2. Protocole :	4
3. L'analyse : UPLC/MS-MS.	4
4. Quantification.	5
4.1. Par étalonnage externe :	5
4.2. Par étalonnage interne :	5
5. Optimisation des blancs	5
RESULTATS ET DISCUSSIONS	6
1. Optimisation de la méthode.	6
1.1. Tests sur la préparation de l'échantillon:	6
1.2. Volume de percolation maximum :	7
1.3. Etalonnage interne vs étalonnage externe.	8
2. Validation de la méthode.	8
3. Résultats sur la STEP	9
CONCLUSION	10

INTRODUCTION

L'inquiétude croissante envers l'apparition des cancers de la peau, dus aux rayons ultraviolets (UV), a engendré une augmentation de l'utilisation de cosmétiques (crèmes solaires, stick à lèvres, shampoing) contenant des filtres UV¹ depuis 75 ans (Giokas et al. 2007).

Selon la directive 76/768/CEE sur les cosmétiques, un filtre UV¹ se définit comme « une substance qui contenue, dans les produits cosmétiques solaires, vise à filtrer certains rayonnements UV afin de protéger la peau de certains effets nocifs de ces rayons ». Il existe 26 filtres UV organiques autorisés en cosmétique dans l'Union Européenne.

Il existe deux types de filtres UV : les filtres UV organiques qui sont des absorbants chimiques des rayons UV, et les pigments qui exercent une action physique en reflétant ou dispersant la lumière. L'objet de l'étude se porte sur la première famille, les filtres UV organiques en particulier à 6 filtres UV utilisés dans les cosmétiques français : Oxybenzone (BP3), Avobenzon, Ethyl-hexyl-méthoxycinnamate (EHMC), Acide-octyl-diméthyl-p-Aminobenzoïque (OD-PABA), 3-4-méthylbenzylidène-camphre (4-MBC), et Octocrylène (OC).

En effet, ces différents filtres UV sont susceptibles de se retrouver dans les compartiments aquatiques via les rejets de stations d'épuration (STEP). Or, de nombreuses études ont prouvé que ces substances étaient des perturbateurs endocriniens² (Schlumpf M et al (2004), Suzuki T et al, 2005). Leurs utilisations massives et leurs effets sont principalement dues à leurs structures particulières. Leurs faibles concentrations dans l'environnement qui rendent les mesures analytiques complexes, leurs effets encore peu étudiés, les classent dans la catégorie des contaminants « émergents ».

1. Structure, propriétés et mode d'action

Ces molécules ont un fort log Kow³ ce qui les rend très lipophiles et donc elles peuvent facilement s'associer avec des particules solides ou sur les membranes biologiques. Ceci pose des problèmes au niveau de l'absorption par les organismes mais aussi au niveau de l'extraction et de l'analyse, en raison des risques de perte par adsorption sur les plastiques.

Les filtres UV organiques possèdent des cycles aromatiques avec des doubles liaisons carbone-carbone ou des groupements carbonyles avec des électrons délocalisables. L'absorption d'un rayonnement UV va donc entraîner une excitation des électrons délocalisables, la molécule passe de l'état fondamental à excité. Il y a ensuite un retour à l'état fondamental et la réémission du rayon absorbé se fait à des niveaux plus bas d'énergie et il devient donc inoffensif

Tableau I : Propriétés et structures des filtres UV étudiés (Bachelot M., 2007)

	BP-3	EHMC	4-MBC
Log Kow	3,8	5,8	4,9
M (g/mol)	228,2	290,4	254,4
	0D-PABA	0C	Avobenzone
Log Kow	6,15	6,88	2,41
M (g/mol)	277.4	361.5	310.4

2. Utilisation, voie d'entrée et occurrence dans l'environnement.

Du fait de leurs propriétés de protection contre les rayonnements solaires, les filtres UV sont utilisés dans de plus en plus de produits de soins corporels pour lutter contre les rayons UV comme stabilisant dans certains produits.

Comme présenté dans la figure 1, des études précédentes ont montré l'occurrence des filtres UV dans les différents compartiments avec deux voies de contamination potentielles : directe via les eaux de baignades et indirectes via les rejets de station d'épuration (Li et al, (2007)). Malgré une forte élimination, des filtres UV contenus dans la phase dissoute des eaux usées se retrouvent généralement en sortie de STEP. De plus il a été montré par Fent et al (2009), que les concentrations de ces composés diminuaient avec leur lipophilie pouvant signifier qu'ils font des interactions avec des particules au niveau des boues de STEP.

3. Objet et problématique de l'étude.

Les estuaires sont des écosystèmes aquatiques très fragiles et très importants d'un point de vue économique et écologique mais peuvent être potentiellement touchés par ce type de contamination. La zone urbaine de bordeaux, qui compte une population de plus de 700000 habitants, pourrait via des rejets de STEP, entrainer un relarguage important de filtres UV et donc impacter l'estuaire.

Le programme ETIAGE, qui vise à caractériser les contaminants contenus dans les effluents urbains et à étudier leur comportement dans l'estuaire, sert de cadre à notre étude.

Le but de cette étude est d'optimiser en premier lieu la méthode d'extraction, en effet, de nombreuses études montrent une contamination des blancs sans que l'on puisse identifier la cause. De plus il s'agit aussi d'optimiser la préparation et la conservation de l'échantillon, car les filtres UV, par leur nature, sont soupçonnés de s'adsorber sur des matières comme les plastiques (Giokas et al. (2007)).

Dans un deuxième temps, il s'agira de caractériser les flux des filtres UV en entrée et sortie d'une STEP bordelaise et plus largement, de déterminer les niveaux de contaminations dans les eaux de la Garonne estuarienne.

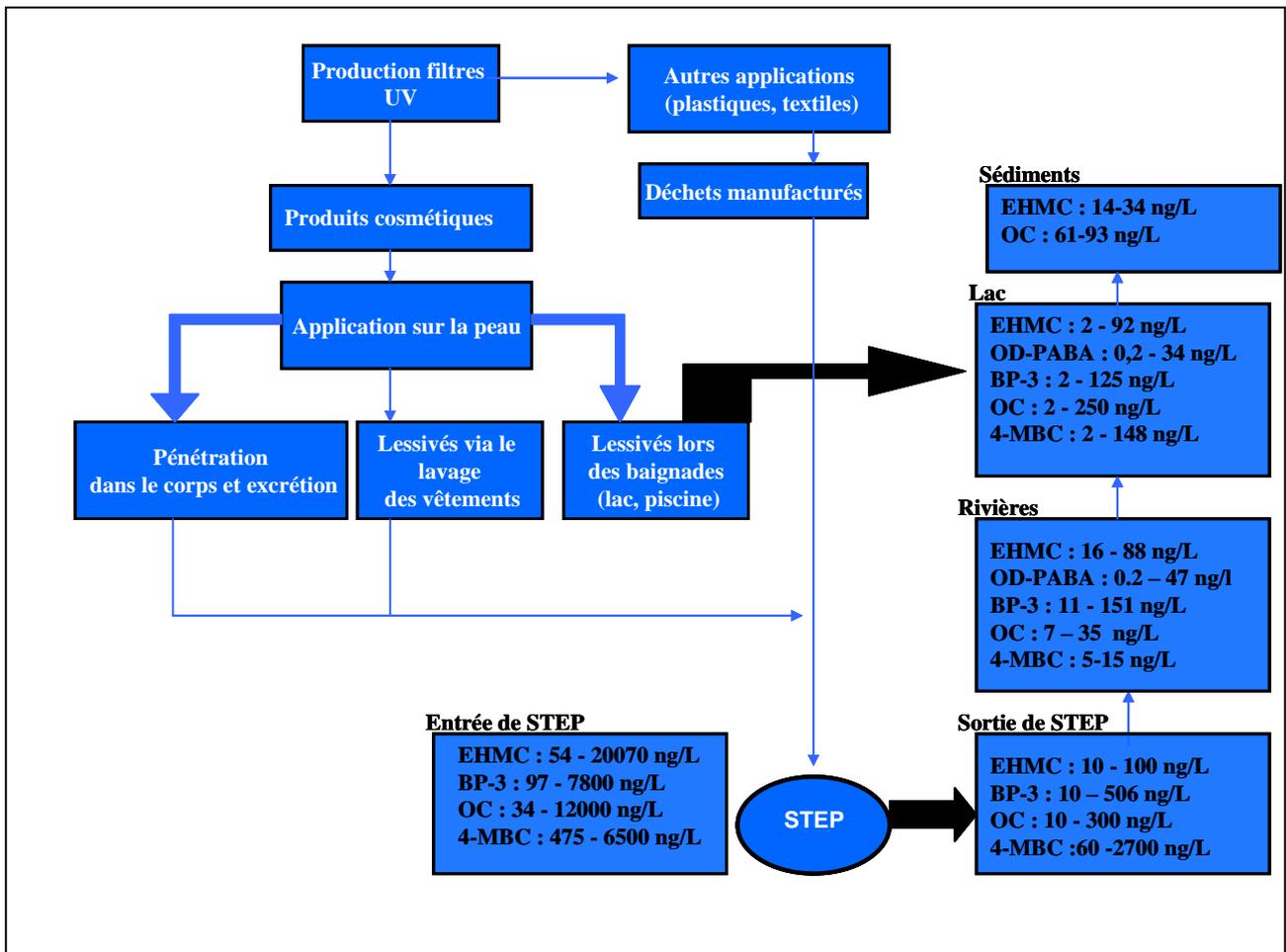


Figure 1 : Schéma représentant les principales voies d'entrée des filtres UV dans l'environnement et leurs différentes concentrations dans l'environnement. (Giokas et al (2004), Balmer et al (2005), Giokas et al (2005), Buser et al (2006), Plagellat et al (2006), Giokas et al (2007)).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Echantillonnage ponctuel.

Les différents échantillons ont été récoltés dans des bouteilles en verre pour limiter l'adsorption sur la surface des contenants puis filtrés avec des filtres GF/F (pores de 0,7 µm) afin d'éliminer les fines particules. Pour les entrées de STEP, la présence de grosses particules nécessite une pré-filtration avec des filtres GF/A (pores de 1,6 µm). Les filtres avaient été préalablement pyrolysés.

Ce mode d'échantillonnage permet d'obtenir les concentrations des composés à un instant précis. De plus, dans le cas des filtres UV, l'échantillonnage passif par POCIS⁴ pourrait entraîner une perte de ces composés à cause de leur caractère lipophile.

2. Extraction sur phase solide (SPE).

2.1. Principe :

Cette extraction sert à reconcentrer les composés d'intérêt présents dans une phase liquide : les échantillons d'eau. Comme nous l'avons vu précédemment, ces composés sont, pour la plupart, lipophiles (tableau I). Pour l'extraction, on utilise donc des cartouches OASIS[®] HLB 6cc qui possèdent un support hydrophile lipophile en phase inverse et qui retiennent ces molécules. En effet, lors du dépôt de l'échantillon, les filtres UV, qui ont un caractère hydrophobe vont avoir une forte affinité pour la phase et ainsi être retenus. Lors de l'élution de la fraction organique, la combinaison de deux solvants très hydrophobes rend l'affinité moins forte des filtres UV avec la phase. Ainsi, ils sont élués et sortent de la cartouche. L'éluat est ensuite évaporé sous flux d'azote afin de concentrer les échantillons dans l'acétonitrile (figure 1).

Des tests d'optimisation ont été réalisés afin d'obtenir les plus basses limites de détection et de forts rendements. Pour cela, l'influence du verre et du Nalgène comme contenant, a été testée pour mesurer les pertes possibles en filtres UV. A chaque expérience, 3 blancs cartouche et 3 dopages⁵ étaient réalisés pour valider l'extraction. Les dopages ont été préparés par ajout de 20 µL d'une solution native de filtres UV à 1,5 µg/g.

2.2. Protocole :

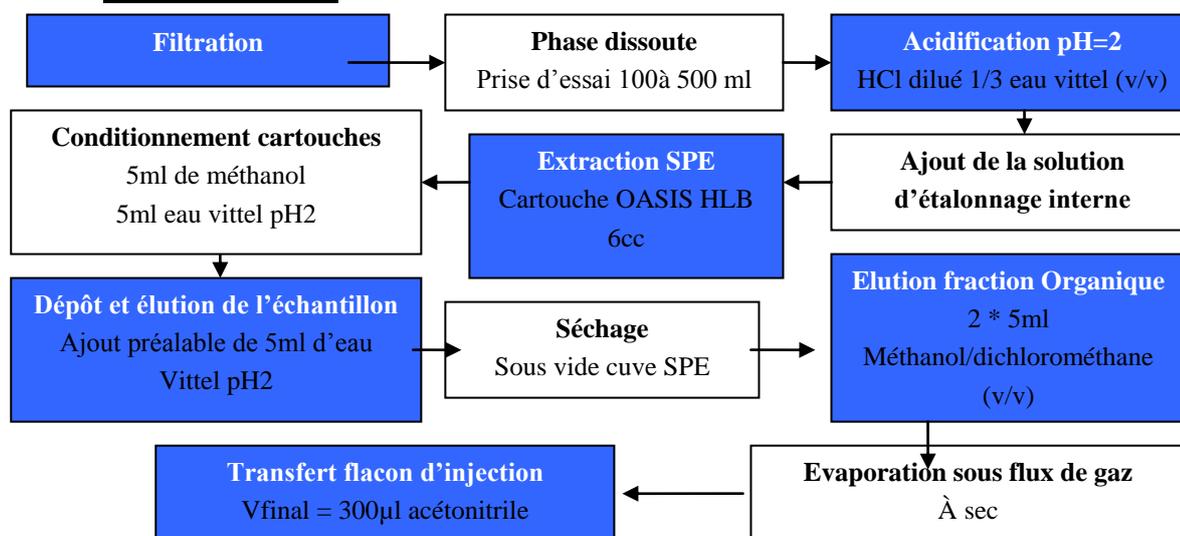


Figure 2 : Schéma représentant le protocole d'extraction des filtres UV dans échantillon liquide.

3. L'analyse : UPLC/MS-MS.

La Chromatographie Liquide Ultra Performance est une méthode de séparation de différents constituants d'un mélange. C'est une analyse automatisée, où toute la séquence d'injection est contrôlée par ordinateur. Les échantillons sont entraînés par une phase mobile ou éluant à l'intérieur d'une colonne poreuse. Cette séparation est basée sur la différence d'affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. Plus l'affinité du composé avec la phase stationnaire est grande, plus son temps de rétention sera grand.

L'UPLC utilisé est une Acquity™ (waters) C18 avec une colonne de 5 cm avec un diamètre de pores de 1,7µm. La phase mobile était composé d'un mélange de deux solvants :

- Eau milliQ + 0,1 % d'acide formique
- Acétonitrile + 0,1 % d'acide formique

A la sortie de la colonne, chaque composé passe dans un détecteur qui permet d'obtenir un chromatogramme. Le détecteur utilisé est un spectromètre de masse en tandem qui, est à la fois, très sensible et universel. Les composés sont ionisés et passent à un état excité ce qui provoque sa fragmentation. Chaque ion est défini par un rapport masse sur charge (m/Z), et sélectionné individuellement grâce à un champ magnétique. Ce signal est ensuite détecté et amplifié.

L'identification des composés se fait en fonction de leurs temps de rétention et suivant deux transitions, grâce au logiciel massLynx®. La première transition permet la quantification de l'ion majoritaire tandis que la deuxième transition permet une confirmation avec la sélection du deuxième ion majoritaire. Les aires de quantification étant directement proportionnelle à la masse injectée, il est alors possible de retrouver les concentrations dans l'échantillon.

4. Quantification.

4.1. Par étalonnage externe :

La détermination des concentrations des différents filtres UV dans les blancs, les dopages et les échantillons, a été réalisée grâce à une gamme d'étalonnage externe. A partir d'une solution mélange de filtres UV de quantité connue, une gamme de dilution a été préparé afin d'obtenir une gamme de concentration en quantité connue. Cette gamme a été injectée avant les échantillons. Les aires donnent une relation linéaire, en fonction des concentrations. Ceci permet donc, à partir de cette droite et des aires obtenues à partir des échantillons, de calculer leurs concentrations.

4.2. Par étalonnage interne :

Afin de s'affranchir d'une éventuelle non linéarité du détecteur sur l'ensemble de la gamme testée, d'éviter des phénomènes d'extinction de signal dus à la matrice de l'échantillon et de corriger les éventuelles pertes de composés lors de la manipulation, un étalon interne a été utilisé. Un étalon interne doit avoir plusieurs critères pour bien quantifier les composés d'intérêt : il doit avoir les mêmes propriétés physico-chimiques, et ne pas être présent dans l'échantillon naturel. Les meilleurs étalons internes sont les molécules deutérées⁶. Néanmoins, ce mode de quantification reste très coûteux, nous avons donc testé l'Oxybenzone d5. Ainsi, lors de l'analyse, les variations de détection, seront perceptibles aussi au niveau de l'étalon interne, permettant une quantification relative.

5. Optimisation des blancs

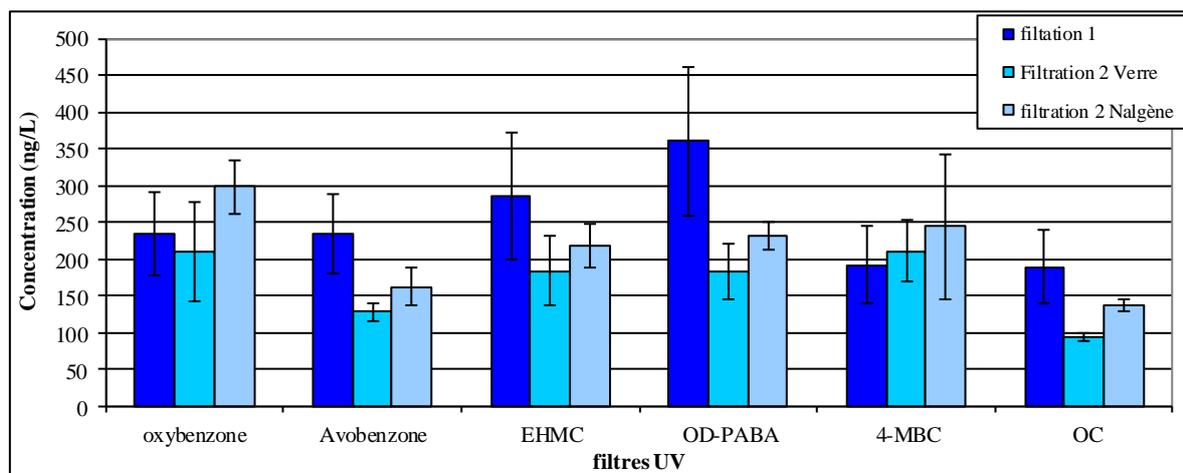
Lors de toutes les expériences des blancs ont été réalisés. Des cartouches SPE ont été seulement conditionnées puis éluées par les solvants, sans passage d'échantillon. De plus, en référence à de nombreux articles, des précautions ont été mises en place :

- Utilisation de gants chirurgicaux
- Nettoyage des outils de travail avec de l'éthanol
- Utilisation d'une verrerie ambrée

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Optimisation de la méthode.

1.1. Tests sur la préparation de l'échantillon:



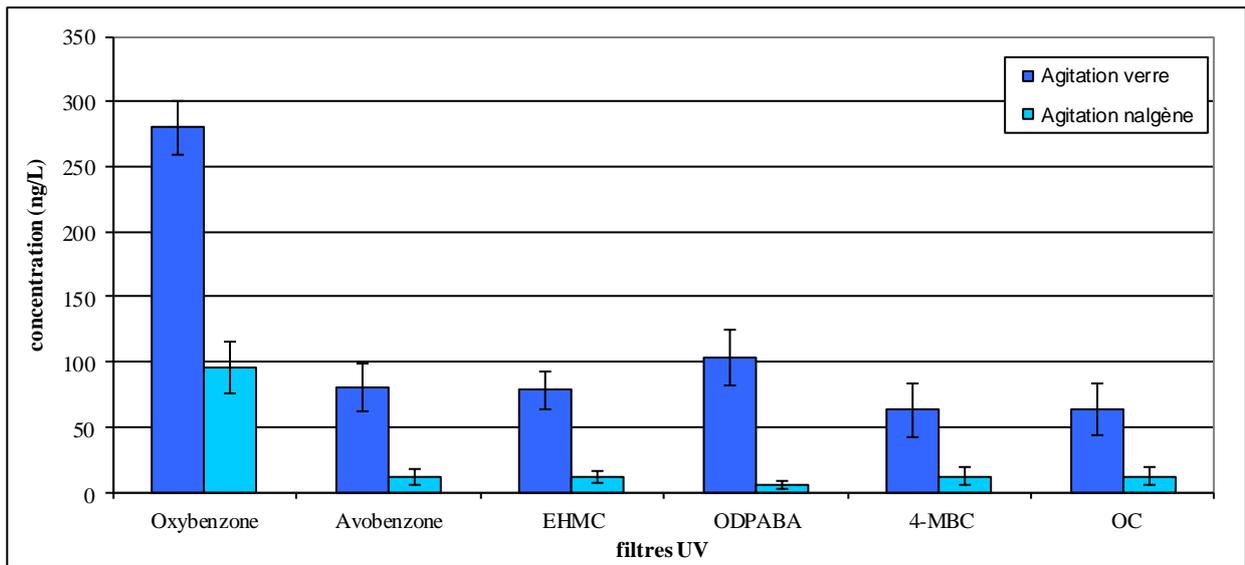
Graphique 1 : Influence de la filtration : 1 seule filtration, 2 filtrations sur verre, et 2 filtrations sur Nalgène, sur la détection des filtres UV par quantification externe.

D'après Zenker et *al*, (2008), la forme de stockage préférentielle est le verre plutôt que le plastique, car leur fort log Kow pourrait entraîner une adsorption sur le plastique. Pour vérifier cette hypothèse et optimiser la préparation et le stockage de l'échantillon, nous avons testé l'influence de la filtration sur verre et Nalgène⁹, et l'influence de ces types de contenants sur l'extraction d'eaux dopées. Les résultats sont présentés dans les graphiques 1 et 2.

Le mode de filtration sur verre ou sur plastique (Nalgène) ne présente pas de différence significative sur les concentrations obtenues (graphique 1). Ceci peut s'expliquer par le faible temps de contact entre l'échantillon et le matériau.

Au contraire, les concentrations détectées en filtres UV dans les eaux dopées semblent lourdement impactées par le contenant lors du stockage qui a été mimé par une agitation d'une heure.

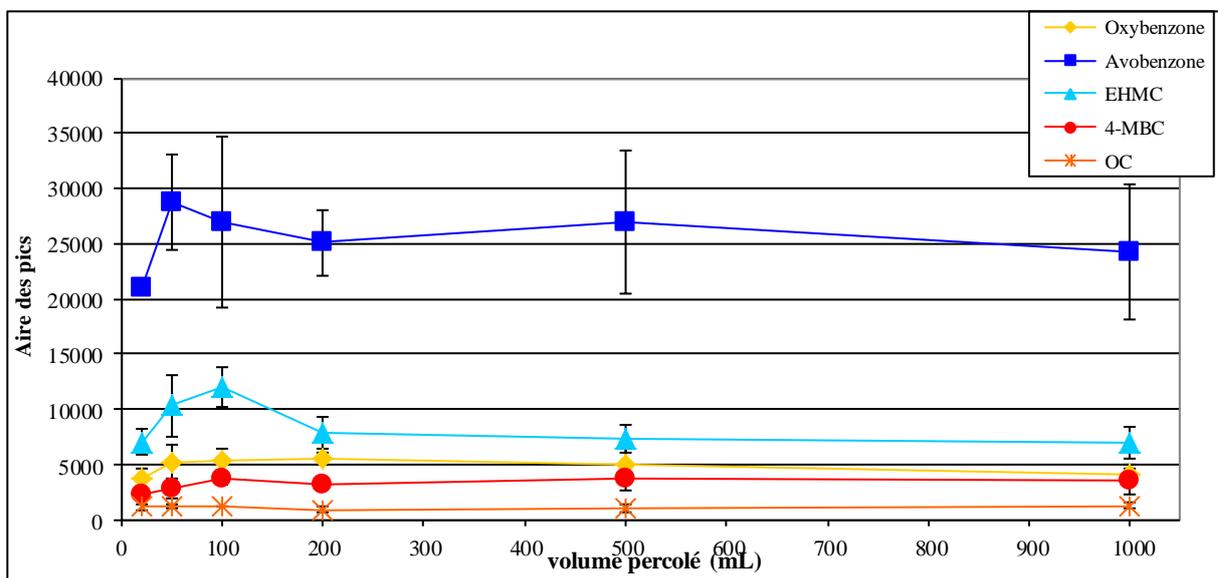
En effet, comme présenté dans le graphique 2, les concentrations détectées pour un même dopage passent de 280 +/- 21 ng/L dans du verre à 96 +/- 20 ng/L dans le Nalgène, soit une diminution d'environ 34% pour l'Oxybenzone par exemple. Le temps de séjour ayant augmenté, l'interaction potentielle entre le matériau et les filtres UV a pu entraîner une adsorption de ceux-ci et donc une diminution de la concentration détectée.



Graphique 2 : Influence d'une heure d'agitation dans du verre ou du Nalgène, sur les concentrations détectées en filtres UV.

1.2. Volume de percolation maximum :

Dans cette expérience, des eaux ont été préalablement dopées avec la même masse de natifs, séparées en plusieurs échantillons de volumes différents puis percolées sur les cartouches SPE. Nous avons cherché à déterminer le volume de fuite, c'est-à-dire le volume d'échantillon à partir duquel, on ne piège plus les composés.



Graphique 3 : Incidence du volume d'échantillon passé sur la cartouche SPE sur les aires du chromatogramme.

On constate que, quelque soit le volume percolé les aires des pics chromatographiques ne diminuent pas. Or, plus on augmente le volume percolé, plus on reconcentre et donc plus la sensibilité augmente. On peut en conclure que pour l'extraction des filtres UV, on peut utiliser de grands volumes d'échantillon pour diminuer les limites de détection, sans pour autant réduire les rendements d'extraction.

1.3. Etalonnage interne vs étalonnage externe.

Il s'agit dans cette partie d'évaluer la meilleure méthode de quantification entre l'étalonnage externe et l'étalonnage interne.

Les rendements de dopages de l'expérience sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Rendements des dopages en fonction du mode de quantification.

	Rendements dopage (%)			
	moyenne quantification externe (%)	RSD ¹⁰ (%)	moyenne quantification interne (%)	RSD (%)
Oxybenzone	93	30	103	15
Avobenzone	41	26	43	32
EHMC	19	78	31	56
OD-PABA	32	28	53	32
4-MBC	37	44	109	45
OC	18	54	25	56

Les rendements ont une grande variabilité suivant les dopages, variant de 26 à 78 %. On constate que l'Oxybenzone d5 est très efficace pour la quantification de l'Oxybenzone avec un rendement de 103 +/- 15%. Les rendements de quantification en mode étalonnage interne présentent des résultats plus mitigés pour les autres molécules. Il faudrait donc compléter par d'autres étalons internes comme les molécules deutérées des autres filtres UV. Néanmoins, ce mode de quantification reste plus robuste car en cas de perte de volume de l'échantillon, l'étalon interne voit sa concentration diminuer en même temps que celle des filtres UV d'intérêt.

2. Validation de la méthode.

Afin de valider la méthode, nous avons tenté de minimiser les concentrations dans les blancs.

Tableau III : Masses en filtres UV dans les vials des blancs

	Oxybenzone	Avobenzone	EHMC	OD-PABA	4-MBC	OC
Moyenne des masses dans les vials.(ng)	0,622	0,480	1,660	0,414	0,785	0,693
RSD (%)	50	58	81	2	15	13
LD masse vials (ng)	0,180	0,120	0,240	0,006	0,024	0,244

On constate dans le tableau III, qui présente la masse des filtres UV dans les vials reconcentrés dans 300µL d'acétonitrile, que les blancs, malgré les précautions mis en place, restent contaminés en filtres UV, sans qu'on puisse clairement en identifier la cause. En outre, les masses détectées sont proches des limites de détection, on peut donc en conclure que la contamination reste faible.

D'autres précautions auraient pu être mises en place pour diminuer les concentrations en filtres UV dans les blancs, comme par exemple la non utilisation de produits contenant des filtres UV par le manipulateur.

Des limites de détections ont été calculées : en prenant un rapport signal sur bruit égale à 3, on peut remonter aux concentrations pour lesquelles ,on peut clairement détecter un signal en dehors du bruit de fond. Les différentes valeurs dont décrites dans le tableau IV. On obtient des limites de détection relativement basses qui varie entre 0,6 ng/L pour l'OD-PABA à 24,4 ng/L pour l'OC et l'EHMC.

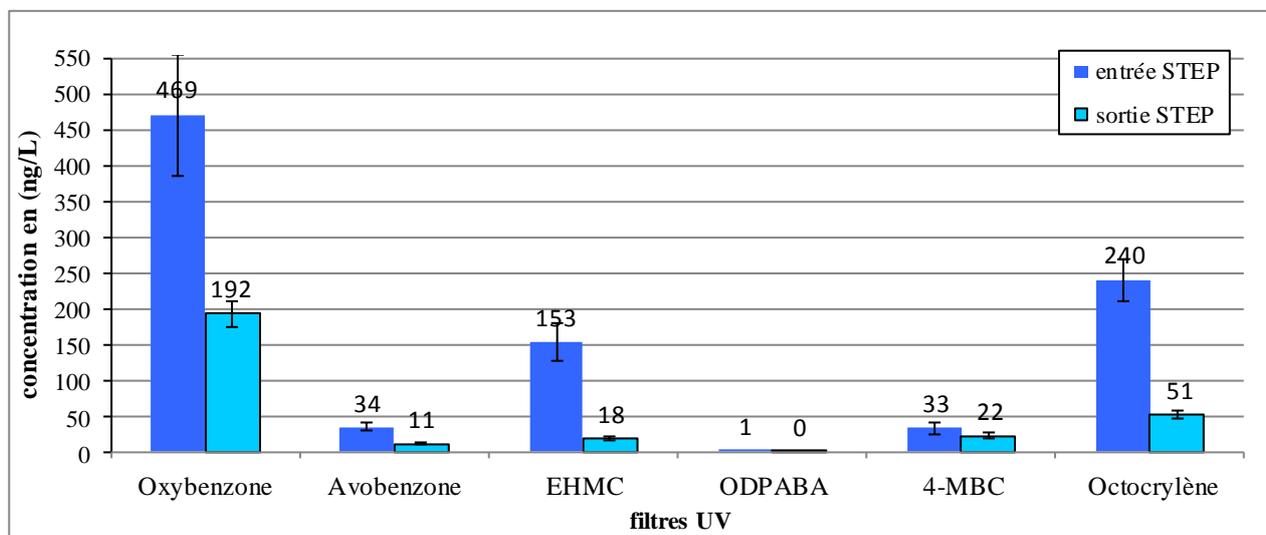
Tableau IV : Limites de détection des différents filtres UV

	BP-3	Avobenzone	EHMC	OD-PABA	4-MBC	OC
LD échantillon (ng/L)	1,8	12	24,4	0,6	2,4	24,4

3. Résultats sur la STEP

Les échantillons ont été prélevés en entrée et en sortie de la STEP de Clos de HILDE, durant le moi de mai, dans la zone urbaine bordelaise afin d'identifier les concentrations des différents filtres UV étudiés.

Les différents filtres UV sont bien présents dans les entrées de la STEP (graphique 4) aux concentrations attendues d'après les recherches bibliographiques présentées en figure 1 et aux dessus des limites de détection (tableau IV). En effet, si on regarde les concentrations obtenues par quantification interne, on retrouve respectivement l'Oxybenzone, EHMC et OC à des concentrations de 469 +/- 86 ; 153 +/- 25 ; 240 +/-30 ng/L. Ces valeurs sont au dessus des limites de détection présentées dans le tableau IV. Néanmoins, on observe de très faibles valeurs d'OD-PABA (2-1 ng/L) dans les eaux d'entrée de STEP.



Graphique 4 : Concentrations des différents filtres UV en entrée de STEP sur des échantillons du 29/05/12.

En sortie de STEP (graphique 4), les concentrations des différents filtres UV, diminuent fortement passant de 469 à 192 ng/L pour l'Oxybenzone. Les résultats restent conformes à nos attentes, avec des concentrations de 192 +/- 17 ; 18 +/- 4 ; 51 +/- 5 ng/L pour respectivement l'Oxybenzone, l'EHMC et OC. La STEP bordelaise de Clos de Hilde paraît donc efficace dans l'élimination des filtres UV des eaux, néanmoins il faut aussi prendre en compte leur lipophilie. En effet, il serait nécessaire de déterminer les concentrations en filtres UV dans les boues de STEP ; car selon les études de Plagellat et *al* (2006), l'Octocrylène peut être retrouvé à des concentrations de 320 à 18740 ng/g poids sec.

De plus, ces concentrations en sortie de STEP semblent inférieures aux NOEC⁷ calculées dans des études précédentes en effet l'EHMC qui se trouve à des concentrations de 18 ng/L, entraîne une induction de la vitellogénine⁸ à partir de 244,5 µg/L chez *Pimephales promelas* (Christen et *al*, 2011). Néanmoins des études récentes, ont démontré l'effet possible de mélange des différents filtres UV, d'après Kunz et *al* (2006).

CONCLUSION

Les expériences réalisées sur l'extraction et l'analyse des filtres UV, donnent des résultats mitigés. D'une part, dans toutes les manipulations effectuées, les blancs ont été contaminés malgré les dispositifs mis en place. Ce qui laisse penser que tous les moyens de contamination n'ont pas encore été identifiés ou que la nature très lipophile de ces composés entraîne une adsorption sur l'ensemble d'appareil chromatographique, par exemple.

Les filtres UV organiques sont présents en entrée et en sortie de station d'épuration à des concentrations inférieures aux NOEC calculées dans les études précédentes.

En outre, les expériences réalisées dans le cadre de cette étude restent néanmoins partielles. En effet, l'absence de toutes les molécules deutérées (comme étalon interne) pourrait sous évaluer les concentrations en sortie de STEP et donc les effets potentiels sur l'estuaire. De plus dans cette étude, la phase particulaire n'a pas été prise en compte, le transfert des filtres UV dans les boues de STEP a déjà pu être observé en 2006 par Plagellat et *al*. Des études complémentaires sur ces boues seraient nécessaires afin d'évaluer ce transfert. Les concentrations en sortie de STEP, laissent penser que les filtres UV sont présents dans la Garonne estuarienne, néanmoins les résultats de cette expérience n'ont pas encore été obtenus, faute de temps.

Malgré ces concentrations inférieures aux NOEC, il serait intéressant d'étudier l'effet de ces mélanges sur les populations piscicoles notamment sur leur reproduction via la mesure de l'induction de la vitellogénine.

L'ensemble des expériences ont été effectuées sur des eaux prélevées au mois de mai, il faudrait refaire le même protocole pendant la période estivale, où les crèmes solaires sont les plus utilisées, pour voir quelles concentrations sont atteintes et ainsi caractériser la contamination à son maximum.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bachelot M., 2007. Thèse sur Contamination de moules (*Mytilus sp.*) en milieu marin par des substances pharmaceutiques et produits de soin. Sibaghe, Université de Montpellier, 40 Sciences du médicament. 234p.

Balmer M.E., Buser H.L., Müller M.E., Poiger T., 2005. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface water, and fish from Swiss lakes. *Environmental Science and Technology* 39, 953-962.

Buser H.R., Balmer M.E., Schimid P., Kohler M., 2006. Occurrence of UV filters 4-methylbenzylidene camphor and Octocrylène in fish from various Swiss rivers with inputs from wastewater treatment plants. *Environmental Science and Technology* 40, 1427-1431.

Christen V., Zucchi S., Fent K., (2001) Effects of the UV filters 2-ethyl-hexyl-4-trimethocinnamate (EHMC) on expression of genes involved in hormonal pathways in fathead minnows (*Pimephales promelas*,) and link to vitellogenin induction and histology *Aquatic Toxicology* 102 : 167-176.

Fent K., Zenker A., Rapp M. 2009. Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. *Environmental Pollution* 158 : 1817-1824.

Giokas L., Sakkas VA., Albanis TA., 2004. Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-photodiode array detection and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1026(1-2):289-293.

Giokas L., Sakkas VA., Albanis TA., Lampropoulou DA., 2005. Determination of UV-filter residues in bathing waters by liquid chromatography UV-diode array and gas chromatography-mass spectrometry after micelle mediated extraction-solvent back extraction. *Journal of Chromatography* 1077(1):19-27.

Giokas L., A. Salvador A., Chrissvert A., 2007. UV filters: From sunscreen to human body and the environment. *Analytical Chemistry*, Vol.26, No.5: 360-370.

Kunz Y., Fent K., 2006. Estrogenic activity of UV filters mixtures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 217, 86-99.

Li W., Ma Y., Guo C., Hu W3., Liu K., Wang Y., et Zhu T., 2007. Occurrence and behavior of four of the most used sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant. *Water Research* 41(15):3506-3512.

Plagellat C., Kupper T., Furrer R., de Alencastro LF., Grandjean D., et Tarradellas J., 2006. Concentrations et specific loads of UV filters in sewage sludge originating from a monitoring Network in Switzerland. *Chemosphere* 62(6):915-925.

Schlumpf M., Schmid P., Durrer S, et al. 2004. Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters. *Toxicology*, 205: 113-22.

Suzuki T., Kitamura S., Khota R., Sugihara K., Fujimoto N., Ohta S., 2005. Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203 : 9-17.

Zenker A., Schmutz H., Fent K., 2008. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compound (UV filters) in environmental samples. *Journal of Chromatography* 1202: 64 -74

RESUMÉ

Devant les effets nocifs des rayons ultra-violet, des molécules organiques, appelées filtres UV, ont été développées et introduites dans nos produits cosmétiques. De par nos eaux de baignade, ou via les eaux usées, ces molécules se retrouvent dans l'environnement. De plus, malgré leurs effets protecteurs pour notre peau, des études aussi ont montré leur effets de perturbateur endocrinien sur les espèces aquatiques.

Dans le but de caractériser les concentrations en filtres UV en entrée et sortie de la station d'épuration (STEP) de Clos de Hilde, une optimisation de la méthode d'extraction à partir d'eau par une Solid Phase Extraction a été réalisée. Ces molécules qui ont pour la plupart un fort Log Kow s'adsorbent sur les matériaux plastiques posant des problèmes de sous estimation des concentrations. De plus, des traces de filtres UV encore non expliquées, restent présentes dans les blancs.

Au niveau de la STEP de Clos de Hilde, les concentrations en sortie sont de l'ordre 18 ng/L pour l'EHMC qui reste en dessous de seuil d'induction de la vitellogénine. Cependant, les récentes études ont déjà montrée l'effet de mélange de ces différents composés sur les organismes aquatiques, ce qui pourrait potentiellement présenter un risque pour l'écosystème de la Garonne estuarienne.

ABSTRACT

Ultraviolet rays are harmful to our health. To protect our skin, organic molecules called UV filters are used in sunscreens.

These UV filters may be found in the environment from direct (bathing water) or indirect (water treatment plant) input. Indeed, these molecules may be endocrine disruptors for aquatic species.

Optimization of the extraction method in solid phase extraction was then carried out to determine concentrations of these UV filters in influent and effluent of the Bègles WWTP (Clos de Hilde).

However these molecules are quite lipophilic and therefore may be adsorbed on plastic.

Concentrations obtained were therefore underestimated. In addition, traces of UV filters were detected in experiment blank; but this source has not yet been identified.

At the WWTP of "Clos de Hilde", concentrations are around 18 ng / L for EHMC and remain below threshold for induction of vitellogenin. However, recent studies have already revealed the mixing effect of these compounds on aquatic organisms, which is an issue to the ecosystem of the Garonne estuary.

Annexe 8

Etude de la présence de polluants émergents dans les stations d'épuration et dans le milieu naturel : application à la Garonne, la Jalle et l'Adige.

Rapport de stage de M2 Erasmus.

Girolli L. (2012).



Università degli studi di Ferrara

Université Bordeaux 1

Rapport de stage de master 2

Année 2011-2012

Etude de la présence de polluants émergents dans les stations d'épuration et dans le milieu naturel :
application à la Garonne, la Jalle et l'Adige

Laura Girolli

Responsable de stage :

Dr. Hélène Budzinski

Université Bordeaux 1

Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux

EPOC - UMR 5805 CNRS

Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC)



Remerciements :

A la fin de ces 9 mois de travail je tiens particulièrement à remercier le Docteur Hélène Budzinski de m'avoir accueillie et fait confiance pour effectuer ce stage de Chimie avec ma formation de biologiste.

Mes remerciements également à monsieur Yann Aminot pour la formation, pour m'avoir aidé et pour sa disponibilité, ainsi que le reste de l'équipe associée au programme ETIAGE que j' ai pu croiser, pour leur sens du partage des tâches .

Je remercie également le reste de l' équipe du LPTC , chercheurs, ingénieurs et techniciens, pour leur accueil.

SOMMAIRE

Remerciements.....	
Introduction.....	1

CHAPITRE 1

Substances pharmaceutiques et situation de l'environnement

1.1 Liste des médicaments étudiés.....	
1.1.1 Anti-rétroviraux.....	2
1.1.2 Psycholeptiques.....	4
1.1.3 Analgésiques.....	6
1.1.4 Hypolipidémiants.....	8
1.1.5 β -bloquants.....	8
1.1.6 Antidépresseurs.....	10
1.1.7 Anticonvulsivants.....	10
1.1.8 Antihistaminiques.....	11
1.1.9 Autres.....	11
1.1.10 Métabolites de la carbamazépine.....	13
1.2 Commercialisation en France.....	
1.2.1 Historique des médicaments.....	16
1.2.2 augmentation de l'utilisation des médicaments.....	17
1.3 Caractéristiques géographiques et physiques des systèmes hydrologiques étudiés.....	
1.3.2 Garonne.....	18
1.3.3 Jalle.....	21
1.3.4 Adige.....	23

CHAPITRE 2

Matériels et méthodes

2.1 Techniques d'analyse utilisées.....	
2.1.1 Extraction SPE.....	24
2.1.2 Extraction micro-ondes pour le sédiment.....	26
2.1.3 Analyse par Chromatographie Liquide couplée à une Spectrométrie de masse en tandem.....	28
2.1.4 Méthode de quantification : l'étalonnage interne.....	29
2.1.5 Test de conservation 2011 – 2012 (STEP).....	29

2.2 Sites d'étude et campagne d'échantillonnage.....	
2.2.1 Stations d'épuration (STEP)de Bordeaux.....	30
2.2.2 Campagne d'échantillonnage dans l'estuaire de la Gironde.....	30
2.2.3 Campagne d'échantillonnage dans la rivière Jalle.....	31

CHAPITRE 3

Résultats

3.1 Résultats obtenu.....	
3.1.1 Validation du dopage.....	33
3.1.2Résultats du test de conservation 2011 – 2012.....	36
3.1.3Résultats de STEP et Garonne.....	40
3.1.4 Résultats de Jalle.....	42
3.1.5Resultats de rivier Italien.....	43

CHAPITRE 4

Conclusion.....	
Bibliographie.....	48
Annexes.....	46

Sigles et abréviations

AINS : Anti- Inflammatoire Non stéroïdiens

ARV : Antirétroviral

UE : Union Européenne

ETIAGE : Etude Intégrée de l'effet des Apports amonts et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne

CNRS : Centre National de la recherche scientifique

EPOC : Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux

LPTC : Laboratoire de Physico – et toxico-Chimie de l'Environnement

DCE : Directive Cadre sur l'Eau

STEP : Station d'Épuration

LF : station d'Épuration Louis Fargues

CH : station d'Épuration Clos de Hilde

EH : Equivalent Habitant

POCIS : Polar Organic Compound integrative Sampler

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

SPE : Solid phase Extraction

HCl : Acide chlorhydrique

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

AFSSAPS : Agence Française de sécurité Sanitaire de produits de Santé

INTRODUCTION

Les composés pharmaceutiques font partie des substances actuellement retrouvées dans les systèmes naturels. Les diverses sources (agriculture, effluent urbains, rejets industriels, hôpitaux..) sont à l'origine d'une pollution majeure dans les milieux aquatiques du réseau fluvial.

Les composés pharmaceutiques sont détectés dans l'environnement depuis quelques années, et ils sont une des choses les plus importantes pour le marché mondial en général.

En 2007, le marché mondial du médicament a été évalué à 712 milliards de dollars (contre moins de 200 milliards de dollars en 1990), en croissance de 6,4%. Le marché Nord-Américain (États-Unis et Canada) reste le marché le plus important avec 46% du marché mondial, loin devant l'Europe (31%) et le Japon (9%). La croissance du marché américain en 2007 a été plus faible qu'en 2006 et est estimée à 4%. Celle du marché européen reste dynamique avec 7% ; L'Allemagne et la France sont les deux premiers marchés européens.

Donc, l'Union européenne avec la communauté scientifique sont parvenues à la conclusion qu'il est très important ces dernières années de comprendre l'état actuel dans les milieux aquatiques avec l'aide de techniques analytique spécifiques.

L'analyse d'un échantillon d'eau au laboratoire consiste en un prélèvement d'eau, sa filtration, un stockage au congélateur, l'extraction des molécules d'intérêt et enfin l'analyse sur un chromatographe. Une partie de cette étude s'intéresse aux validations méthodologiques et en particulier à l'étape de stockage de l'échantillon. En effet, celle-ci doit assurer la stabilité de l'échantillon dans le temps.

Dans un premier chapitre seront présentés les différents composés étudiés, un peu d'histoire sur les développements de médicaments, ensuite la situation environnementale géographique de la Garonne, de la Jalle et Adige qui sont les systèmes environnementaux étudiés, les résultats de test de conservation et les résultats des analyses d'eau de station d'épuration et d'eau de surface seront dévoilés et discutés.

CHAPITRE 1

Substances pharmaceutiques et situation de l'environnement

1 .1 Liste des médicaments étudiés

1 .1.1 Antirétroviraux :

Les **antirétroviraux** (ARV) sont une classe de médicaments utilisés pour le traitement des infections liées aux rétrovirus. Cette famille de médicaments est indiquée pour le traitement des infections virales à rétrovirus, principalement le VIH (www.Eurekasante.fr 30/03/2012). Ces composés ont un fonctionnement particulier du même type des molécules anticancéreuses : la spécificité d'action. Cela consiste à bloquer le mécanisme de transcription des cellules saines et ensuite bloquer celle du rétrovirus. C'est la raison pour laquelle les molécules antirétrovirales sont dirigées contre des molécules spécifiques du virus ou les enzymes, comme la transcriptase inverse (*Inhibiteurs de la transcriptase inverse*), les protéases (*Inhibiteurs des protéases*) procédant à la création des nouveaux virions ou pour les médicaments les plus récents, les mécanismes de fusion virale avec la cellule saine (*Inhibiteurs de Fusion*) ou ceux réalisant la liaison préalable avec cette dernière (*Inhibiteurs d'entrée*).

Inhibiteurs des transcriptase inverse , sont une classe d'antirétroviraux utilisés pour traiter les infections au VIH, les tumeurs et certains cancers. Les RTI inhibent l'activité de la transcriptase inverse (bloquant une enzyme nécessaire à la reproduction du virus du SIDA dans les cellules infectées. En effet les antirétroviraux bloquent une des étapes essentielles du cycle de reproduction du virus, mais n'ont pas d'effet sur son élimination complète. Il existe deux types d'inhibiteurs de la transcriptase inverse : nucléotidiques et non nucléotidiques qui sont de toute façon associés toujours à d'autres médicaments antirétroviraux (www.Eurekasante.fr 29/03/2012).

NRTI - Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse :

Abacavir : est utilisé pour le traitement de l'infection à VIH. L'abacavir est capable de franchir la barrière sang-cerveau. Administré par voie orale, métabolisé dans le foie par glycoconjugaison et par l'alcool déshydrogénase, et enfin éliminé par voie rénale (www.paginesanitarie.it, 04/04/12). Il est toujours utilisé en association avec le lamivudine.

Lamivudine : Elle peut inhiber les deux types (1 et 2) de transcriptase inverse de VIH ainsi que celle du virus de l'hépatite B (www.Eurekasante.fr, 04/04/12). Pour qu'elle devienne active, il faut qu'elle soit phosphorylée sous sa forme triphosphate. Le triphosphate de 3TC inhibe ainsi l'ADN polymérase cellulaire. Elle est actuellement le médicament antirétroviral le plus utilisé, prescrit pratiquement systématiquement, et ceci depuis son introduction dans la trithérapie en 1995-1996, années où la mortalité due au Sida a chuté considérablement (Castagna *et al.* .2006). La lamivudine est administrée par voie orale, et elle est rapidement absorbée. Elle est souvent utilisée en combinaison avec la zidovudine. Ces deux antirétroviraux agissent de manière synergétique.

La zidovudine (azidothymidine, AZT ou ZDV) est un médicament antirétroviral, le premier utilisé pour le traitement de l'infection par le VIH. C'est un inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (NRTI). Cette molécule est commercialisée sous le nom de **Retrovir** mais aussi, en association avec d'autres molécules sous le nom de **Combivir** (mono-dose zidovudine et lamivudine) ou **Trizivir** (mono-dose zidovudine, lamivudine et abacavir). (www.eurekasante.fr 04/04/12)

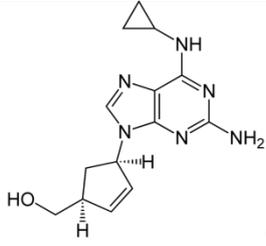
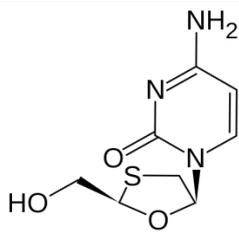
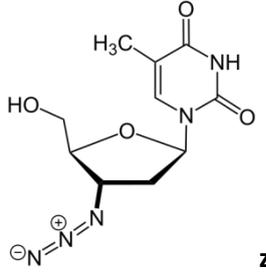
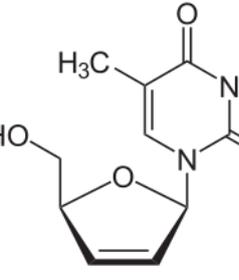
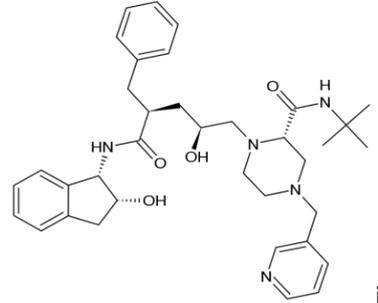
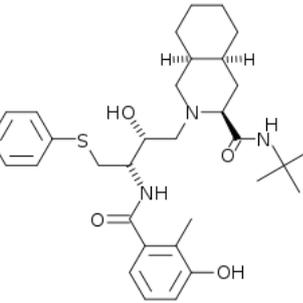
nNRTI - Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse :comme laNevirapine

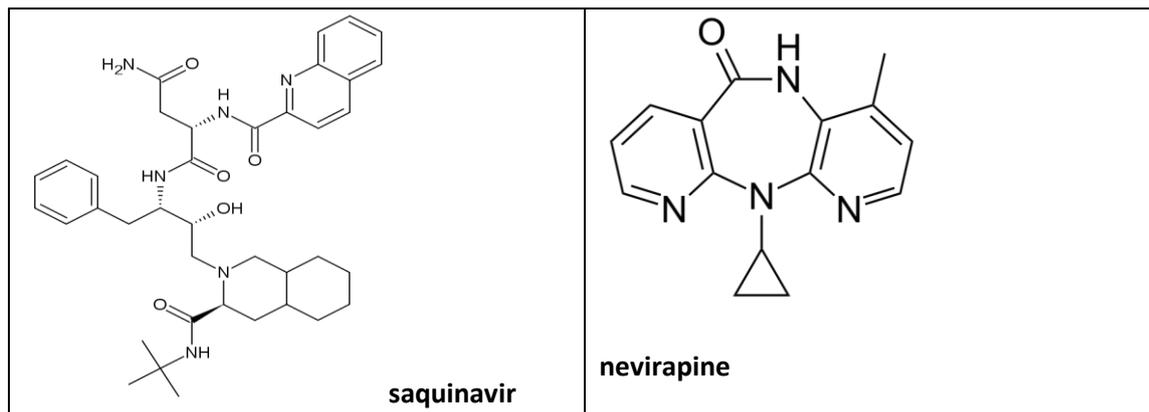
Inhibiteur de protéase IP :

Les IP antirétroviraux agissent en inhibant l'action d'une protéasevirale (concernant le VIH mais également le virus de l'hépatite C) qui permet le clivage et l'assemblage des protéines virales, processus indispensable à l'obtention de virus infectieux. On obtient alors des virions incapables d'infecter de nouvelles cellules. Le traitement par des IP se traduit par une diminution durable et marquée de l'ARN plasmatique viral, s'accompagnant d'une élévation des lymphocytes CD4. On manque encore souvent de données sur les effets secondaires et la toxicologie(www.pistes.fr 04/04/12).

Les IP anti HIV s'avèrent utiles en traitement anti malaria et infections gastrointestinales à protozoaires:

- Ritonavir et Lopinavir combinées contre les infections à *Giardia*
- Saquinavir, Ritonavir et Lopinavir comme anti-malaria

 <p>abacavir</p>	 <p>lamiduvine</p>
 <p>zidovudine</p>	 <p>stavudine</p>
 <p>indinavir</p>	 <p>nelfinavir</p>



1.1.2 Psycholeptiques :

Un **psycholeptique** est une substance calmante, possédant la capacité de faire diminuer l'activité psychique, la tension émotionnelle et permet d'améliorer le sommeil (www.vulgaris-medical.fr). Le terme de psycholeptique regroupe plusieurs substances qui sont :

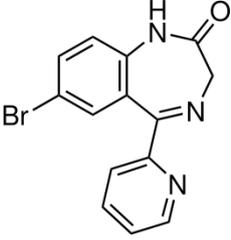
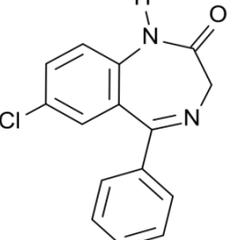
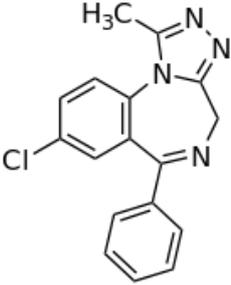
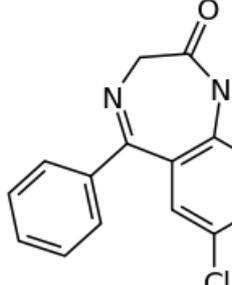
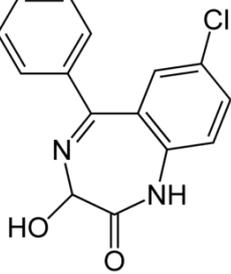
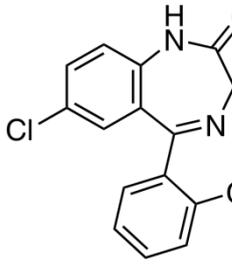
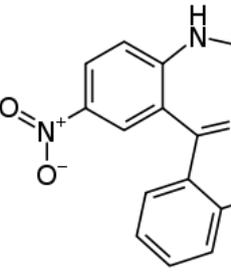
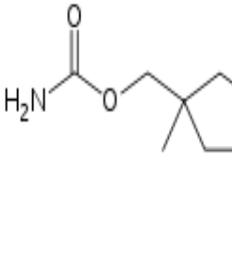
- Les neuroleptiques qui ont la capacité de lutter contre les symptômes de la psychose ou des psychoses.
- Les anxiolytiques qui réduisent le phénomène d'anxiété.
- Les hypnotiques, c'est-à-dire les somnifères, qui induisent le sommeil.

Les **benzodiazépines (BZD)** sont une classe de médicaments psychotropes utilisés dans le traitement de l'anxiété, de l'insomnie, de l'agitation psychomotrice, des convulsions ou des spasmes. Elles ont une formule chimique avec un cycle de diazépine fusionné et un cycle de benzène. La caractéristique des benzodiazépines est qu'elles agissent sur les neurotransmetteurs des neurones du système nerveux central en augmentant leur activité inhibitrice et provoquer un état de sédation (MM. Jean-Michel Dubernard *et al.* Assemblée nationale le 22 juin 2006).

Il a été étudié que l'utilisation à long terme (plus d'un mois) de ces substances peut être problématique, en raison de l'apparition d'une addiction de dépendance et d'un syndrome de sevrage à l'arrêt de consommation (Prof. Malcom Lader, London 6 janvier). Les benzodiazépines ont été développées dans les années 1950, certains ont été introduits dans les années 1960. En pharmacologie les BZD sont des sédatifs hypnotiques semblables à l'alcool, le chloral, les barbituriques et le méprobamate. L'utilisation de benzodiazépines a augmenté de façon spectaculaire au cours des années 1960 et 1970 (*Journal of Substance Abuse Treatment*, Vol. 8, pp. 53-59, 1991).

L'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) vient de publier un état des lieux de la consommation des benzodiazépines et médicaments apparentés (il s'agit des somnifères Imovane et Stilnox qui présentent un mécanisme d'action proche des benzodiazépines). La France fait partie des plus gros consommateurs de benzodiazépines en Europe. Elle se place après le Portugal (premier consommateur d'anxiolytiques) et la Suède (premier consommateur d'hypnotiques). En 2010, un Français sur cinq en a consommé au moins une fois et 60% des consommateurs sont des femmes.

La consommation de ces médicaments augmente avec l'âge(www.afssaps.fr 05/04/12). Ce bilan permet aux autorités de santé d'évaluer l'impact non seulement dans le secteur humain mais aussi dans le milieu environnement.

1.1.3 Analgésiques

Les **analgésiques** sont utilisés pour diminuer ou éliminer la sensation de douleur d'un patient. Les analgésiques sont délivrés sans ordonnance et le plus commun sont l'aspirine, le paracétamol et l'ibuprofène (www.afssaps.fr 12/04/2012).

Il existe différents types d'analgésiques, les analgésiques centraux non morphiniques et les analgésiques périphériques qui sont ceux les plus utilisés. Les médicaments qui nous intéressent sont :

L' **Aspirine** est l'un des médicaments plus courant et plus populaire. A l'échelle mondiale, cela représente plus de 35 000 tonnes ou 100 milliards de comprimés (*Gilles Camus, Nicolas Lévy Article publié le 23 avril 2010*). L' Aspirine est le premier médicament dont le principe actif était l'acide acétylsalicylique (Aspirine, médicament mis sur le marché en 1899). Le nom chimique de cette molécule est l'acide 2-(acétyloxy)benzoïque (*Hazardous Substances Data Bank 20/04/12*).

Cette molécule est présente à l'état naturel dans un certain nombre de plantes comme le saule (*Salix alba*, qui est à l'origine du nom acide acétylsalicylique) ou la reine-des-prés (*Filipendula ulmaria* mais anciennement dénommée *Spiraea ulmaria*, ce qui est à l'origine du nom **aspirine**). L'Aspirine est utilisée depuis très longtemps: des décoctions de feuilles de saule étaient utilisées durant l'antiquité par les grecs (400 avant J.C.) pour lutter contre la douleur et la fièvre. De nos jours, l'aspirine utilisée en pharmacologie n'est plus extraite d'une plante mais obtenue par synthèse chimique à partir de phénol C_6H_5OH .(La Revue de Médecine Interne, H. Lévesque, O. Lafont).

L'Aspirine est couramment utilisée en cas de douleur (action antalgique) et en cas de fièvre (action antipyrétique), pour son action anticoagulante parce qu'elle peut aussi prévenir les problèmes circulatoires, mais en parallèle elle a beaucoup d'effets indésirables. (www.eurekasante.fr 20/04/12).

L'Acide salicylique ou **acide 2-hydroxybenzoïque** est un composé organique aromatique. C'est un solide cristallin incolore que l'on trouve naturellement dans certains végétaux, dont le saule (d'où il tire son nom), utilisé comme médicament et comme précurseur de l'acide acétylsalicylique, l'aspirine. (*Hazardous Substances Data Bank 20/04/12*). Il est utilisé surtout pour la fièvre. Ensuite l'acide salicylique est étudié au labo puisqu'il est un produit de dégradation de l'aspirine.

Ketoprofène est un dérivé de l'acide propionique [acide (benzoyl-3 phényl)-2 propionique], anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), il a un puissant effet anti-inflammatoire en cas d'inflammation aiguë, subaiguë et chronique, et il est utile pour le traitement de la douleur postopératoire et pour les douleurs chroniques (p. ex. arthrite) ainsi que pour le traitement symptomatique de la fièvre (www.afssaps.fr 20/04/12).

Naproxène (AINS) utilisé pour traiter les douleurs faibles ou modérées, comme la fièvre, l'inflammation et les arthralgies de certaines pathologies telles l'ostéoarthrite, l'arthrite rhumatoïde, l'arthrite psoriasique, la goutte, la spondylite ankylosante, les blessures, les douleurs menstruelles, la tendinite, la bursite et le traitement de la dysménorrhée primaire. (www.nlm.nih.gov 02/05/12)

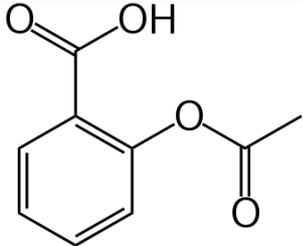
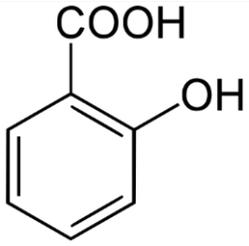
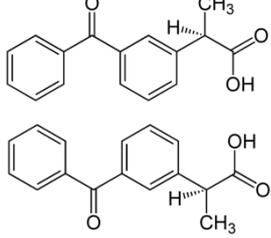
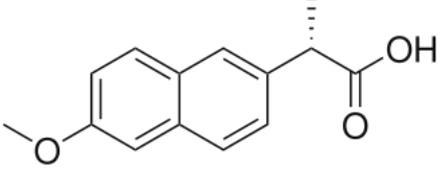
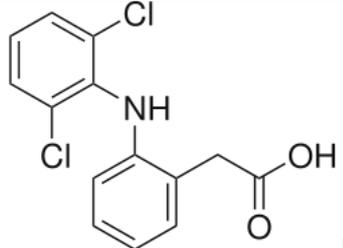
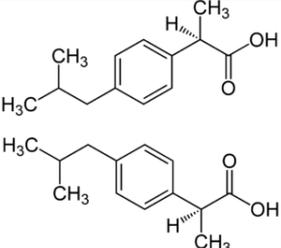
Ibuprofene est un médicament anti-inflammatoire, utilisé pour soulager les symptômes plus communs comme la fièvre et la douleur d'intensité légère ou modérée causée par l'inflammation. On croit qu'il agit en interrompant la production des prostaglandines, lesquelles sont responsables de l'inflammation. (www.doctissimo.fr 31/05/2012)

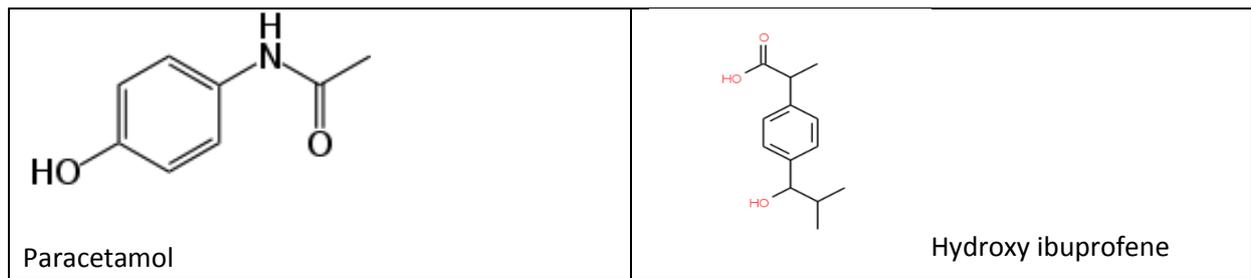
Hydroxy Ibuprofene est un métabolite de l'ibuprofène, il été trouvé dans les urines (Dorte R.kepp, Ulla G sidelmann et al. N.5 1997). Une autre étude a montré la présence de ce métabolite dans les stations d'épuration (STEPS), puisque les résidus pharmaceutiques ne sont pas totalement éliminés et sont ainsi rejetés dans le milieu récepteur (Dirk Löffler, Thomas A Ternes 22decembre 2003).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'Ibuprofène, agissent en inhibant une enzyme importante dans le mécanisme de l'inflammation et de la douleur (COX ou cyclo-oxygénase). Le naproxène n'est pas spécifique, contrairement aux nouveaux AINS qui ciblent spécifiquement la COX-2. (www.afssaps.fr 02/05/12).

Paracétamol est la substance active de nombreuses spécialités médicamenteuses de la classe des antalgiques antipyrétiques non salicylés. Il est indiqué dans le traitement symptomatique de la fièvre et des douleurs d'intensité faible à modérée, seul ou en association à d'autres analgésiques. Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens et notamment à l'aspirine, il est dépourvu de propriétés anti-inflammatoires et n'agit pas sur l'agrégation plaquettaire. (www.afssaps.fr 02/05/12)

Le paracétamol est le médicament le plus prescrit en France — les trois médicaments les plus prescrits sont tous à base de paracétamol et totalisent plus de 260 millions de doses (le moniteur des pharmacies - cahier III - n°2634)



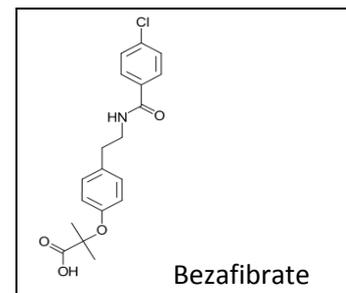
1.1.4 hypolipémiant

C'est un médicament capable de diminuer une hyperlipidémie (il augmente le taux des lipides dans le sang). Tous les médicaments hypolipémiants sont actifs contre l'excès de cholestérol ou contre l'excès de triglycérides (inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase, fibrates, tiadénol).

DIFFÉRENTS TYPES D'HYPOLIPÉMIANT

Les hypolipémiants sont classés selon leurs différents modes d'action :

— Les fibrates (bézafibrate, clofibrate, fénofibrate, gemfibrozil) stimulent la destruction des lipides dans les vaisseaux sanguins et inhibent la synthèse du cholestérol par le foie. Ils sont incompatibles avec les anticoagulants du groupe des antivitamines K car ils augmentent leur action. Contre-indiqués en cas de grossesse et d'insuffisance hépatique, ils provoquent parfois l'apparition de calculs biliaires mais sont bien tolérés dans l'ensemble. L'acide 4-chlorobenzoïque, l'acide clofibrique et l'acide fénofibrique sont les métabolites respectivement du bézafibrate, du clofibrate et du fénofibrate.



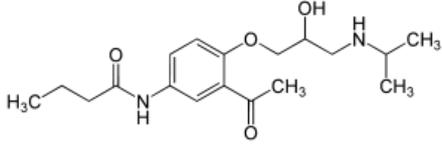
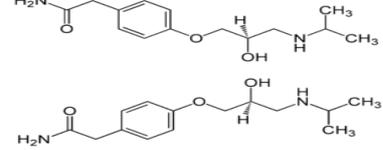
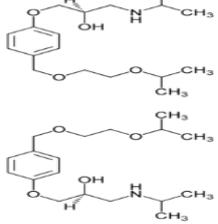
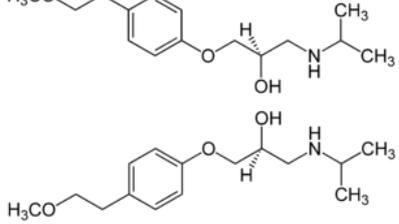
— Les inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase (atorvastatine, fluvastatine, pravastatine, rosuvastatine, simvastatine) empêchent l'action d'une enzyme intervenant dans la synthèse du cholestérol à partir d'une substance appelée acétyl-coenzyme A (ou acétyl-CoA). Ils sont bien tolérés.

1.1.5 β -bloquants

β -bloquant est un médicament qui bloque l'action des médiateurs du système adrénergique tels que l'adrénaline, utilisé surtout en cardiologie. Les **bêta-bloquants** prennent la place de ces médiateurs sur les récepteurs β mais ne provoquent pas de réaction de la part du récepteur, ou une réaction moins forte que s'il avait reçu un médiateur. Certains β -bloquants empêchent l'apparition des médiateurs adrénergiques, et indirectement s'opposent à leurs actions.

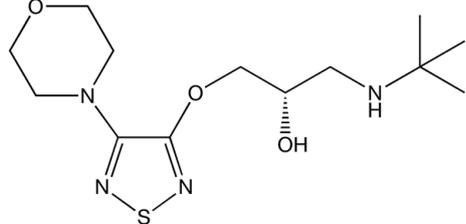
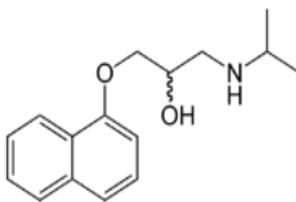
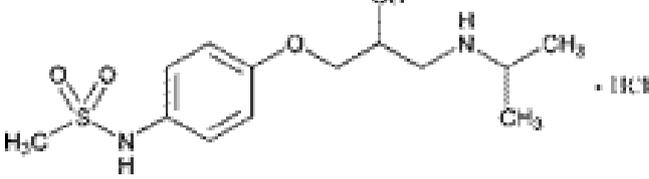
Il existe différents types :

β -bloquants cardio-sélectifs

 <p style="text-align: right;">Acebutolol</p>	 <p style="text-align: right;">Atenolol</p>
 <p style="text-align: right;">Bisoprolol</p>	 <p style="text-align: right;">Metoprolol</p>

β -bloquants non-cardio-sélectifs : Propranolol, Sotalol, Timolol

Ces médicaments à l'origine sont destinés à lutter contre l'hypertension, les arythmies cardiaques et la migraine, mais sont beaucoup utilisés comme dopants pour les athlètes et ont été interdits dans le commerce. Le plus connu est le propranolol du fait des toxicités élevées (Zuccato et al. *Journal of Hazardous Materials*)

 <p style="text-align: right;">Timolol</p>	 <p style="text-align: right;">Propranolol</p>
 <p style="text-align: right;">Sotalol</p>	

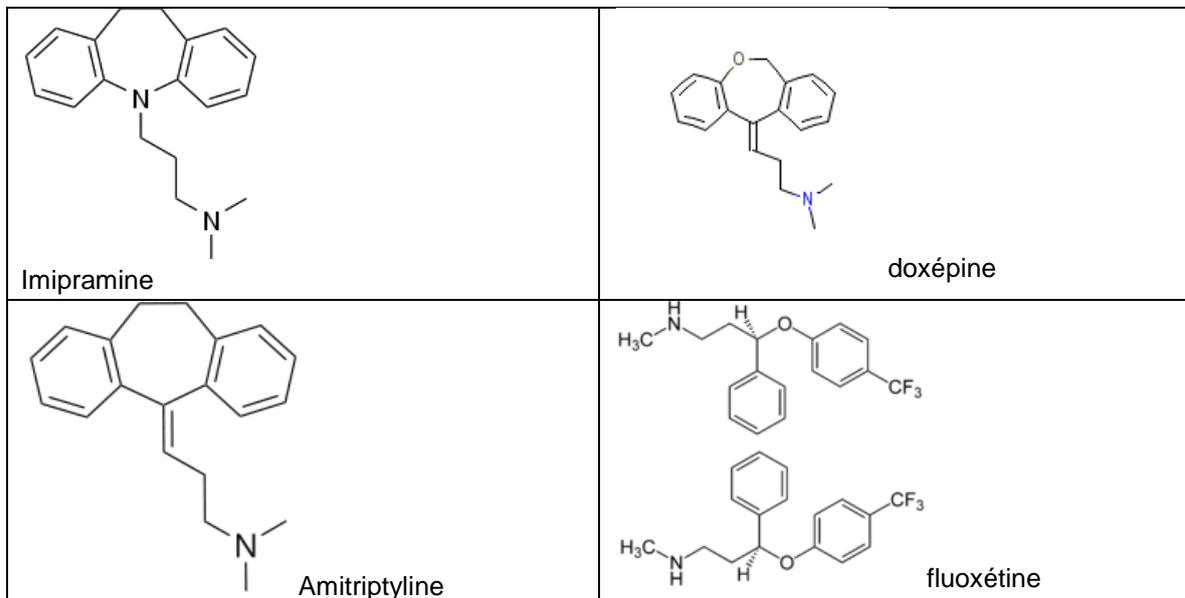
1.1.6 Antidépresseurs

Les **antidépresseurs** sont des médicaments qui peuvent changer l'humeur dépressive jusqu'à l'état normal et qui pour la plupart peuvent également diminuer l'anxiété forte, angoisse, crises de panique, troubles obsessionnels compulsifs (www.afssap.fr 02/05/2012). Les psychiatres prescrivent ces médicaments pour la stimulation psychique ou psycho-analeptique qui ont une action sur les fonctions thymiques (Koupernik, C., H. Lôo, and E. Zarifian, *Précis de psychiatrie*. Flammarion médecine-sciences ed. 1982). Tous les antidépresseurs ont une activité sur les neuro-transmetteurs monoaminergiques, soit directement soit indirectement; ceux qui agissent directement n'interfèrent pas sur les mono-amines de la même manière (Lôo, P. and H. Lôo, *La Dépression*). PUF ed, ed. Q. sais-je? 1991. 127

En fonction de leur structure et de leur mécanisme d'action, les antidépresseurs sont souvent classés de la façon suivante (psychotropes, Pr Franck P4) :

- Inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)
- Antidépresseurs tricycliques (ATC)
- Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS)
- Inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-noradrénaline (IRSNa)
- Les autres : Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la noradrénaline (ISRNA), antidépresseurs tétracycliques, inhibiteurs de la recapture de la sérotonine, de la norépinéphrine et de la dopamine.

La consommation d'antidépresseurs semble être plus élevée en France que dans les pays comparables (Olié JP; Elomari F; Spadone C; Lépine JP).



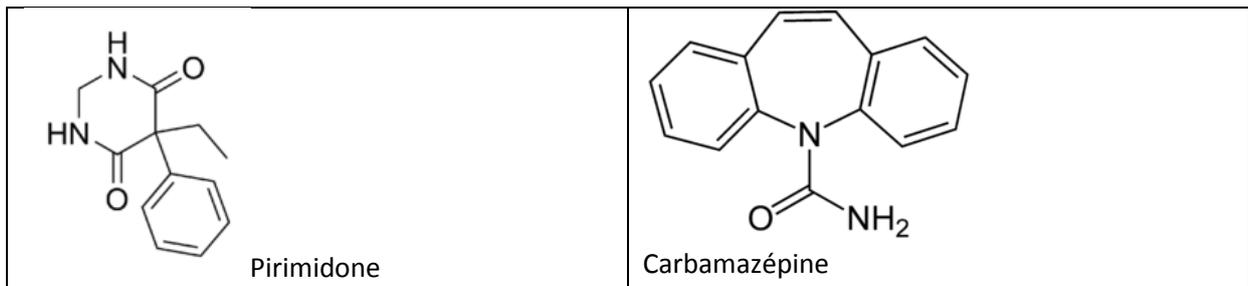
1.1.7 Anticonvulsivants

Ce sont tous des médicaments contre l'épilepsie. Les anticonvulsivants appartiennent à un groupe varié de médicaments ils sont capables de diminuer la fréquence des crises, voire de les supprimer,

mais l'arrêt du traitement signe leur reprise. Ils peuvent être indiqués aussi dans d'autres pathologies, comme antalgiques, anxiolytiques ou thymorégulateurs. Les benzodiazépines (Valium), le phénobarbital, la phénitoïne, sont des antiépileptiques. (www.vulgaris-medical.com 03/05/12)

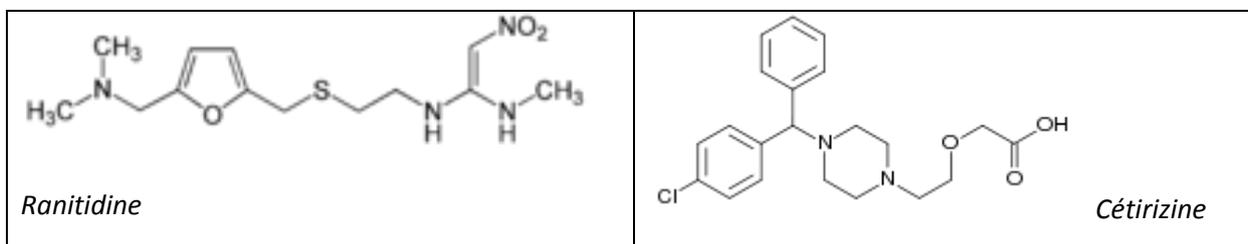
Les anticonvulsivants : barbituriques, hydantoïnes, oxazolidines, succinimides, benzodiazépines, carboxamides(www.afssaps.fr 03/05/12)

Les médicaments analysés dans le test de conservation sont : Le pirimidone qui est une molécule de la famille des barbituriques et la carbamazépine.



1.1.8 Antihistaminiques

C'est un médicament utilisé pour réduire ou éliminer les effets de l'histamine, c'est un médiateur chimique endogène libéré, au cours des réactions allergiques, par action sur les récepteurs de l'histamine.



1.1.9 Autres

Le **clenbuterol** est traditionnellement utilisé à des fins vétérinaires (Ventipulmin). C'est un anti catabolisant non-hormonal. Prescrit à l'origine pour les affections broncho-pulmonaires spastiques chez le cheval de course.

La **caféine** se trouve dans les graines, les feuilles et les fruits de différentes plantes où elle agit comme insecticide naturel (The Harvard Crimson by Christopher J. Georges October 09, 1984), paralysant (H. huddart, Published Elsevier, 13 March 2003) ou tuant les insectes qui s'en nourrissent. De plus, elle est couramment consommée sous forme d'infusions, ou dans plusieurs aliments et boissons contenant des produits dérivés de la noix de Kola. La caféine est également un composant des complexes chimiques insolubles que sont la guaranine, la matéine et la théine, découverts respectivement dans la graine de guaraná, la feuille de yerba maté et de théier.

La caféine agit comme stimulant du système nerveux central et du système cardio-vasculaire, car elle diminue la somnolence et augmente l'attention temporairement. Des boissons contenant de la caféine telles que le café, le thé, certains sodas et certaines boissons énergisantes sont très populaires. De fait, la caféine est la substance psychoactive la plus consommée au monde ; elle est légale dans tous les pays à la différence d'autres substances psychoactives. En Amérique du Nord, 90 % des adultes consomment de la caféine quotidiennement. La *Food and Drug Administration* liste la caféine parmi les « substances alimentaires à buts multiples généralement reconnues comme sans danger ».

La **théophylline** est un autre alcaloïde. C'est la principale substance active des feuilles de thé, d'où elle tire son nom, mais on en retrouve également dans le café, le maté et le guarana. Le thé contient aussi d'autres alcaloïdes comme la caféine ou la théobromine. Elle agit comme diurétique, comme psychoanaleptique, comme bronchodilatateur et comme agent lipolytique.

Le **sildénafil** est un médicament de la classe des Inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 développé par la firme pharmaceutique Pfizer sous la marque **Viagra**[®]. Le médicament est indiqué dans les troubles de l'érection et l'hypertension artérielle pulmonaire (**Revatio**[®]).

L'**oméprazole** (dénomination commune internationale) est une substance active médicamenteuse de la famille des inhibiteurs de la pompe à protons qui réduit la sécrétion acide de l'estomac.

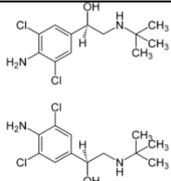
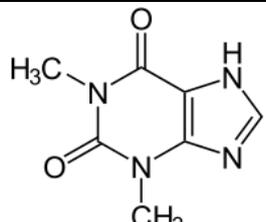
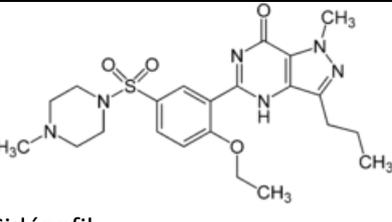
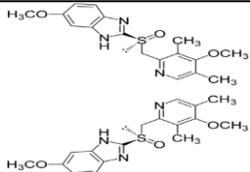
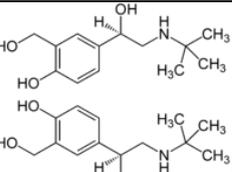
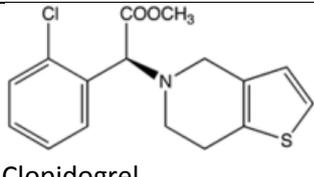
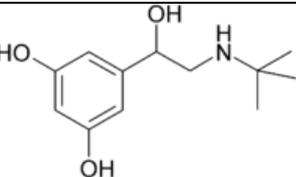
Le **salbutamol** (DC) est un agoniste des récepteurs β_2 -adrénergiques donc bronchodilatateur à courte durée d'action utilisé dans le soulagement des bronchospasmes dans des états tels que l'asthme et les broncho-pneumopathies chroniques obstructives.

Le **sulfate de salbutamol** est en général administré sous forme d'inhalations pour obtenir un effet direct sur les muscles lisses des bronches. Ceci est en général réalisé sous forme d'un aérosol-doseur ou nébuliseur ; mais l'on rencontre d'autres formes de sulfate de salbutamol tels le Rotahaler, le Diskhaler, l'Autohaler et la Ventoline. Le salbutamol peut également être administré par voie orale ou intraveineuse.

Le **clopidogrel** est un médicament antiagrégant plaquettaire par antagonisme aux récepteurs plaquettaires de l'adénosine diphosphate, appartenant à la classe des thiénoopyridines. Il est commercialisé par Bristol-Myers Squibb et Sanofi sous la marque **Plavix**, par Sun Pharmaceuticals sous le nom de marque **Clopilet**, par Ranbaxy Laboratories sous le nom de **Ceruvin**. Il consiste en un énantiomère S dextrogyre. Il a été diffusé en France en 2010.

La **terbutaline** est un médicament sympathicomimétique agoniste des récepteurs β_2 -adrénergiques, utilisé comme bronchodilatateur à action rapide et pour retarder l'accouchement prématuré.

Le **disopyramide** est un antiarythmique de classe Ia utilisé pour le traitement médical des arythmies cardiaques.

 <p>Clenbuterol</p>	 <p>Caféine</p>
 <p>Theophylline</p>	 <p>Sildenafil</p>
 <p>Oméprazole</p>	 <p>Salbutamol</p>
 <p>Clopidogrel</p>	 <p>Terbutaline</p>

1.1.10 Métabolites de la Carbamazépine

La carbamazépine a une structure dibenzoazépine (5-carbamyl-5H-dibenzoazépine), elle est apparentée chimiquement aux antidépresseurs tricycliques.

L'administration se fait par voie orale, 75 à 85 % de la dose ingérée est absorbée par le tube digestif et atteint la circulation générale.

Elle est métabolisée au niveau hépatique, comme les autres antiépileptiques c'est dans le foie que se fait la transformation à 98%. Le métabolite principal obtenu par oxydation est le 10,11 époxyde pharmacologiquement actif.

L'époxyde serait responsable des effets secondaires (action antidiurétique, thromboembolies, troubles de conduction, syndrome cholinergique). Sa concentration est variable en fonction de la durée et des traitements associés.

La proportion d'époxyde augmente, en cas d'administration répétée, dans les urines, ceci est expliqué par l'auto-induction du métabolisme de la carbamazépine.

Le problème est que la carbamazépine est un puissant inducteur enzymatique au niveau du foie, elle accélère le catabolisme de tous les médicaments par la stimulation des microsomes hépatique compris le sien. (Monique Manchon, Roland MELEY juin 2000)

Cet effet biologique augmente la transaminase et la gamma- GT.

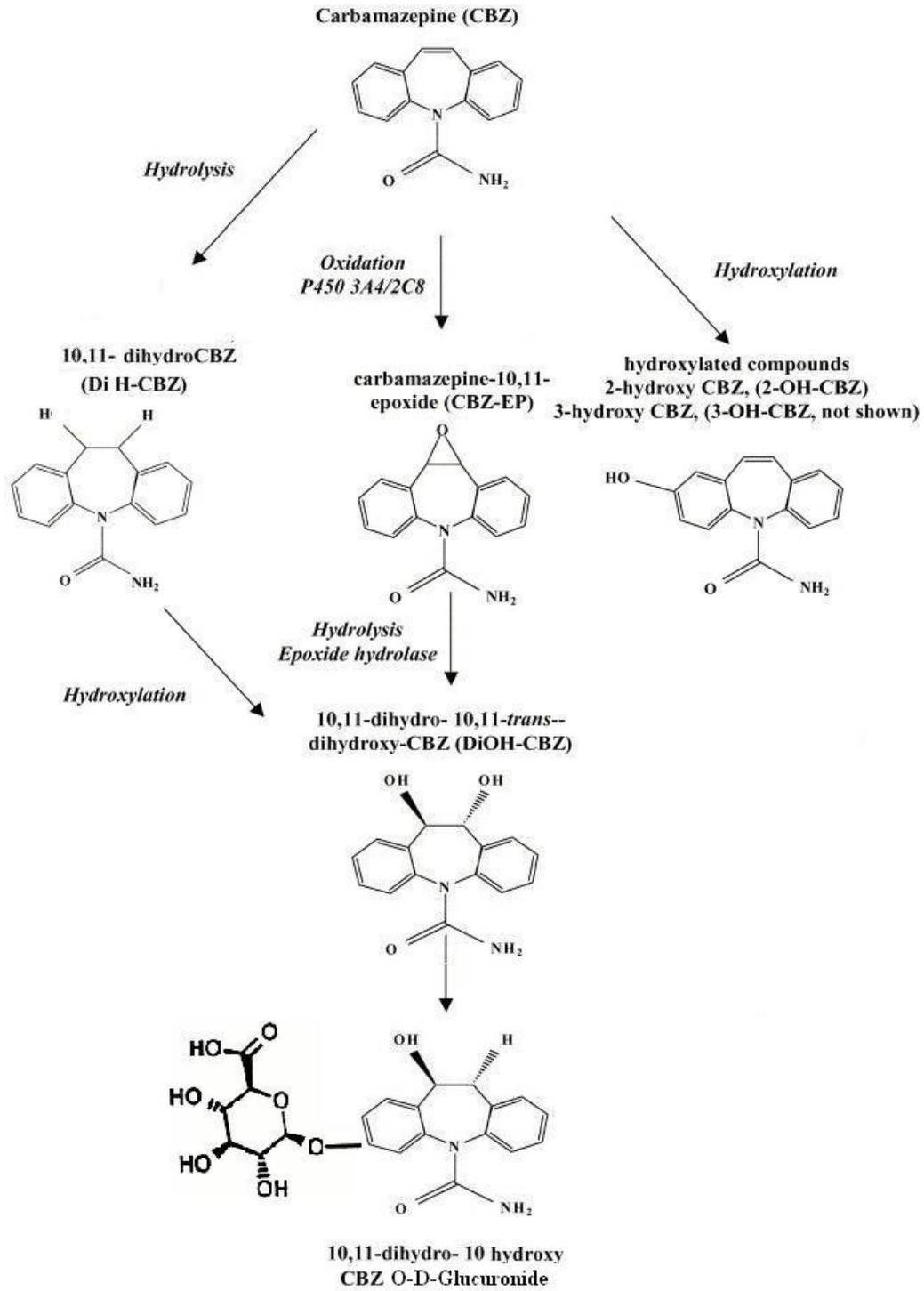
A partir des années '90 ont été réalisées des études sur des femmes enceintes souffrant d'épilepsie. Les études ont constaté que la carbamazépine et certains métabolites ont réussi à traverser le placenta et entrer dans le liquide amniotique.

Sur 159 grossesses de 137 femmes ont utilisé dans le premier trimestre la carbamazépine, et à la fin 9 enfants sont nés avec différents types de malformations congénitales majeures. (Hum Exp Toxicol 1993 Jan;12(1):71).

L'élimination de la carbamazépine est de 70 % par le rein, essentiellement sous formes de métabolites (10,11-dihydroxyle) et celle de la carbamazépine inchangée est de seulement 1% avec une élimination biliaire de 30%, le chiffre est variable d'un individu à l'autre.

Un petit pourcentage est éliminé par les matières fécales. (www.prontuariofarmaci.com 09/05/12).

Les études n'ont pas été seulement réalisées sur les humains mais aussi dans l'environnement. Des études ont été réalisées sur l'utilisation de l'urine humaine comme fertilisant ; il se trouve que les composés qui étaient plus présents dans les sédiments et dans les plantes étaient les métabolites de la carbamazépine. Il est donc constaté que ces composés sont résistants, même au niveau toxique pour l'environnement (Winker M et al. Ryegrass uptake of carbamazépine and ibuprofen applied by urine fertilization).



1.2 Commercialisation en France

1.2.1 Historique des médicaments

Historique de l'évolution de la découverte et le développement de médicaments à la mise à vente :

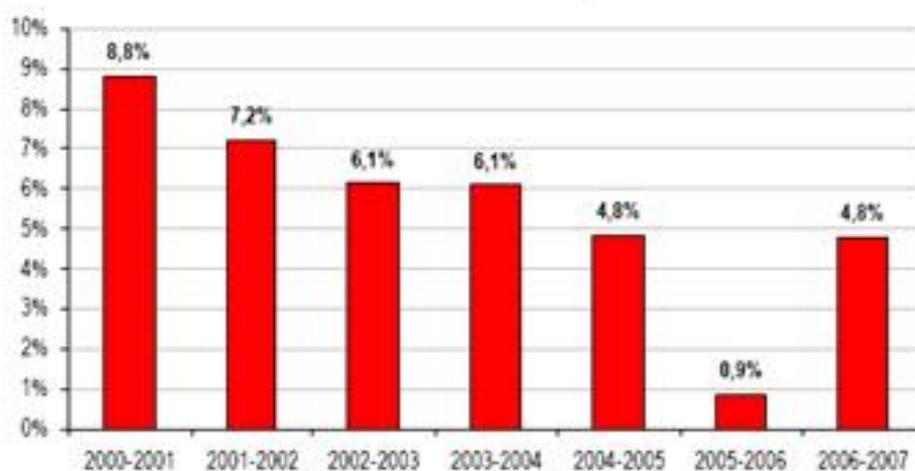
- 1803 *La Morphine* est isolée à partir de végétaux par Friedrich Wilhelm Adam Sätürner
- 1853 *Aspirine* : l'acide acétylsalicylique synthétisé à Strasbourg par Charles Frederich Gerhardt
- 1893 *Aspirine* commercialisée (les études ont été reprises par Félix Hoffmann)
- 1920 *Ergotamine* isolée par Arthur Stoll
- 1923 Prix Nobel de médecine pour BandingetMcLéod pour *l'Insuline*
- 1928 Naissance du *premier antibiotique* (à l'état de réactif de laboratoire)
- 1935 Naissance du *premier anti-infectieux*
- 1936 Utilisation de *l'Héparine standard non fractionnée*
- 1941 Le premier antibiotique devient médicament : découverte de la *Pénicilline*
- 1946 Découverte de la *Streptomycine* (anti-tuberculeux)
- 1948 Découverte des *Tétracyclines* : Chlorotétracycline (Auréomycine)
- 1949 Découverte du *Lithium*
- 1950 Découverte *des Neuroleptiques*
- 1951 Première utilisation d'un *anti-tuberculeux par voie orale* (Isoniazide)
- 1952 Découverte de la *Cortisone Purinethol* (anticancéreux anti-leucémique puissant)
- 1955 Découverte des *sulfamides hypoglycémiants* dans le traitement du diabète
- 1956 Pincus met en place *la première pilule* à base de progestérone
- 1957 Vaccination contre le virus grippal
- 1961 Découverte de *l'Ampicilline*
- 1964 Découverte de *l'Amoxicilline* et de la *Cabenicilline*
- 1966 Apparition en France de *la pilule oestroprogestative*
- 1967 Autorisation de mise sur le marché en France de *l'Avlocardyl*, 1er bêta-bloquant apparu
- 1972 *L'Amoxicilline* est mise sur le marché
- 1974 Découverte du *Cefadroxil* (Oracefal°)
- 1980 Production du *premier interféron recombinant* (Interféron alpha-2a)
- 1985 *La Zidovudine* est identifiée comme médicament anti-viral (contre le virus HIV) Clonage du gène de l'Erythropoïétine humaine
- 1988 *Mise sur le marché en France de l'Erythropoïétine* pour le traitement de l'anémie de l'insuffisance rénale. (adsp n° 27 juin 1999)

1.2.2 Augmentation de l'utilisation des médicaments :

Les efforts entrepris par l'Assurance Maladie et les acteurs du système de santé pour les maîtriser portent leurs fruits : depuis 2000, le taux de croissance annuelle des dépenses de médicaments a ainsi diminué de moitié environ : de +8,8% en 2001 à +4,8% en 2007 (voir le graphique établi par la CNAMTS ci-dessous).

Le fort ralentissement de la croissance des dépenses de médicaments constaté en 2006 (+0,9%) est imputable à l'impact des mesures décidées dans le cadre du plan médicament 2005-2007. Ce plan reposait sur le développement du marché des génériques, des baisses de prix ciblées sur des produits encore sous brevet et une nouvelle politique de régulation des médicaments à l'hôpital. Ce plan a généré 3,2 milliards d'euros d'économies sur 3 ans.

Evolution du taux de croissance des dépenses de médicaments*



* y compris dépenses de rétrocession hospitalière.

Consommation de médicament par personne et par an jusqu' à 2006 :

Année	Consommation de médicaments ^[1] (en M€)	Consommation par personne et par an (en €)	Indice de « volume » par personne ^[2] (= effet structure + effet quantité)
1980	5 136	95	67,8
1985	9 787	177	79,8
1990	14 654	258	100,0
1995	19 258	331	115,0
2000	25 069	414	135,4
2005	31 463	500	148,6
2006	31 942	504	147,4

[1] Y compris autres produits pharmaceutiques, produits sanguins, préparations magistrales, honoraires spéciaux du pharmacien d'officine mais hors médicaments hospitaliers.

[2] «Volume» : il s'agit de la progression de la valeur de la consommation, à prix constant, pour tous les produits. Il y a donc un effet qualité (produit innovant prescrit à la place d'un produit ancien), un effet quantité, et un effet prix. L'effet qualité représente actuellement la plus grande part de la progression.

1.3 Caractéristiques géographiques et physiques des systèmes hydrologiques étudiés

1.3.1 Garonne

La **Garonne** est un fleuve qui naît dans le Val d'Aran, dans les Pyrénées, et donc elle traverse deux pays la France et l'Espagne et coule sur 647 km avec l'estuaire de la Gironde. Le débit moyen est de $631 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$

L'axe Garonne est très urbanisé, avec un peu plus d'un million d'habitants : les villes les importantes sur le bassin versant sont Toulouse, Bordeaux et Agen, cette population étant en expansion.

Les cycles sédimentaires marins et continentaux déterminent son histoire géologique et ont permis d'utiliser la ressource en eau souterraine essentielle pour l'alimentation en eau potable.

Ces ressources souterraines sont très sensibles aux pollutions externes (agricoles et urbaines) ou aux intrusions salines.

Caractéristiques :

Le fleuve	
Longueur	522,58 km
Pente	En Espagne 60 ‰ En France 1,2 ‰ France et Espagne 5,4 ‰
Largeur au point le plus aval : amont d'île (commune de Macau)	1,2 km
Sinuosité	1,76
Population des communes riveraines	1 087 407 hab
Nombre de Départements traversés	5
Nombre de Régions traversées	2
Nombre de Pays traversés	2
Le bassin	
Surface de bassin versant	56 000km ²
Linéaire total des affluents	2437 km
Population comprise dans l'aire du PGE	2 207 275 hab
Densité de population du bassin	89,08 hab/km ²
Nombre de Départements concernés	11
Nombre de Régions concernés	3
Nombre de Pays concernés	3

Il y a deux stations d'épuration au niveau de Bordeaux : Close de Hilde et Louis fargue elles rejettent toutes les deux les effluents traités dans la Garonne. La Garonne coule vers l'estuaire, et est souvent sujette à des changements de température à cause des marées.

Les températures moyennes mensuelles relevées sur les stations du périmètre varient entre 5,7 °C en janvier et 19,5 °C en juillet et août. La température moyenne annuelle est de 12,5 °C.

Les précipitations sont relativement importantes dans la région bordelaise (en moyenne 915 mm/an) et modérées dans le Nord Médoc (en moyenne 757 mm/an) avec un ensoleillement moyen d'environ 2000 heures par an.

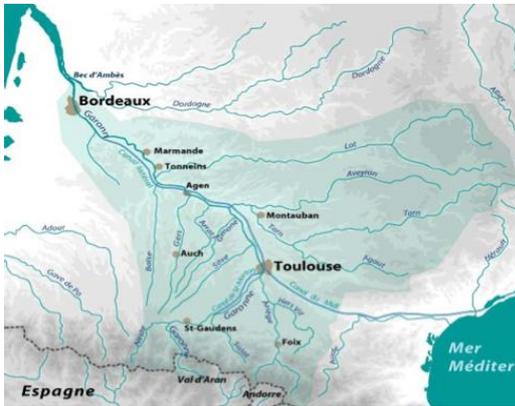
Les périodes de fortes précipitations s'observent d'octobre à décembre ainsi qu'au mois de mars (maximum au mois de décembre : moyenne de 105 mm). Les périodes de faibles pluviométries s'étalent de juin à septembre, le mois le plus sec étant le mois de juillet (48 mm).

L'excédent hydrique (précipitation > évapotranspiration) commence mi-septembre pour se terminer

fin avril, la période de déficit s'observe de fin avril à mi-septembre.

Il ne gèle en général pas plus de trente jours par an, les hivers sont doux et humides et on note des formations importantes de brouillards issus des plans d'eau (étangs, estuaire...).

Dans l'embouchure, les vents en provenance du Nord-Ouest sont les plus fréquents. Les vents les plus violents à l'origine de tempête et de fortes houles océaniques proviennent du secteur Sud-Ouest à Nord-Ouest et surviennent en général en hiver.



À Bordeaux le fleuve va s'agrandir et va être sous l'influence des marées. À marée montante se forme un mascaret qui remonte le fleuve. L'eau salée de l'océan remonte à Bordeaux en période d'étiage, quand le mascaret peut être observé jusqu'en amont de Cadillac en périodes de grandes marées.

Le mascaret est un phénomène qui se produit dans certains estuaires aux époques des grandes marées (on a répertorié environ 60 sites dans le monde). Actuellement, en France celui de la Gironde est le

plus important.

Il apparaît avec force dans des conditions très particulières : fort coefficient de marée, fleuve à faible débit et très faible niveau d'eau (2 à 4 mètres de profondeur). La marée montante qui est freinée par les flots de la rivière constitue une série de bourrelets qui peuvent atteindre 3 m de hauteur. Cet ensemble de vagues (une dizaine séparées d'une distance d'une dizaine de mètres) remonte l'estuaire avec une vitesse de 15 à 30 km/h. Il se propage ainsi sur plus de 150 km de distance puis disparaît dans les zones où le courant de marées est affaibli. (www.eptb-garonne.fr 11/05/12)

La pollution agricole : Elle se concentre surtout dans la moyenne vallée, où l'agriculture est très développée, étant à l'origine d'une pollution diffuse, et de rejets de viticulture. Les concentrations en nitrates, modérées sur la basse vallée, sauf localement dans les eaux de la nappe d'accompagnement.

La pollution urbaine et industrielle : Les deux métropoles, Toulouse et Bordeaux, et l'usine de papeterie de Saint Gaudens sont des points noirs de pollution industrielle. Des efforts d'assainissement sont faits à Bordeaux, la rénovation de la station de Toulouse étant prévue.

Les zones sensibles : Sur ce bassin, les affluents de la Garonne, rive gauche et rive droite sont, pour la plupart classés en zone sensible aux nitrates. La Garonne n'est pas classée en zone sensible pour l'eutrophisation mais de nombreux affluents le sont : les affluents gascons, l'Hers mort, les affluents rive droite du Dropt et du Tarn. (Etat des lieux – Version finale, approuvée par la CLE du 15 février 2007).

La Garonne est très importante dans différents secteurs. En écologie elle est importante car elle est une nourricerie naturelle pour certains poissons. C'est une zone de reproduction pour la lamproie marine et l'esturgeon.

Ensuite on y trouve des poissons migrateurs : esturgeon, grande alose, alose feinte, anguille, truite de mer, saumon, lamproie marine et fluviatile. L'esturgeon est en voie de disparition.

Le saumon et l'anguille sont en déclin à cause de la surpêche et des travaux en cours de restauration sur les axes Garonne et Ariège. L'anguille connaît des problèmes, à cause de la forte pression de pêche sur la civelle. Les effectifs de truite de mer et d'alose commencent eux aussi à diminuer.

Les oiseaux: les plus représentatifs du bassin sont le milan, le martin pêcheur, la mésange nonnette, ou encore le busard cendré. Beaucoup d'oiseaux migrateurs comme le héron bihoreau, l'aigrette garzette, héron pourpré s'arrêtent dans les zones humides, comme le plan d'eau de Saint Nicolas de la Grave.

Les mammifères: on remarque la présence de castors, de vison d'Europe et surtout le desman des Pyrénées qui sont des espèces protégées.

Les espèces introduites, comme le ragondin et le rat musqué, sont nuisibles car elles provoquent des érosions des berges et sont porteuses de maladies.

La navigation: est un autre secteur important pour la Garonne parce qu'elle est utilisée soit pour le commerce, soit pour le tourisme jusqu'à Langon et sur le canal de la Garonne.

Les péniches commerciales sont les bateaux les plus utilisés pour transporter céréales, produit pétroliers, granulats..mais la navigation de tourisme est un usage plus important qui représente 95% de la navigation. Elle est présente sur 99 km et concerne la Garonne, la Baïse et le canal latéral.

La pêche: La pêche professionnelle est concentrée en estuaire. Il y a 330 pratiquants en Gironde dont l'activité se concentre essentiellement sur les migrateurs.

1.3.2 Jalle de Blanquefort

La Jalle est située au nord-ouest de l'agglomération c'est un petit affluent qui se jette dans la Garonne. Proche de le fleuve se trouve la station d'épuration de Cantinolle (85000 eq.hab).

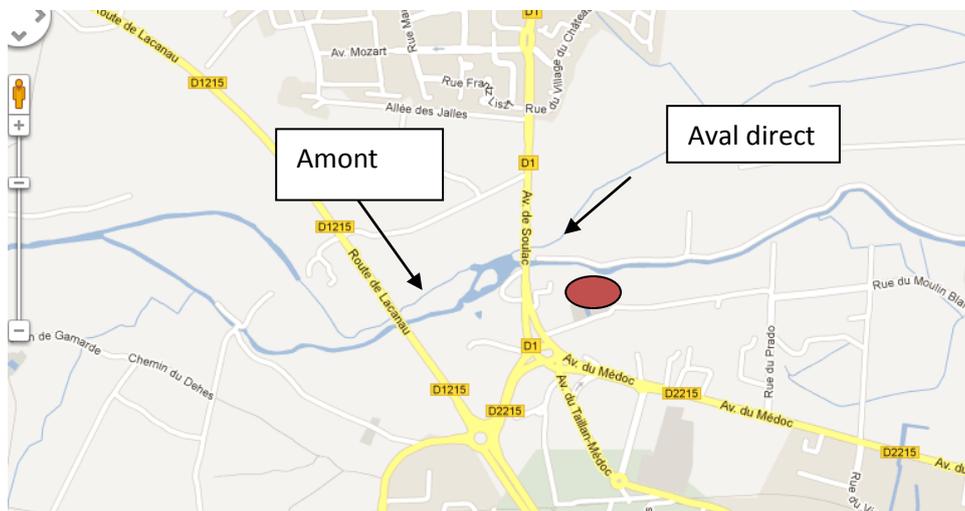
La Jalle de Blanquefort s'écoule sur une longueur totale de 34 km et occupe un bassin versant qui s'étend sur 12 communes, soit environ 322 km² (soit le plus vaste des affluents de l'agglomération) dont 180 km² pour les neuf communes intégrées à la CUB.



L'étude présentée se focalise sur la détection des métabolites de la carbamazépine, en particulier elle consiste à rechercher la présence des métabolites de la carbamazépine en différents points de la Jalle afin d'étudier l'impact du rejet de la station d'épuration.

Les prélèvements sont conservés au congélateur (- 20°C) .

Schéma de la Jalle d'Eysines et points de prélèvements :



Dans ce bassin il y a deux grands ensembles caractéristiques :

Le secteur haut est peu urbanisé les espaces sont occupés par la forêt de pins, la lande et quelques exploitations agricoles.

Dans ce secteur, la nappe phréatique est très proche du sol et dans la période hivernale contribue à l'alimentation des petits affluents.

La partie aval est très urbanisée et traverse les communes de Blanquefort, Bordeaux, Le Bouscat, Bruges, Eysines, Le Haillan, Le Taillan-Médoc, Saint-Aubin-de-Médoc et Saint-Médard-en-Jalles).

La vallée est globalement restée préservée et bénéficie d'une protection spécifique au titre des législations suivantes : réserve naturelle (commune de Bruges), ZNIEFF et ZICO/Zone de Protection Spéciale. C'est un secteur d'intérêt écologique reconnu au niveau européen comme formant la trame du futur réseau « Natura 2000 ». Seules les terres les plus aptes ont été mises en valeur au profit d'une filière maraîchère d'excellence (Eysines et Bruges principalement et Blanquefort dans une moindre mesure). (PLU approuvé par délibération du conseil CUB du 21 juillet 2006)

La Jalle a un écoulement des eaux, d'irrigation et de drainage bien régulés par des digues.

A partir de Cantinolle (Eysines), l'écoulement et le niveau selon un principe de surverse alimentant des casiers internes d'expansion des crues de la Jalle. Il y a une succession de moulins qui aide à retenir l'eau pour les activités maraîchères, et par un système de portes à flots (Pont des religieuses, Grattequina...) qui, à marée haute, évitent la remontée des eaux saumâtres de la Garonne. Pour l'irrigation, on utilise une fine trame de canaux qui drainent les marais de Bordeaux, Bruges, Blanquefort, pour assurer l'irrigation de la vallée. Le système d'irrigation se compose de canaux hiérarchisés à partir du fil d'eau de la Jalle : les « réguettes » et les fossés. Lorsque les vannes sont ouvertes, les premières conduisent l'eau jusqu'aux seconds et arrosent les champs.

1.3.3 Adige

L'Adige est une rivière très importante pour la ville de Vérone, il naît dans les Alpes, aux confins de la Suisse et de l'Autriche.

L'Adige est l'un des quatre grands fleuves italiens (le second après le Po), avec 410 km. Il prend sa source à 1 507 mètres d'altitude au col de Resia (*Reschenpass*), dans la province du Haut-Adige. Il arrose les villes de Merano (*Meran*), Bolzano (*Bozen*), puis il emprunte la vallée du Brenner pour redescendre vers le sud et Trente, Rovereto, Vérone et Legnago, rase le nord de Rovigo puis traverse Cavarzere avant de se jeter dans la mer Adriatique où, avec l'embouchure du Brenta, il délimite le littoral d'Isola Verde. Verona, avec S. Martino Buonalbergo - Bussolengo - Pescantina, (299.517 ab.)



C'est un fleuve sujet aux crues nivales des Alpes (Piano di gestione dei bacini idrografici delle Alpi Orientali), il a un régime nivo-pluvial de montagne avec un débit moyen de $235 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

A sa source il a des caractéristiques de type torrentiel et quand il descend la Pianura padana son cours ralentit.

CHAPITRE 2

Matériels et méthodes

2.1 Techniques d'analyse utilisées

2.1.0 Traitement des échantillons

Les eaux sont prélevées avec de bouteille de nalgen®, filtré directement le même jour du prélèvement par filtre GF/F 0.7 µm et mis en congélation a – 20° .

Ça permet de certifier un stockage et conserver les échantillons pour beaucoup de mois, en plus vérifier avec de test de conservations les changements pendant le mois de congélations dans le frigidaire.

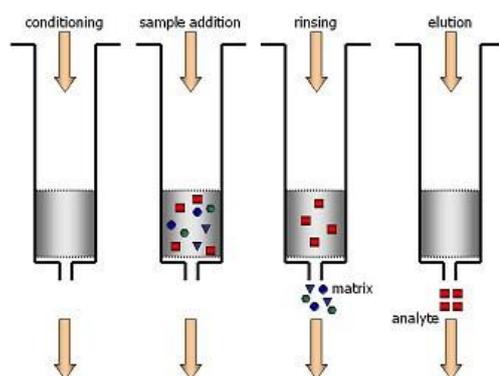
2.1.1 Extraction SPE

L'extraction des composés est une étape particulièrement importante en analyse chimique, puisqu'elle va permettre de reconcentrer les molécules d'intérêt d'un volume initial pouvant aller de plusieurs centaines de millilitres à quelques dizaines de microlitres.

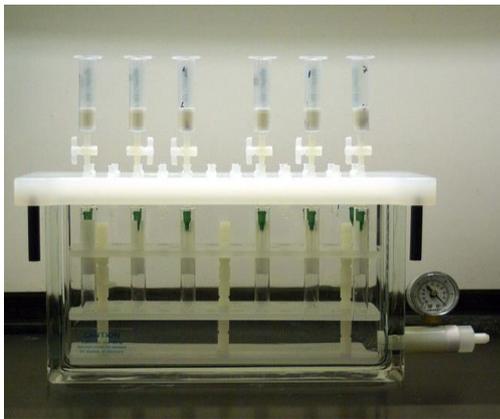
. L'extraction en phase solide ou SPE (Solid Phase Extraction) est une technique très utilisée. Le principe est d'adsorber les composés extraits sur une phase stationnaire, contenu dans une cartouche (de la forme d'un corps de seringue) puis de les éluer à l'aide de solvants organiques dans un flacon récepteur. Les lavages permettent d'éliminer les composés gênants.

L'extraction se décompose en 4 étapes :

- Conditionner la cartouche en faisant percoler un volume donné de solvant ou de plusieurs solvants afin d'activer le support. La cartouche ne doit pas sécher avant le dépôt de l'échantillon
- Déposer l'échantillon en goutte à goutte
- Laver la cartouche pour éliminer les composés inutiles en faisant passer un solvant éluant les composés indésirables sans éluer le composé à doser. (Il est possible de faire un séchage en laissant le vide pendant plusieurs minutes)
- Eluer les composés avec un faible volume de solvant approprié



L'extraction par adsorption est un processus physique entre une phase solide et une phase liquide dans laquelle la phase solide a une plus grande affinité pour le composé à être isolé par rapport au solvant dans lequel le composé est dissous même. Lorsque l'échantillon passe à travers la phase solide les analytes sont concentrés sur la surface du matériau adsorbant tandis que les autres composés présents dans l'échantillon sont élués. Le résultat est la purification et la concentration des substances isolées à partir du matériau adsorbant. Cela peut être obtenu grâce à des interactions particulières entre les groupes fonctionnels des composés et le substrat de la phase solide.

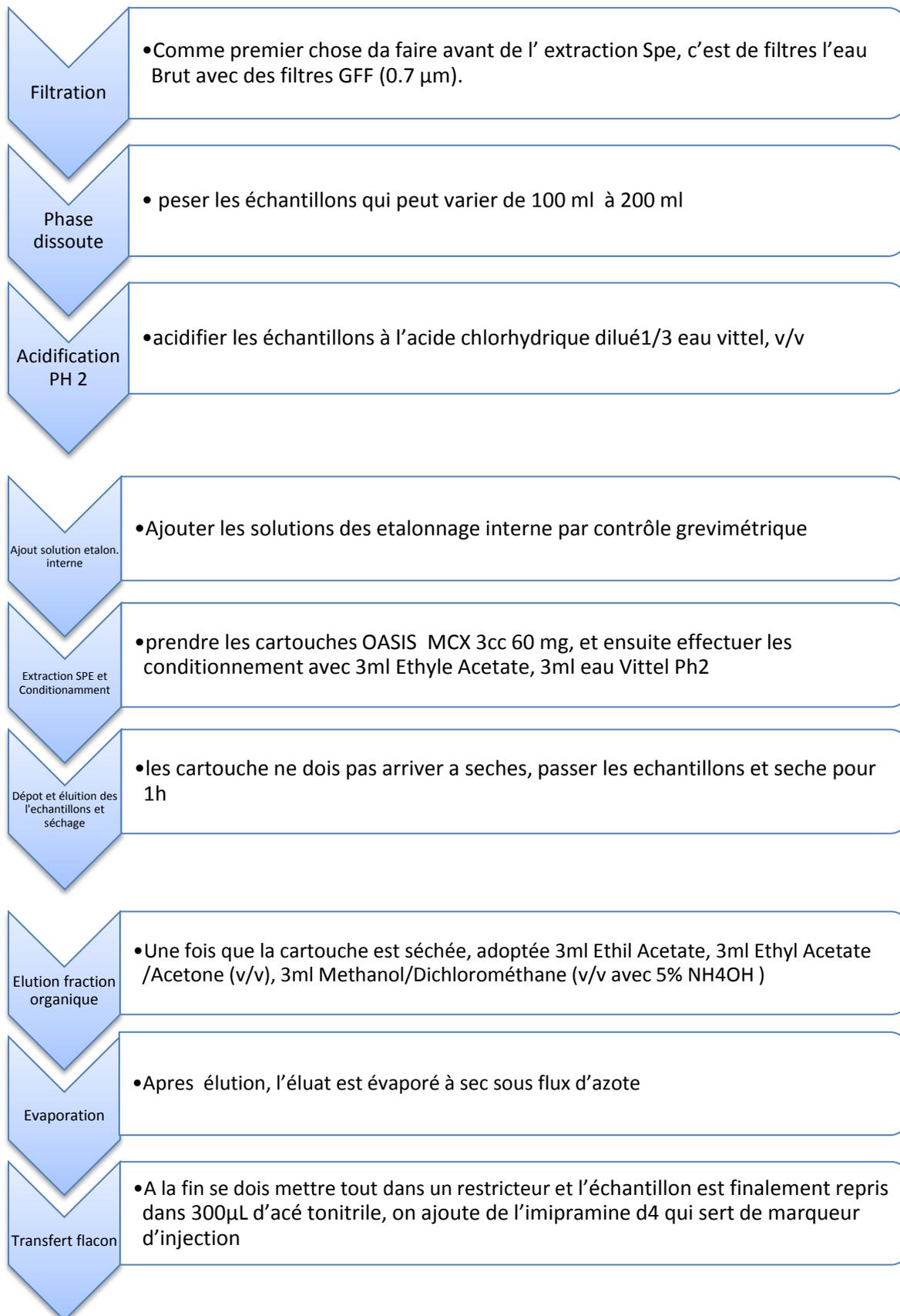


L'adsorbant en phase solide est conditionné dans une cartouche. L'échantillon est passé à travers la cartouche de sorte que les différents composés présents peuvent interagir avec la surface d'absorbant étant retenu ou moins en fonction de leur capacité d'établir des interactions.

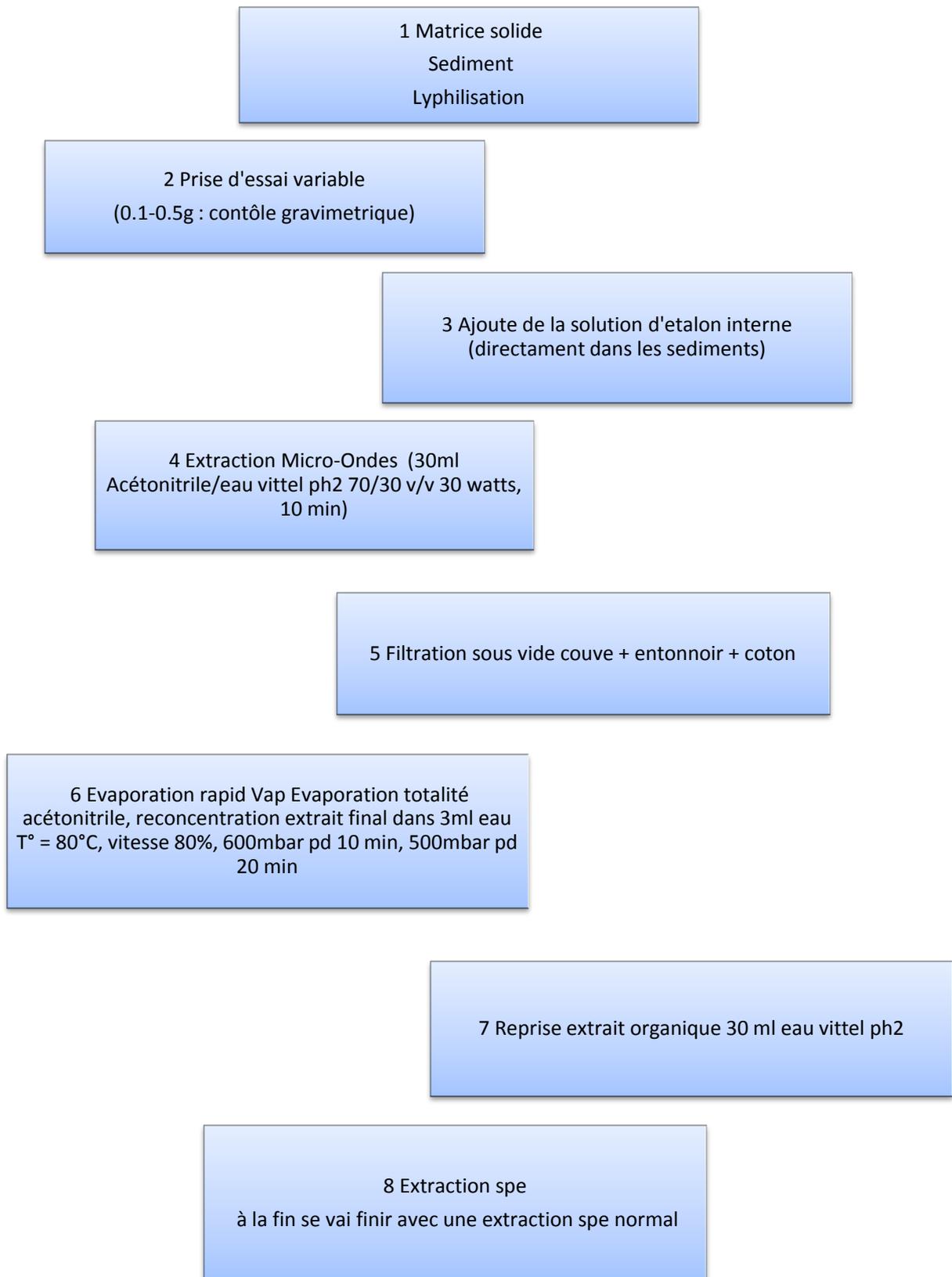
L'Élution est le processus d'enlèvement des substances isolées à partir de l'adsorbant à travers le passage dans la cartouche d'un solvant approprié (pour une utilisation dans le volume le plus petit possible).

La plus grande interaction entre l'adsorbant et de l'analyte, plus le risque que cela devrait être retirée de la cartouche au cours des étapes de lavage utilisées pour éliminer les molécules interférant coabsorbent.

Méthode pratique utilisée dans le laboratoire pour l'extraction SPE:



2.1.2 Extraction micro-ondes pour le sediment



2.1.3 Analyse par Chromatographie Liquide couplée à une Spectrométrie de masse en tandem

Toutes les analyses sont réalisées par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (RRLC-MS/MS) avec une source d'ionisation par *electrospray* (ESI) en mode positif (ESI+) pour 57 médicaments total. L'appareil de chromatographie est un *1200 SeriesRapidResolutionLCSytem* de marque *Agilent*. La colonne utilisée pour la séparation des composés est une *Zorbax SB C18* (porosité 1,8 μm) et le débit est de 0,6mL/min avec un temps d'analyse de 14 min en mode d'ionisation positif et 38 min en mode d'ionisation négative. Les phases utilisées au cours de la séparation chromatographique sont : l'eau milliQ et l'acétonitrile acidifiés par 0,1% (v) d'acide formique en mode ESI+ et l'eau milliQ et l'acétonitrile purs en mode ESI-.

La détection est assurée par un spectromètre de masse triple quadripôle modèle *6460 Triple Quad LC/MS* de marque *Agilent*.

L'identification des composés se fait suivant leur temps de rétention et suivant deux transitions de masse. La première, la plus intense, permet d'identifier et de quantifier le composé, tandis qu'une deuxième transition sert de confirmation.

Quantification par étalonnage interne

La quantification par étalonnage interne passe par l'utilisation d'étalons internes. Ils sont choisis selon plusieurs critères essentiels : ils doivent avoir des propriétés physico-chimiques semblables aux composés recherchés afin d'avoir le même comportement, être absents des échantillons naturels et ne pas provoquer d'interférences avec les analytes. Les étalons internes les plus adaptés sont donc les molécules deutérées, ou possédant un carbone ^{13}C , correspondant aux composés recherchés.

*Ei utilisés sont dans les Annex 1 pour le protocole de 57 médicaments, et dans le Annex 2 pour le protocole de la carbamazépine

Cet étalonnage est basé sur la formule suivante : $A_i = K_i \times C_i$

Le facteur de réponse propre à l'analyte, peut être déterminé relativement à un étalon interne ($A_e = K_e \times C_e$), ce qui conduit à la formule suivante : $\frac{A_i}{A_e} = \frac{K_i}{K_e} \times \frac{C_i}{C_e}$

Grâce à une solution de référence contenant les composés natifs et les étalons en quantités connues, le coefficient de réponse K_i/K_e peut être déterminé. Il suffit ensuite d'utiliser sa valeur pour retrouver les concentrations des échantillons par l'égalité : $C_i = C_e \times \frac{A_i}{A_e} \times \frac{K_e}{K_i}$

C_i = concentration de l'analyte i et C_e = concentration de l'étalon interne e
 A_i = aire du pic chromatographique de l'analyte i et A_e = aire du pic chromatographique de l'étalon interne e
 K_i/K_e = coefficient de réponse de l'analyte i par rapport à l'étalon interne e

2.1.4 Test de conservation 2011 – 2012 (STEP)

La station de dépuración pris en considération s'appelle close de Hilde et des prélèvements en entrée et sortie ont été effectués le 8/11/11.

Le test de conservation, est important pour l'étude de la stabilité à la congélation d'échantillons ponctuels de step.

Donc est très important savoir se il y a des différences des résultats dans ce période de conservation pour avoir les meilleures analyses.

Dans le tableau ci-joint il y a les dates durant lesquelles a été effectuées les manipulations avec les différences des échantillons qui restent bruits et filtrés. Deux lots d'échantillons sont préparés: un filtré de suite et un brut pour filtration juste avant la manip plus un troisième lot en verre.

	Analisi STEP	date	
N.1	TO	08/11/2011	
N.2	TO + 1 sem	15/11/2011	6 echbruit (P)+6 echfiltré (P)
N.3	TO + 2 Sem	22/11/2011	6 echbruit (P)+6 echfiltré (P)
N.4	TO + 3 Sem	29/11/2011	6 echbruit (P)+6 echfiltré (P)
N.5	TO + 4 Sem	06/11/2011	6 echbruit (P)+6 echfiltré (P)
N.6	TO + 3 mois	08/02/2011	6 ech bruit (P)+6 echfiltré (P)+6 echfiltré (V)
N.7	TO + 6 mois	08/05/2011	6 ech bruit (P)+6 echfiltré (P)+6 echfiltré (V)
N.8	TO + 12 mois	08/11/2011	6 ech bruit (P)+6 echfiltré (P)+6 echfiltré (V)



Les échantillons sont généralement conservé dans des bouteilles des Nalgene[®] = PEHD, de 2 manières différentes, une partie est filtrée directement et d'autre part est gelé à l'état brut.

Ça permet une bonne conservation et est surement moins chère et plus pratique que les bouteilles en verre.



La deuxième façon est d'utiliser les bouteilles de verre Duran[®] Borosilicaté pour avoir une comparaison du rendement de tout et deux les façons.

2.2 Sites d'étude et campagne d'échantillonnage

2.2.1 Stations d'épuration (STEP) de Bordeaux

Le principal voies d'entrée des médicaments vers les systèmes aquatiques sont les rejets des stations d'épuration (STEP). Le traitement des eaux usées suit plusieurs étapes :

- Traitement primaire : est un traitement physique, s'effectue en plusieurs étapes. Le dégrillage pour la rétention des déchets volumineux ; Le dessablage, pour l'abattement des particules dont le diamètre est supérieur à 100µm ; Le dégraissage-déshuilage, qui permet de séparer les huiles et les graisses de l'effluent brut.
- Traitement secondaire : c'est un plus physico-chimique (coagulation – floculation- flottation), comme premier objectif se doit éliminer 60 à 80% des matières en suspension qui décantent dans l'eau et comme deuxième objectif réduire la pollution carbonée. La sédimentation partielle intérêt aussi le traitement biologique a cause de l'activités des bactéries qui se multiplient en dégradant la matière organique. Il y aura aussi un mécanisme d'élimination complète de l'azote par les organismes nitrifiants et dénitrifiant et de réduire le taux de nitrates et nitrites en azote gazeux.

Les deux stations traitent pour les études de l'eau de Bordeaux sont :

- La station d'épuration Clos de Hilde (CH)
- La station d'épuration Louis Fargues (LF)

Le Step LF est encore en train de finir la rénovation, elle traite comme unité de mesure pour la évaluation de sa capacité dépurative, 300.000 Equivalents Habitants (EH). Le step CH a été renouée en 2007 pour traiter 408.300 EH (EH). (Lyonnaise des eaux, 2009)

(1EH : 60g de DBO 5/jour soit 21.6kg de DBO5/an d'après la directive européenne du 21 mai 1991).

Les stations ont deux façons différentes de traiter l'eau avant qu'elle rejette tout dans la Garonne.

LF traite tout l'eau dans des bassins d'aération par l'intermédiaire de boues activées, comme ça implique une stagnation en ces bassins pour long temps car favorise la décantation de MES.

En ce moment là, se peut rencontrer le développement de bactéries filamenteuse (du genre sphaerotilus) que se forme dans les bassins et freine le processus de décantation.

A cause de ça se trouve que les boues actives sont sous dimensionnées par rapport à la quantité d'eau à traiter qui arrive dans la station et donc by passe de manière continue dans la Garonne, mélangé avec d'autre eau traitée par les boues actives.

Clos de Hilde a un traitement biologique, l'eau est pompée sur des filtres où se développent en continu des bactéries, et l'installation reste plus régulière par rapport à la quantité d'eau qui arrive.

Pour mieux comprendre le différent de médicaments que il peut passer dans la Garonne, c'est bon avoir fait des prélèvements dans la station de Dépuration en Entrée et en Sortie. LF ont fait des prélèvements les 3 jours consécutifs le 26, 27, 28 de le mois de juillet 2010.

CH le 31/05/10 et 1, 2, 3, 4 de juin 2010

2.2.2 Campagne d'échantillonnage dans l'estuaire de la Gironde

Les prélèvements ont été effectués en dates différentes, exactement le 13/05/11 et le 16/05/11 pour les zones de Pauillac, Libourne, Benauges, Cadaujac et PAB.

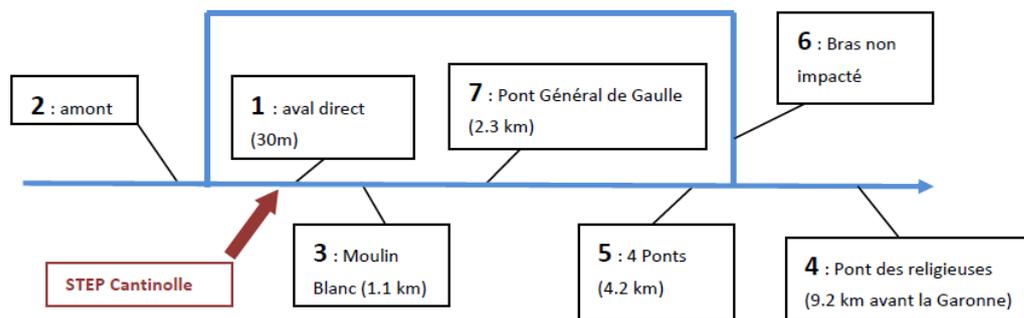
Ensuite ont été fait des prélèvements pour 3 fois chaque mois le date de 29/7/11, 29/8/11, 29/9/11 pour St maracaire ; Bégles, PAB.

Comme 9a se peut avoir un range plus grand sur la quantité de médicament dans l'eau en différentes périodes de l'année.

Le prélèvement son été fait avant et après le rejet de la station de dépollution.



2.2.3 Campagne d'échantillonnage dans la rivière Jalle Schéma de la Jalle d'Eysines et points de prélèvements :



2.2.4 VERONA

Le point 0 c'est au début de la ville de Verone, se trouve un petit village et il y a un barrière artificielle que permet de équilibre les flux d' eau que arrive da la montagne.(PARONA)

Le point n.2 c'été pris un échantillon avant de un rejet de l Hôpital Borgo trento, que il est situe en centre ville et ensuite de prendre un autre échantillon âpres le rejet de l hôpital et toujours en centre ville. Le point 4 c' été très difficile parce que il y a été un barrage en raison de la propriété privée de la station de dépuracion, mais l idée c été de prendre de l eau âpres le rejet de la station de dépuracion. C été impossible e donc c'été pris proche mais un peu plus avant.



CHAPITRE 3

3.1 Résultats obtenus

3.1.1 Validation du dopage

Avant de présenter les résultats, il est très important de savoir que le dopage doit être plus ou moins à 100% pour valider l'expérience en laboratoire.

Dopage test de conservations (protocole 57 médicaments) :

Sur 57 médicaments (annexe 1), on présentera ici le Nordiazepam, le diazepam, le Naproxene, le Diclofenac, l'Ibuprofene, le Paracetamol, l'Atenolol et la Carbamazepine.

Ces valeurs résultent de la moyenne de 2 dopages pour chaque analyse, et sont présentées dans la Figure1.

Le rendement obtenu sur le dopage sur les 5 semaines suivantes (T0, T1, t2, T3, T4) varient entre 95% et 120% .

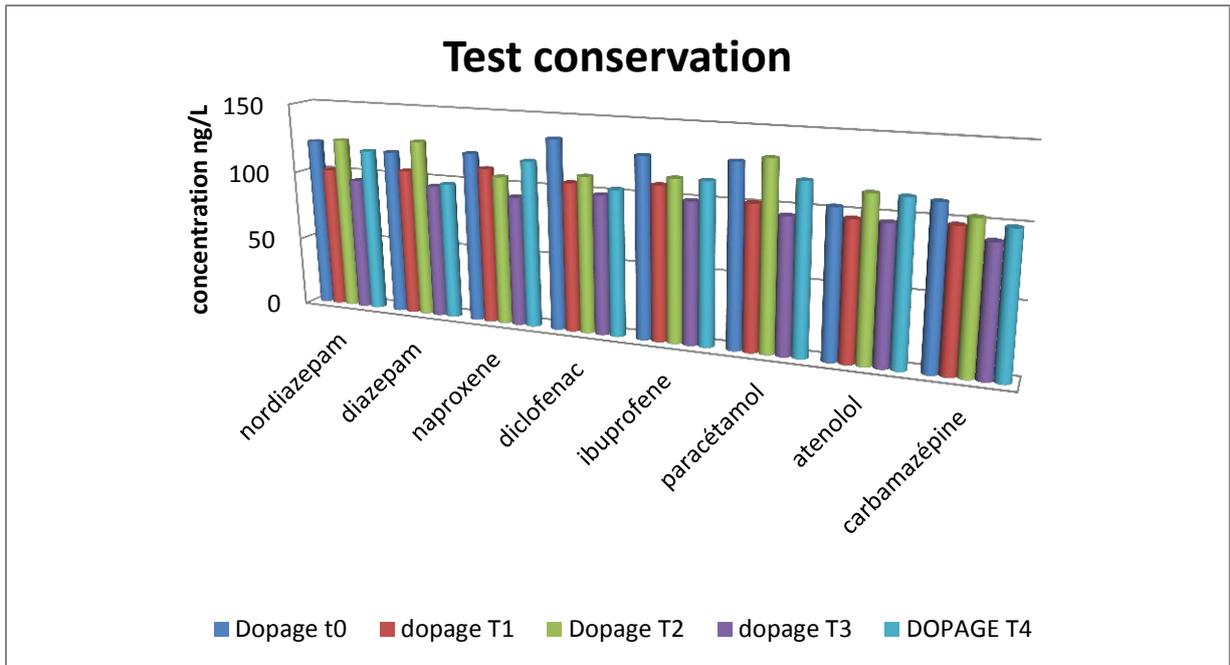


Figure 1 : rendements d'extraction obtenus pour des eaux Vittel dopées

Donc on peut dire que les dopages sont proches de 100%, ce qui permet de valider les manipulations.

Dopage Garonne (protocole métabolites de la carbamazépine):

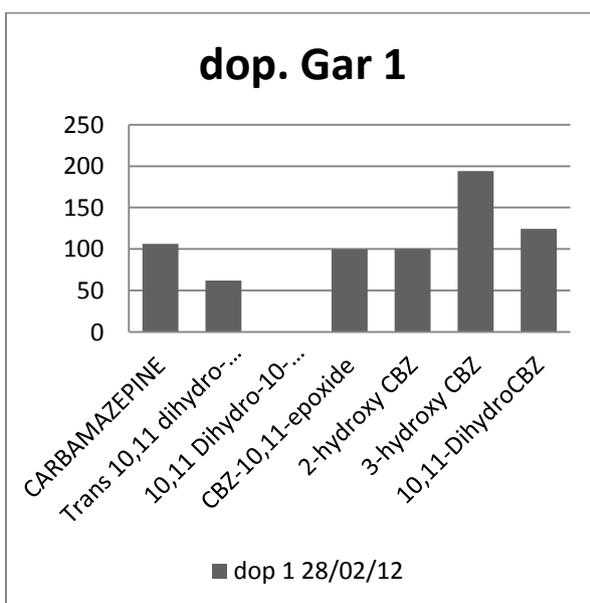


Figure 2 : dopage eaux Vittel dopées

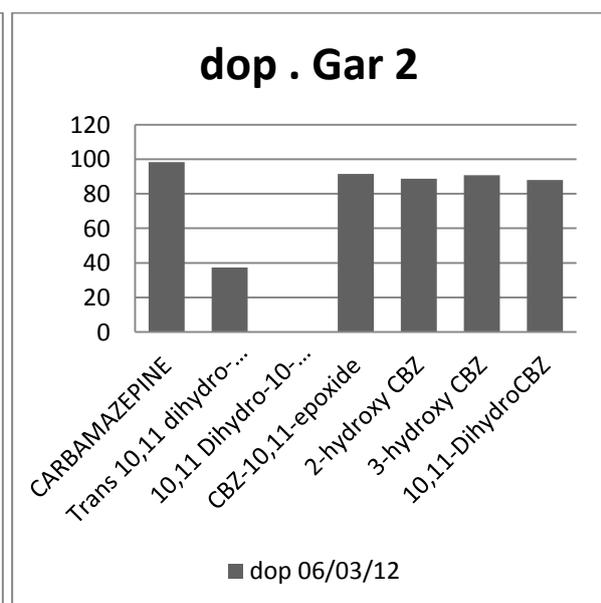


Figure 3 : dopage eaux Vittel dopées

Pour ces dopages comme pour les suivants, on constate que le protocole analytique ne permet pas d'extraire le 10,11 Dihydro-10-hydroxy-CBZ-o-β-D glucuronide.

Dopage Step Garonne (protocole métabolites de la carbamazépine):

Les dopages de la Figure 4 et 5 sont effectués pour la manip d'analyse d'eau des 2 principales stations d'épuration de Bordeaux. Le rendement en composants pharmaceutiques est situé entre 100% et 140%. La plus grande variabilité est trouvée sur Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine avec une différence de 80% entre les 2 dopages. Les molécules les plus stables sont les suivantes : carbamazépine, 2-hydroxy CBZ, 3-hydroxy CBZ et 10,11 Dihydro CBZ .

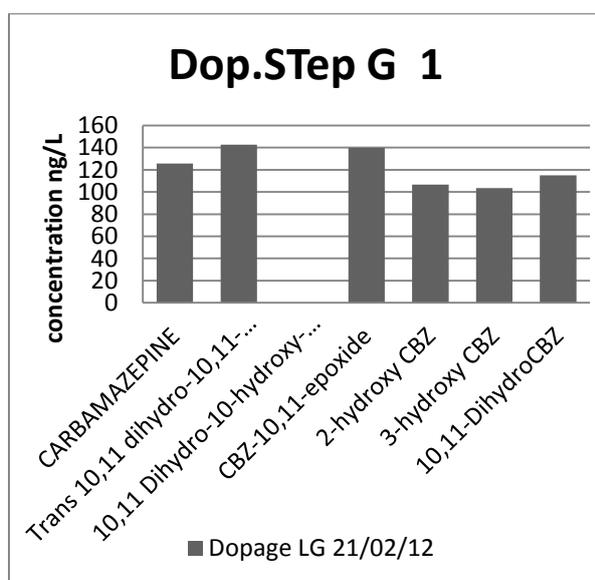


Figure 4 : dopage eaux Vittel dopées

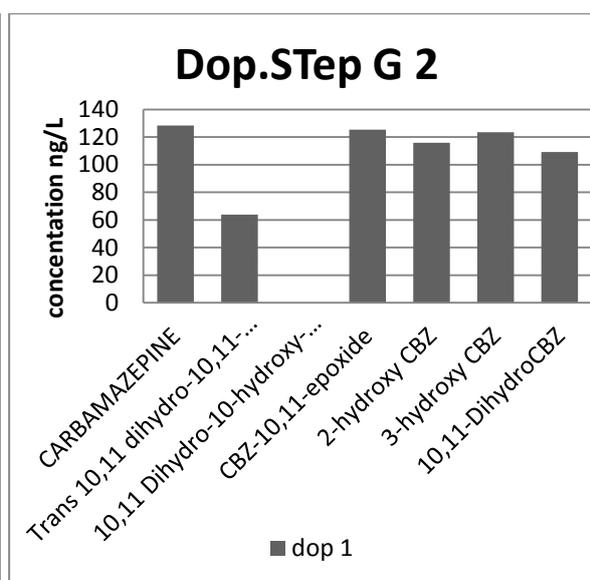


Figure 5 : dopage eaux Vittel dopées

Dopage Jalle (protocole métabolites de la carbamazépine):

Les dopages ont été faits de deux façons différentes, un sur l'eau et l'autre sur le sédiment. Les rendements de la Figure 6 et Figure 7 montrent de bons rendements d'extraction sur l'eau comme sur le sédiment pour l'ensemble des composés sauf pour la Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine (30-60%) et le 10,11 Dihydro-10-hydroxy-CBZ-o-β-D glucuronide (10% pour l'eau et non extrait dans le sédiment).

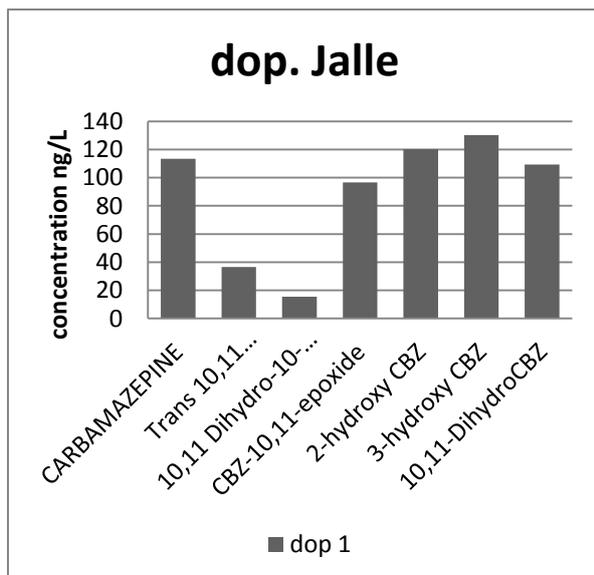


Figure 6 : dopage eaux Vittel dopées

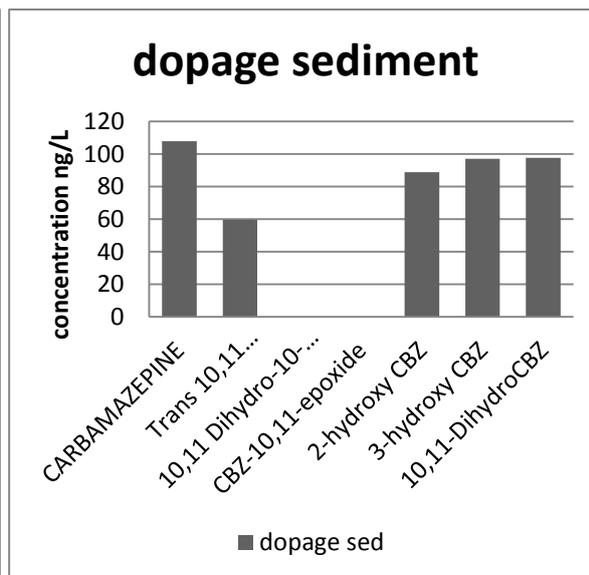


Figure 7 : dopage sédiment propre

Dopage Adige (protocole 57 médicaments) :

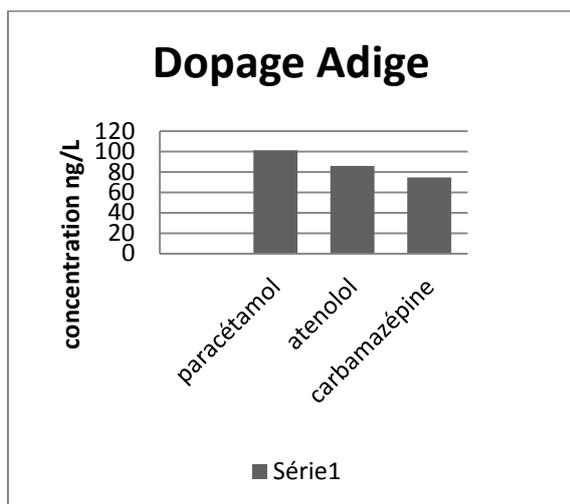


Figure 8 : dopage eaux Vittel dopées

Les dopages de la figure 8 sont effectués pour la manipulation d'un fleuve italien. Le rendement est entre 80 % pour la carbamazépine et 100% pour le paracétamol.

3.1.2 Résultats du test de conservation 2011 – 2012

Les analyses ont été effectuées sur 5 semaines consécutives, T0, T1, T2, T3, T4 sur de l'eau brute et de l'eau filtrée, la première analyse ayant été faite le jour même de l'échantillonnage.

Sur 57 médicaments, sept ont été choisis pour leur particularité et leur abondance dans le marché national Français : Nordiazepam, Diclofenac, Naproxene, Ibuprofene, Paracetamol, Atenolol, Carbamazepine.

Comparaison entre entrée et sortie de la station d'épuration :  sortie  entrée

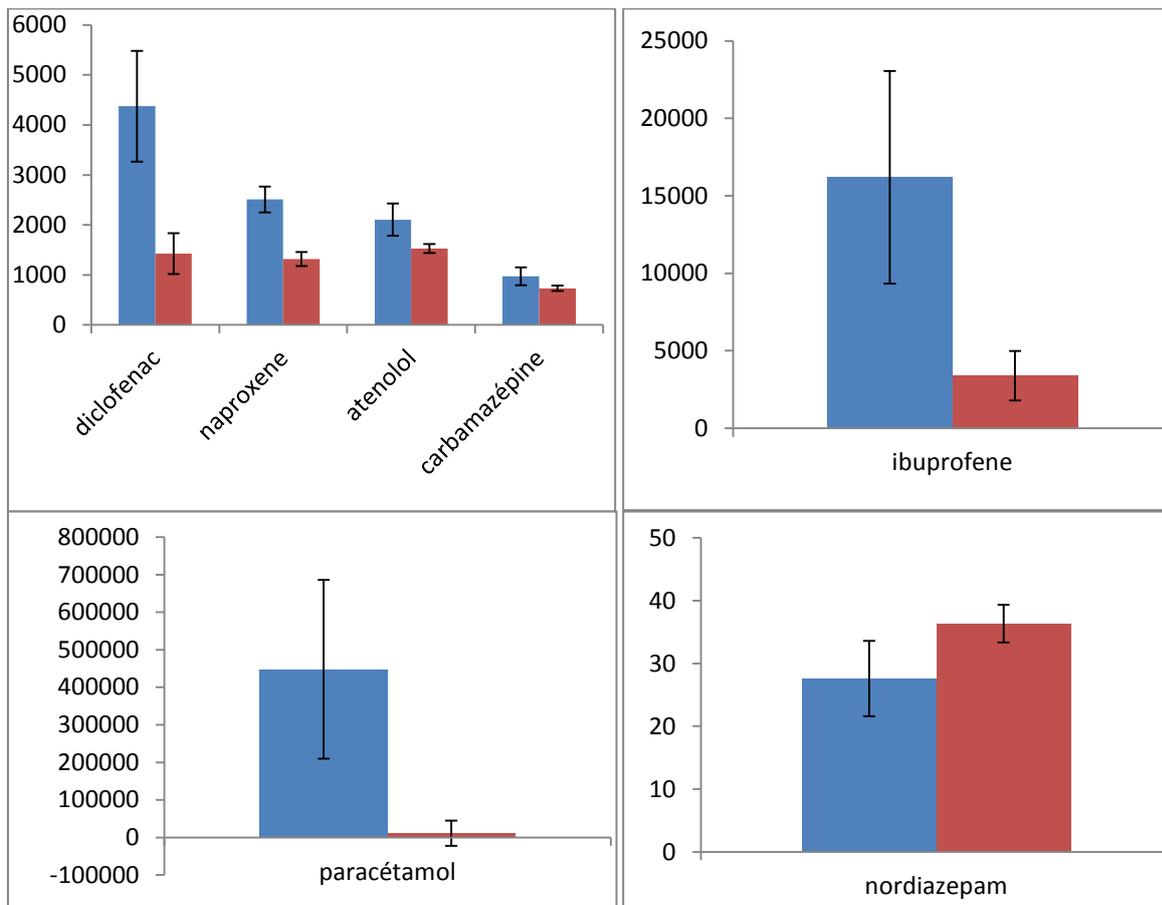


Figure 9 : entrée et sortie de STEP CH

On observe différents comportements entre l'entrée et la sortie : le paracétamol est très dégradé de 450000 ng/L en entrée à 11000ng/L en sortie alors que le nordiazepam n'est pas dégradé.

A noter que le jour du prélèvement (8/11/11) la station d'épuration a eu un dysfonctionnement entraînant des concentrations anormalement élevées en sortie.

On sait que des composés comme le paracétamol sont très sensibles à la dégradation lors du traitement biologique (joss et al. 2005).

Les composés comme le naproxene, ibuprofene, sont partiellement dégradés dans la station d'épuration et quand ils sont rejetés dans l'environnement ils sont en concentration beaucoup plus faible. La carbamazépine est beaucoup plus résistante, en effet à l'entrée de la STEP elle est présente à 900 ng/L et à la sortie sa concentration est de 700ng/L.

On note que les concentrations sont plus faibles que l'ibuprofène ou le paracétamol parce qu'ils sont moins utilisés que ceux-ci. Les anti-inflammatoires sont fortement utilisés sans prescription médicale et les prises journalières sont comprises entre 100 et 6000 mg, alors que les antidépresseurs ne peuvent être délivrés sans ordonnance et leur concentration dans l'eau varie entre 10 à 1000 mg par jour.

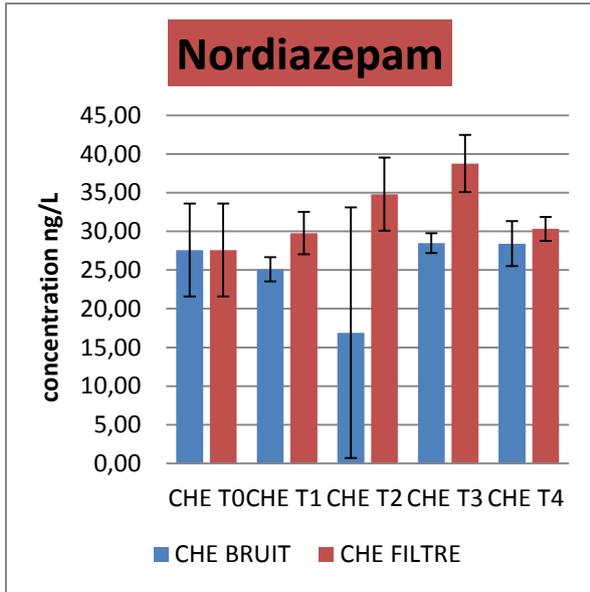


Figure 10 :Nordiazepam dans l' entrée de CH

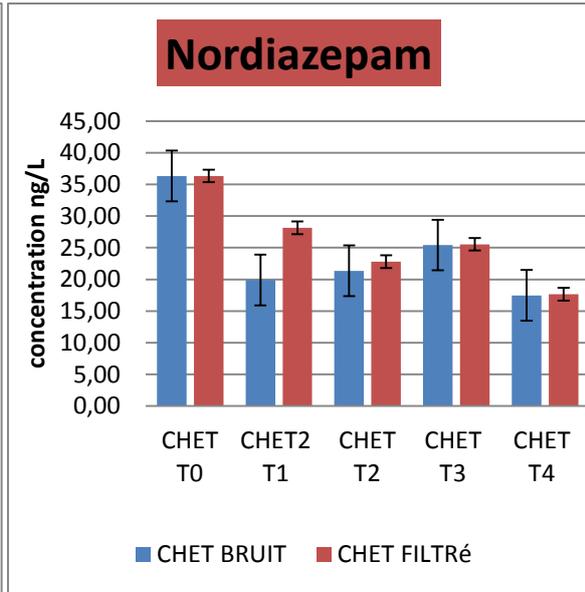


Figure 11 : Nordiazepam dans la sortie de CH

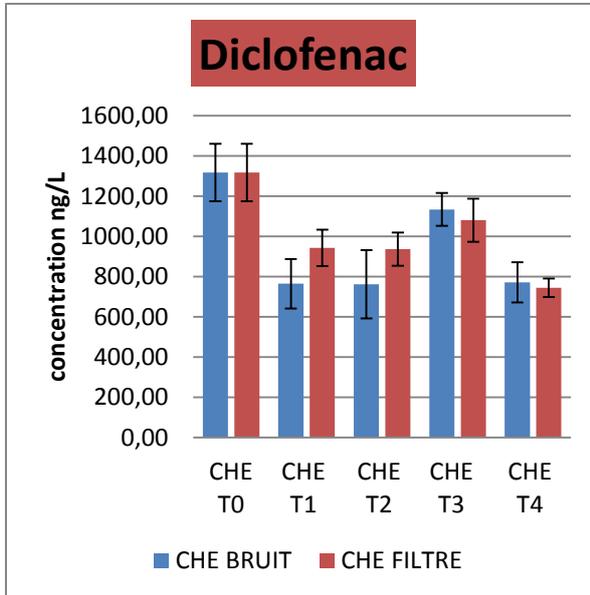


Figure 12 : Diclofenac dans l'entrée de CH

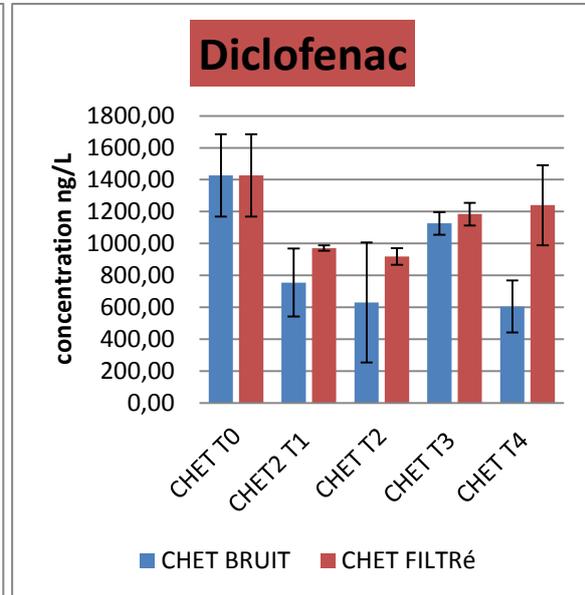


Figure 13 : Diclofenac dans la sortie de CH

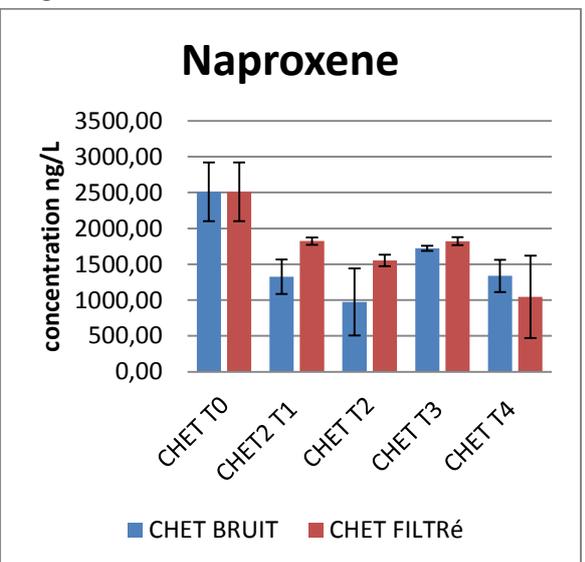
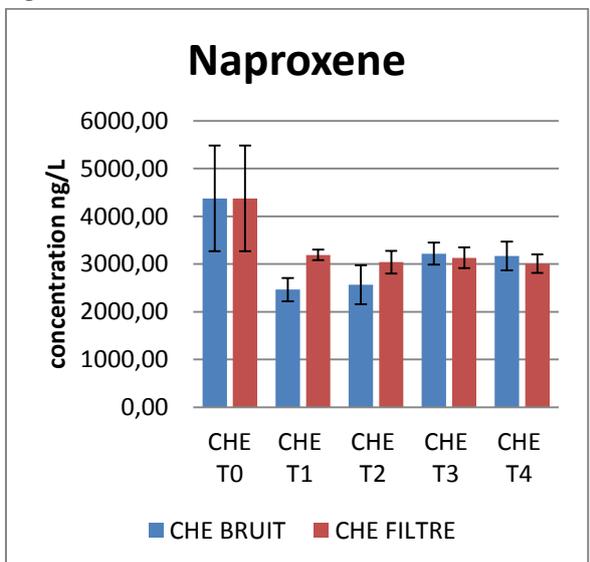


Figure 14 : Naproxen dans l'entrée

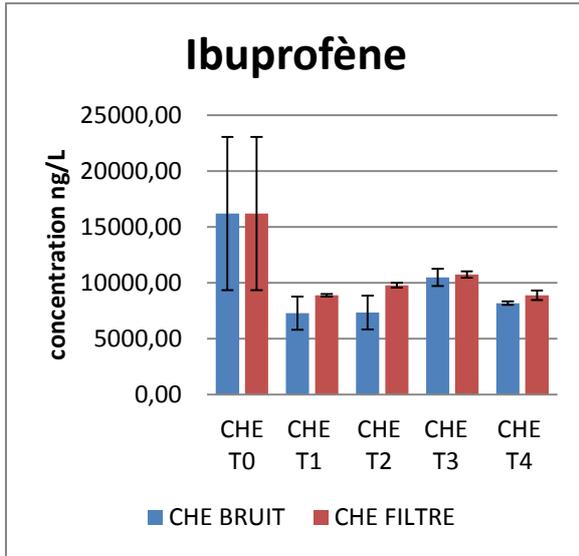


Figure 15 : Naproxene dans la sortie

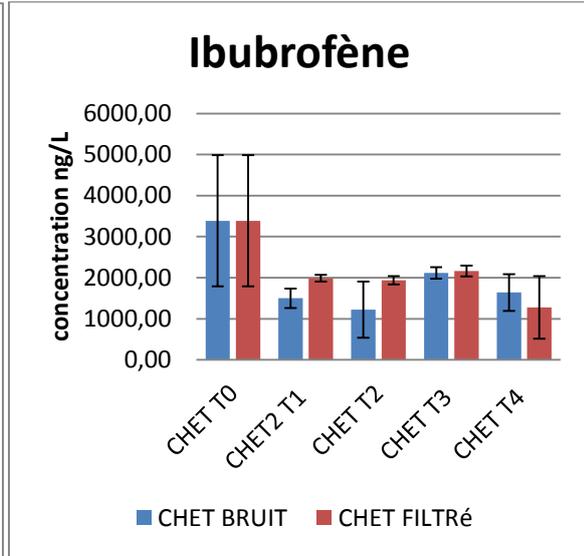


Figure 16 : Ibuprofène dans l'entrée

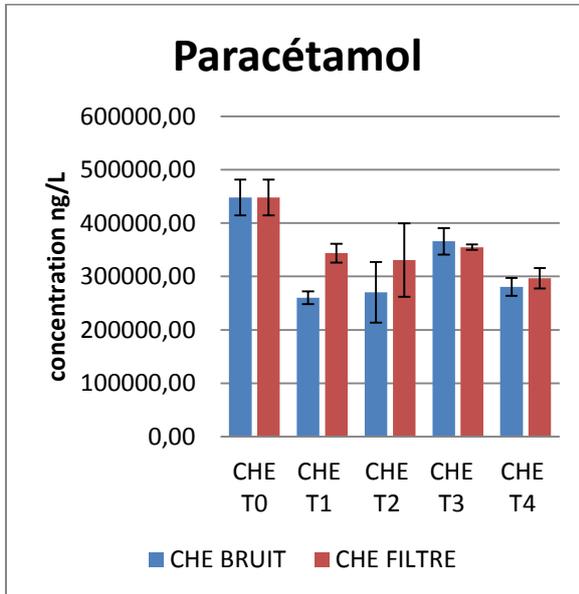


Figure 17 : Ibuprofene dans la sortie

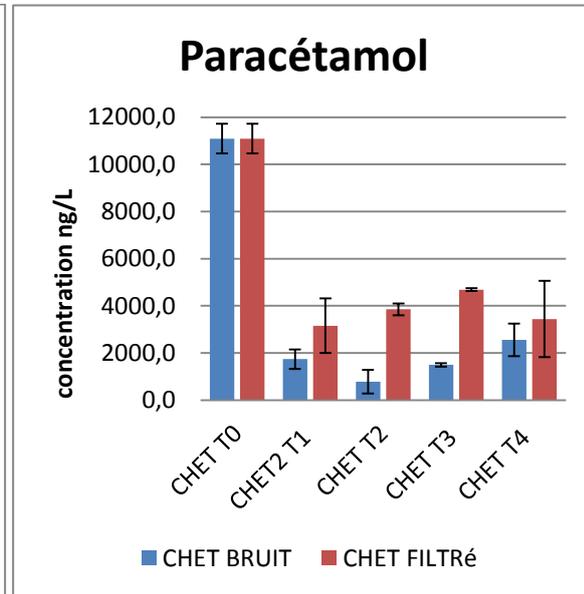


Figure 18 : Paracétamol dans l'entrée

Figure 19 : Paracetamo dans la sortie

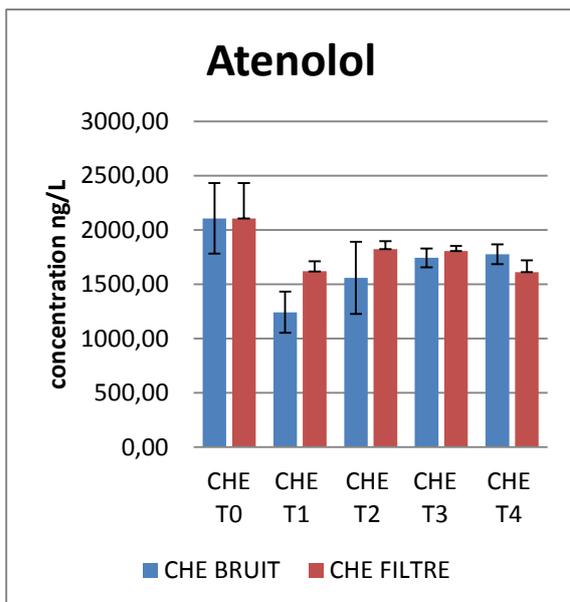


Figure 20 : Atenolol dans l'entrée

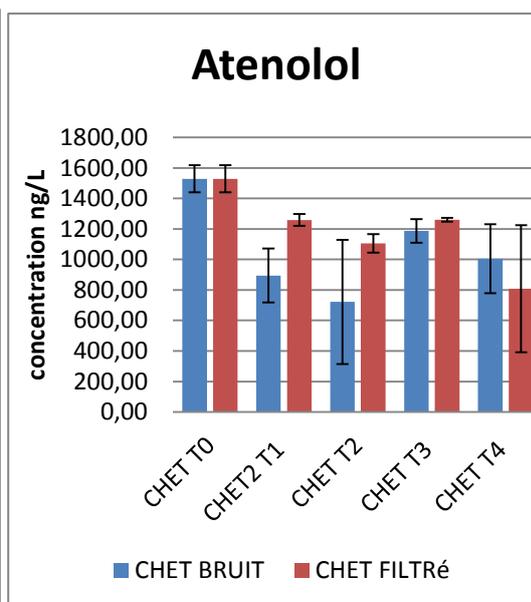


Figure 21 : Atenolol dans la sortie

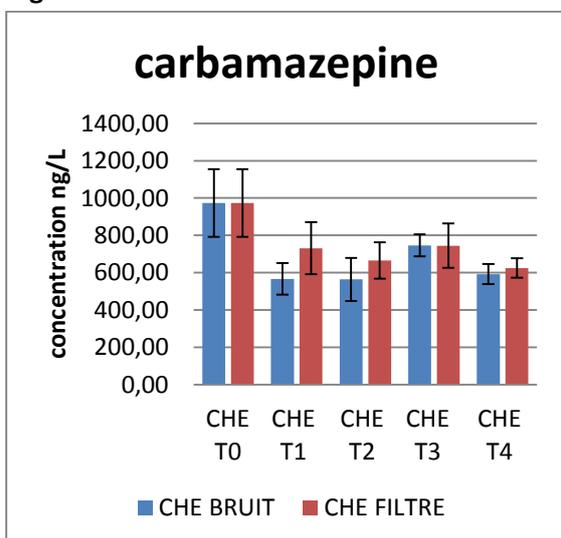


Figure 22 : carbamazepine dans l'entrée

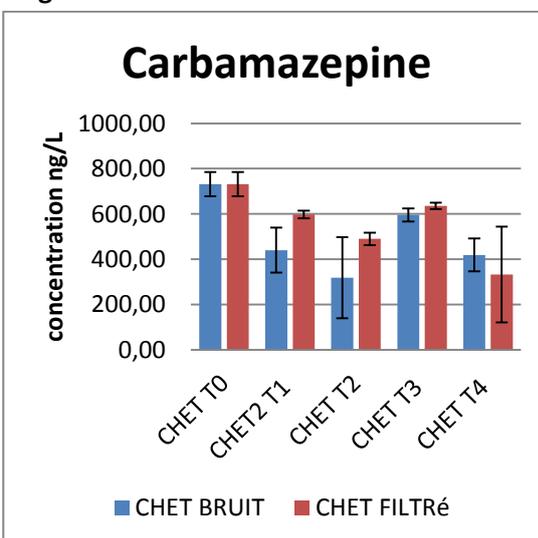


Figure 23 : carbamazepine dans la sortie

On constate que pour l'ensemble des molécules, le T0 présente des concentrations supérieures aux concentrations observées lors des semaines suivantes. Ce résultat est particulièrement remarquable dans le cas du paracétamol en sortie où plus de 60% du paracétamol disparaît. Par ailleurs, les concentrations pour les échantillons bruts présentent plus de variabilité d'une semaine à l'autre que celles des échantillons filtrés.

On recommande donc la filtration et l'extraction immédiatement après le prélèvement pour limiter les pertes dues au stockage.

3.1.3 Résultats de STEP de Bordeaux

L'échantillonnage a été fait sur trois jours consécutifs : le 26, 27, 28 juillet 2010 dans la station d'épuration de Louis Fargue. L'analyse a été ensuite faire le 21 février 2012.

Un autre échantillonnage a été effectués dans la station d'épuration Close de Hilde le 31/05/2010 les quatre jours suivant : le 1, 2, 3, 4 /06/2010. L'analyse de ces échantillons a été faite le 23/02/2012.

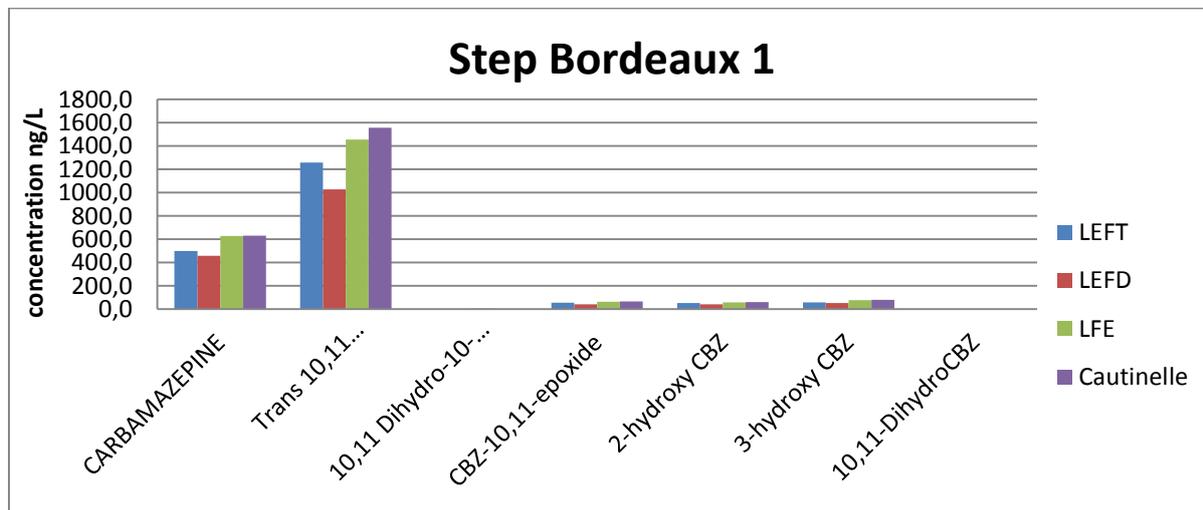


Figure 23 : Métabolites de la Carbamazepine dans le STEP de LF

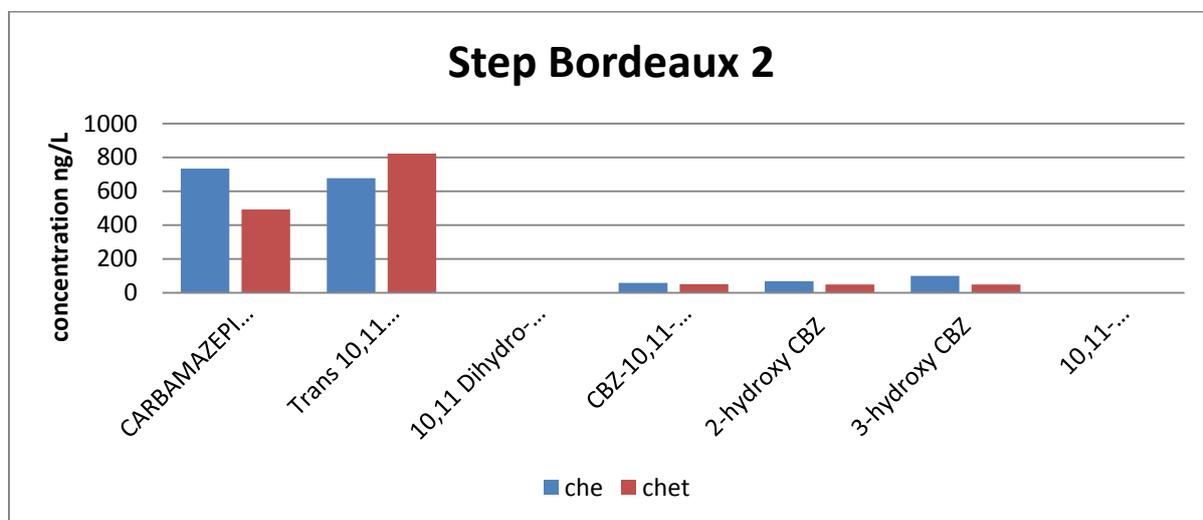


Figure 24 : Métabolites de la Carbamazepine dans le STEP CH

On remarque que la concentration plus grande est celle de la Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazepine, et ensuite de la Carbamazepine. Ces 2 molécules ne présentent pas de différence de concentration majeure entre l'entrée et la sortie : cela confirme leur caractère persistant, ils sont donc très difficile à dégrader. Donc c'est important de faire des études non seulement sur les composés parents mais aussi sur leurs métabolites parce qu'ils sont beaucoup présents dans les sorties des deux stations d'épuration.

3.1. Résultats Garonne

Une fois par mois pendant trois mois (29/7 29/8 29/9) ont été prélevés des échantillons d'eau à PAB, Saint Macaire et Bègles. Les analyses de ces échantillons ont été faites le 28/02/2012.

Des échantillons ont été prélevés sur deux journées consécutives (13/05, 16/05) à Pauillac, Libourne, Benauges, Cadaujac, PAB, et les analyses ont été effectuées le 06/03/2012.

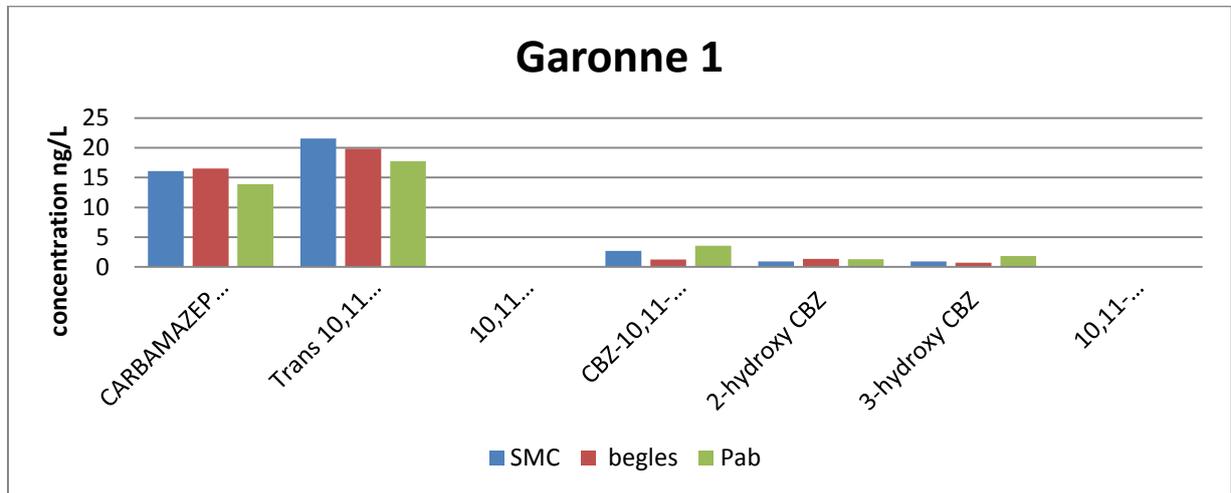


Figure 25 : Métabolites de la Carbamazepine dans l'eau de la Garonne

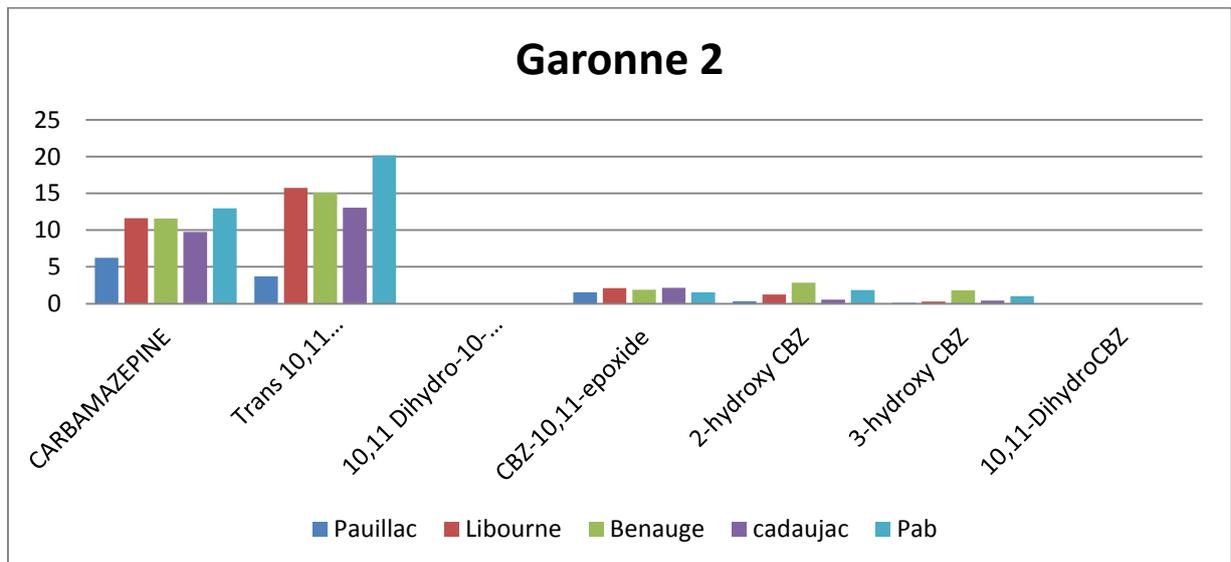


Figure 26 : Métabolites de la Carbamazepine dans l'eau de la Garonne

On peut observer que les concentrations des molécules en différentes zones, qu'elles soient proches ou non de la ville de Bordeaux, sont similaires, en particulier pour la Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazepine et la Carbamazepine. Les concentrations observées à St-Macaire étant équivalentes à celles au niveau de Bordeaux, on ne peut pas conclure quant à l'impact des rejets de la ville de Bordeaux sur les concentrations de ces molécules.

On remarque qu'à Pauillac les concentrations sont plus faibles, cela peut être dû à la dilution de la Garonne par les eaux marines.

3.1.4 Résultats de la Jalle

Les échantillons ont été prélevés sur sept sites différents, pour l'eau et les sédiments et il y a eu en plus une analyse de l'eau de la STEP de Cantinolle.

Les concentrations sont exprimées en ng/L et représentées de l'amont vers l'aval. On remarque à partir du point 1 des concentrations plus élevées correspondant au rejet de la station d'épuration de Cantinolle.

On trouve que la substance la plus concentrée est la carbamazépine avec de valeurs beaucoup plus hautes, suivie par la Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine. Il est à noter qu'en raison de rendements de dosage bas pour cette molécule (36%) une sous-estimation des concentrations de cette molécule est possible.

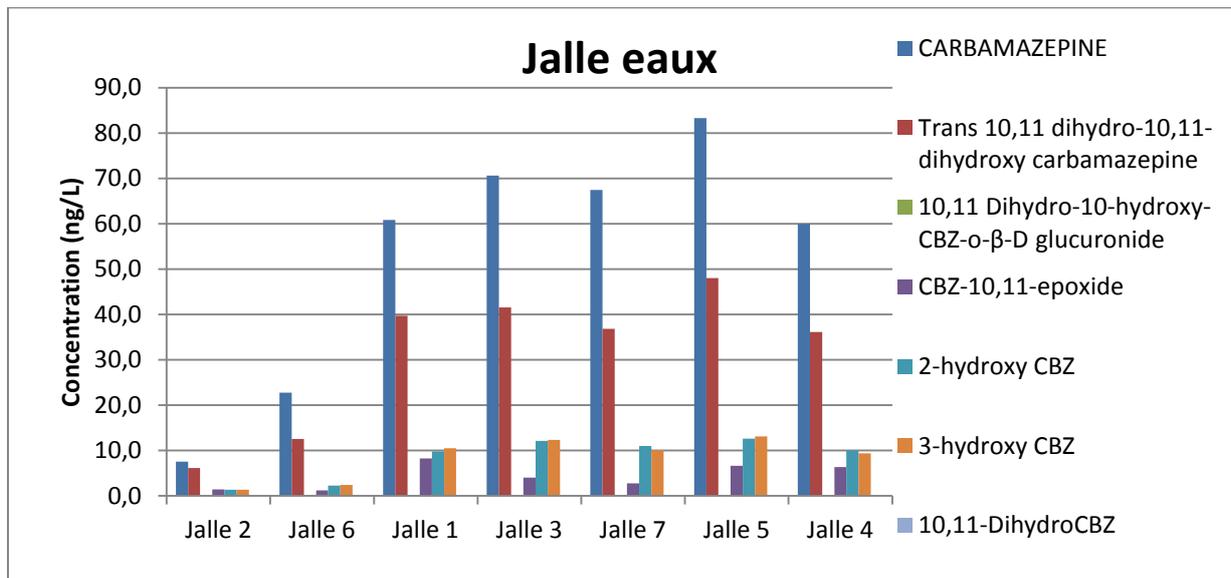


Figure 27 : Métabolites de la Carbamazépine dans l'eau de la Jalle

Les sédiments sont différents, dépendant beaucoup de la typologie des sédiments, parce qu'il peut être un sédiment d'aspect sableux ou plus compact. Ainsi la concentration en composés d'intérêt sur le sédiment va moins dépendre de sa situation en amont ou aval de la STEP que du type de sédiment prélevé. La carbamazépine est présente dans le sédiment mais à la différence des eaux, il n'y a pas de trace de Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine. Cela ne peut pas être la cause d'une perte lors de la manipulation puisque le rendement de dosage de cette molécule est bon, supérieur à 60%. Il est possible que la trans10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine présente une plus faible affinité avec les sédiments que sa molécule mère, la carbamazépine.

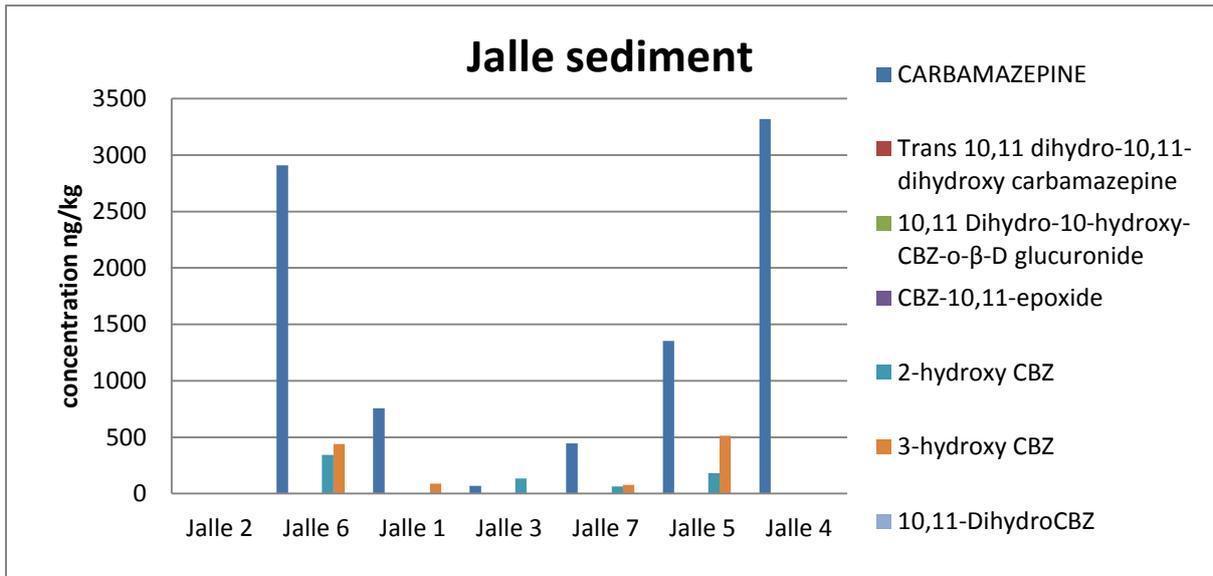


Figure 28 : Métabolites de la Carbamazepine dans les sédiments de la Jalle

L'analyse de l'effluent de la station d'épuration de Cantinolle démontre la présence de Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazepine et Carbamazepine, en concordance avec les résultats qui ont été trouvés dans la rivière Jalle.

En considérant que la carbamazépine est une molécule stable, on peut l'utiliser comme traceur pour calculer le taux de dilution de l'effluent de Cantinolle dans la Jalle le 12/12/11 : il est de 10 fois.

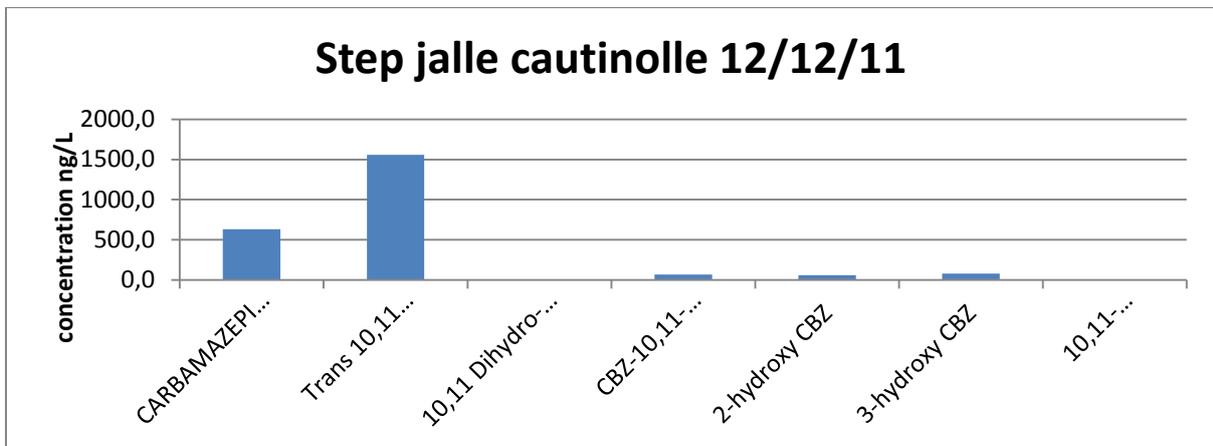


Figure 29 : Métabolites de la Carbamazepine dans les sédiments de la Jalle

3.1.5 Résultats de rivière Italienne : Adige

Les figures suivantes présentent les concentrations de 3 molécules choisies dans l'Adige, en amont et en aval de Verone.

Ces résultats sont donc très intéressants, ils démontrent qu'on observe une augmentation des concentrations en médicaments dans l'eau en aval des rejets de la ville et des hôpitaux. Parona se trouve dans la campagne où il y a un petit village urbanisé, puis le point Borgo trento se trouve avant un Grand Hôpital, le point centro se trouve après l'hôpital et enfin le point Borgo Roma est situé dans une zone très urbanisée et industrialisée de Verone. On y trouve en particulier l'industrie pharmaceutique GlaxoSmithkline.

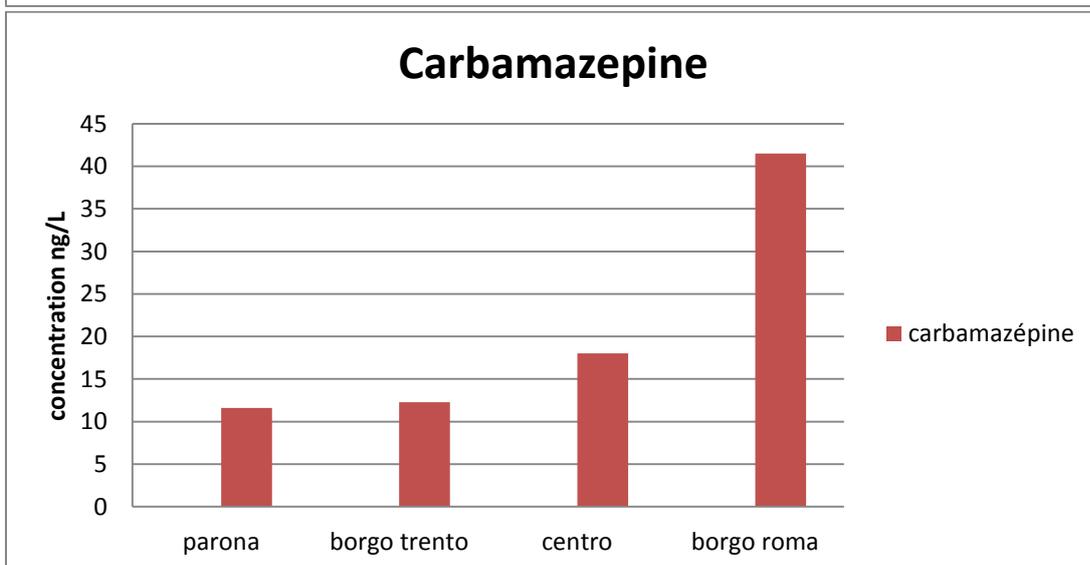
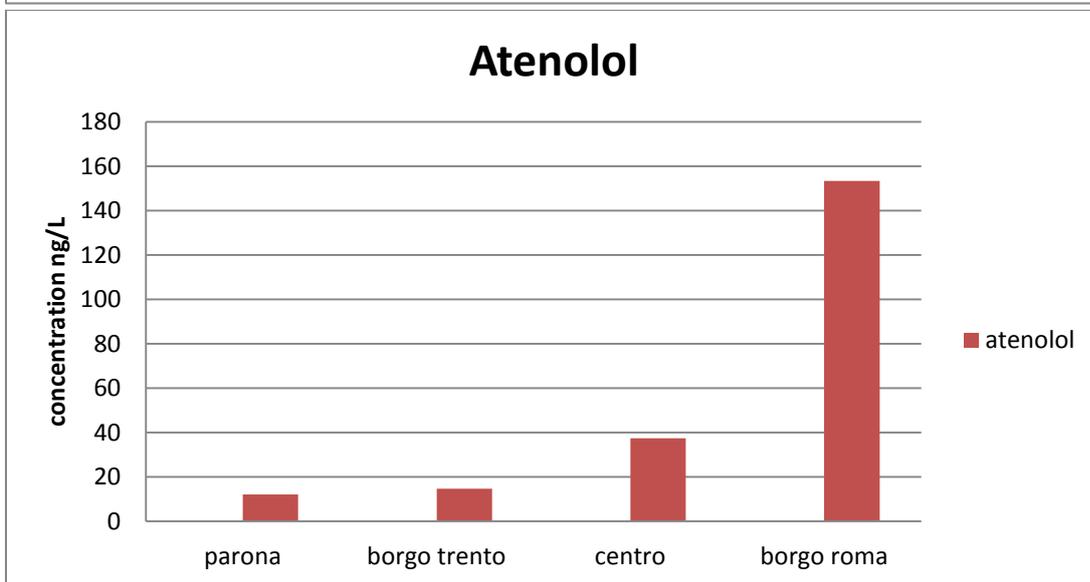
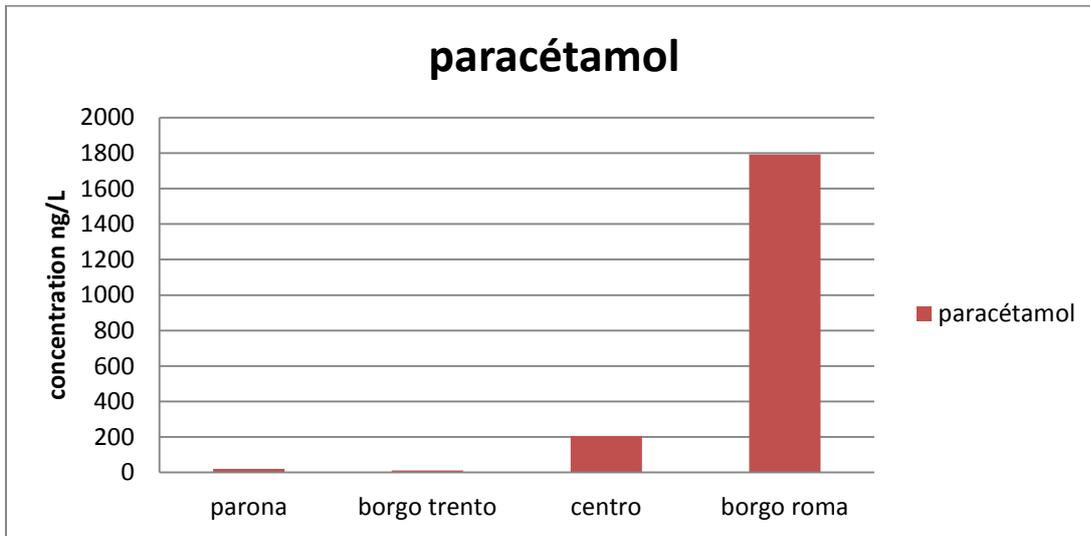


Figure 30 : médicaments dans l'eau de l' Adige, rivière italienne

CHAPITRE 4

Conclusion

Le test de conservation a permis un perfectionnement des méthodes analytiques en usage au laboratoire en montrant le biais pouvant provenir du stockage des échantillons. Bien qu'il soit difficile de s'affranchir d'un stockage au congélateur, il faut savoir qu'une perte de 10 à 20% des composés d'intérêt est possible.

Dans les stations d'épuration de Bordeaux et dans le fleuve de la Garonne, l'application du protocole métabolites de la carbamazépine a mis en avant la détection de la carbamazépine et de la Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine, cette dernière présentant parfois des concentrations supérieures à celles de la carbamazépine. Enfin, l'analyse des eaux et des sédiments de la rivière Jalle a mis en avant la différence d'affinité des molécules d'intérêt avec les différents types de sédiments et en particulier l'absence de trans10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine sur les sédiments.

Les analyses d'eaux de l'Adige en comparaison aux analyses effectuées dans les eaux de la Garonne montrent une contamination remarquable de l'Adige en composés pharmaceutiques. On observe par exemple que l'Adige est 3 fois plus contaminée en carbamazépine que la Garonne pour des débits comparables. A notre connaissance, il s'agit des premiers résultats en pharmaceutiques sur l'Adige.

De nombreuses études ont été faites depuis quelques années sur la présence des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration et leur possible persistance à la fin du traitement et dans le milieu naturel. Les substances pharmaceutiques sont un groupe de polluants encore émergents qui ne sont pas encore prises en compte dans la liste de la Directive cadre sur l'eau. L'utilisation des médicaments étant universelle en Europe, il est très important de documenter à la fois la présence de ces molécules dans le milieu naturel mais également d'étudier leur toxicité.

Annexe 1

Protocole à 57 médicaments avec étalon internes associés :

abacavir	diazepam d5	acide fénofibrique	diclofenac d4
indinavir	diazepam d5	acide clofibrique	diclofenac d4
lamivudine	diazepam d5	pravastatine	diclofenac d4
nelfinavir	diazepam d5	atorvastatine	diclofenac d4
nevirapine	diazepam d5	atenolol	atenolol d7
ritonavir	diazepam d5	bisoprolol	propranolol d7
saquinavir	diazepam d5	metoprolol	propranolol d7
stavudine	0	propranolol	propranolol d7
zidovudine	diclofenac d4	sotalol	propranolol d7
bromazepam	bromazepam d4	timolol	propranolol d7
nordiazepam	nordiazepam d5	acebutolol	propranolol d7
alprazolam	diazepam d5	imipramine	amitriptyline d6
diazepam	diazepam d5	doxépine	amitriptyline d6
oxazepam	diazepam d5	amitriptyline	amitriptyline d6
lorazepam	nordiazepam d5	fluoxétine	fluoxetine d5
clonazepam	nordiazepam d5	primidone	diazepam d5
méprobamate	nordiazepam d5	carbamazépine	carbamazepine d10
aspirine	aspirine d4	cétirizine	diazepam d5
acide salicylique	acide salicylique d6	ranitidine	diazepam d5
ketoprofene	ketoprofene d3	clenbuterol	diazepam d5
naproxene	naproxene d3	caféine	caféine 13C
diclofenac	diclofenac d4	théophylline	caféine 13C
ibuprofene	ibuprofene d3	sildenafil	sildenafil d3
hydroxy ibuprofene	ibuprofene d3	omeprazole	diazepam d5
paracétamol	paracétamol d4	losartan	diazepam d5
gemfibrozil	gemfibrozil d6	salbutamol	salbutamol d3
bezafibrate	bezafibrate d6	clopidogrel	diazepam d5
ac 4-chlorobenz	diclofenac d4	terbutaline	diazepam d5
		disopyramide	diazepam d5

Annexe 2

Protocole métabolite de la carbamazépine avec étalons internes :

CARBAMAZEPINE	CBZ d10
Trans 10,11 dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine	CBZ d10
10,11 Dihydro-10-hydroxy-CBZ-α-β-D glucuronide	CBZ 10,11 epoxide d8
CBZ-10,11-epoxide	CBZ 10,11 epoxide d8
2-hydroxy CBZ	CBZ d10
3-hydroxy CBZ	CBZ d10
10,11-DihydroCBZ	CBZ 13C ₁ 15N ₁

Références bibliographiques :

Agence Française de Sécurité Sanitaire de Produits de Santé (AFSSAPS), 2010 Les ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France.

Castagna A, Danise A, Menzo S, Galli L, Gianotti N, Carini E, Boeri E, Galli A, Cernuschi M, Hasson H, Clementi M, Lazzarin A. Clinic of Infectious Diseases, Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy. Lamivudine monotherapy in HIV-1-infected patients harbouring a lamivudine-resistant virus: a randomized pilot study (E-184V study) AIDS. 2006 Apr 4;20(6):795-803 Pubmed.

Christopher J. Georges, Caffeine Kills Insects, Scientist Says, Researcher May Have Found Stimulants' Natural Role, Published: Tuesday, October 09, 1984

Department of Clinical Genetics, University Hospital, Rotterdam, The Netherlands; Hum Exp Toxicol 1993 Jan;12(1):71

Dirk Löffler, Thomas A Ternes, Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Journal of chromatography A, vol 1021, 22 December 2003

Dorte R. Kepp, Ulla G Sidelmann, and Steen H. Hansen Isolation and characterization of major phase I and II metabolites of ibuprofen, Pharmaceutical Research, vol 14, No 5, 1997

Etat des lieux – Version finale, approuvée par la CLE du 15 février 2007, commission local de l'eau – SMIDD

H. Huddart, Caffeine-induced activation of contraction in stick insect skeletal muscle, Department of Biological Sciences, University of Lancaster, St. Leonard's House, Lancaster, England, UK; Received 30 July 1968. Available online 13 March 2003.

Jean-Michel Dubernard, Mme Jacqueline Fraysse, M. Jean-Marie Le Guen, Jean Bardet, Gérard Bapt, Marc Bernier, Mme Maryvonne Briot, MM Assemblée nationale le 22 juin 2006.

Joss. A., Keller, E., Alder, A.C., Gobel, A., McArdell, C.S., Ternes T. et Siegrist H (2005); Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. Water research 39 (14), 3139-3152.

Lader M., Journal of Substance Abuse Treatment 1991; 8:53-59 history of benzodiazepine Dependence, Monique Manchon, Roland MELEY juin 2000, « étude des interférences (métabolites et autre) sur le dosage de médicament ».

Médicament et santé public, adsp n° 27 juin 1999

Piano di gestione dei bacini idrografici delle Alpi Orientali, Bacino del fiume Adige,
Descrizione generale delle caratteristiche del bacino idrografico dell'Adige

PLU approuvé par délibération du conseil CUB du 21 juillet 2006, Rapport de présentation - A1 L'état initial de l'environnement , version 21-07-20061.

Winker M, Clemens J, Reich M, Gulyas H, Otterpohl R .German Technical Cooperation (GTZ) GmbH, Sustainable sanitation - ecosan program, Dag-Hammarskjöld-Weg 1-5, Eschborn, Germany. Ryegrass uptake of carbamazepine and ibuprofen applied by urine fertilization.

www.prontuarofarmaci.com 09/05/12

www.afssaps.fr

www.eurekasante.fr

Zuccato E, Castiglioni S & Fanelli R (2005) Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*122, 205-209.

Annexe 9

Etude de la contamination des effluents urbains par les médicaments : développement d'un protocole de déconjugaison et applications.

Rapport de stage de M1.

Lobez M. (2012).



MASTER 1

“MEDICAMENTS ET PRODUITS DE SANTE”

RAPPORT DE STAGE

ETUDE DE LA CONTAMINATION DES
EFFLUENTS URBAINS PAR LES
MEDICAMENTS :
DEVELOPPEMENT D’UN PROTOCOLE DE
DECONJUGAISON ET APPLICATIONS

Margaux LOBEZ

Maître de stage : Dr Hélène BUDZINSKI

Période : 29 mai au 20 juillet 2012

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Dr Hélène BURDZINSKI de m'avoir permis d'effectuer mon stage au sein de L'équipe de Physico et Toxicochimie du laboratoire EPOC.

Je remercie également Yann Aminot pour m'avoir encadré tout au long de ce stage, fait partager ses connaissances et sa bonne humeur.

Enfin, tous mes remerciements aux permanents, thésards et stagiaires pour leur aide et l'ambiance chaleureuse et conviviale qui règne dans le laboratoire grâce à eux.

SOMMAIRE

Introduction.....	4
I) Composés étudiés et mécanisme de la déconjugaison enzymatique.....	5
1) Les composés étudiés.....	5
2) Mécanisme de la déconjugaison enzymatique.....	6
II) Matériels et méthodes.....	7
1) Echantillonnage et méthodes d'extraction.....	7
1. Echantillonnage.....	7
2. Etapes de déconjugaison.....	8
3. Technique d'extraction.....	8
2) Analyse LC-MS/MS.....	9
1. Appareillage.....	9
2. Quantification par étalonnage interne.....	10
III) Résultats.....	11
1) Variabilité de la méthode d'extraction.....	11
2) Validation de la méthode de déconjugaison.....	13
1. Déconjugaison de dopages.....	13
2. Déconjugaison d'eaux de STEP.....	15
3) Application à des échantillons moyennés 24 heures.....	18
IV) Discussion.....	21
V) Conclusion et perspectives.....	22

INTRODUCTION

La présence de médicaments dans l'environnement, et plus particulièrement dans les eaux résiduaires, de surface, marine ou souterraine, est un problème qui a été récemment mis en évidence [1]. En effet, les traitements ambulatoires consommés par les Hommes ou les animaux sont absorbés, distribués et métabolisés dans l'organisme puis éliminés par voie digestive ou urinaire, sous forme de molécule-mère ou de métabolites, dans les eaux résiduaires. Les sources diffuses de la pollution des milieux aquatiques par les médicaments sont également représentées par les déchets MNU (Médicaments Non Utilisés) [2].

Ces eaux résiduaires sont amenées en station d'épuration (STEP) par le réseau, où elles sont traitées, mais ces stations ne disposent pas de moyens de traitement spécifique des composés organiques à l'état de traces tels que les médicaments. De plus, le phénomène de biodégradation des STEP conduit à des transformations très variables suivant les molécules, qui dépendent de leurs propriétés physico-chimiques telles que leur hydrosolubilité, leur stabilité et leur demi-vie, ainsi que de leur quantité.

Les eaux ayant subi ces traitements d'assainissement sont ensuite rejetées dans les eaux de surface, chargées de ces résidus médicamenteux non retenus ou non éliminés. Il a récemment été démontré que la présence de ces résidus dans les milieux aquatiques aurait un impact négatif sur les écosystèmes animaux et végétaux [3].

Les eaux d'entrée et de sortie de STEP sont analysées en laboratoire, afin d'établir le niveau de contamination de ces eaux par les médicaments, en déterminant la quantité de substance active rejetée directement par les Hommes ou animaux et celle éliminée lors des traitements d'assainissement. Cette analyse est ciblée sur les molécules-mères dont la structure est connue, ce qui n'est pas le cas pour leurs métabolites. Or, des chercheurs ont observé des concentrations supérieures dans les eaux de sortie par rapport aux eaux d'entrée pour certaines molécules. Ce phénomène peut s'expliquer par la présence de bactéries dans les STEP qui sécrètent des enzymes ayant la capacité de libérer les métabolites conjugués en régénérant la molécule-mère sous sa forme libre. Ces enzymes existent également sous forme commerciale, ce qui permet d'effectuer cette déconjugaison en laboratoire, afin de détecter tous les médicaments étudiés sous forme de molécule-mère.

Dans une première partie, les différentes molécules étudiées seront présentées, ainsi que le mécanisme de la déconjugaison enzymatique de leurs métabolites. Ensuite, les techniques utilisées pour le prélèvement des échantillons, leur extraction et leur analyse seront explicitées. Enfin, les résultats seront analysés et discutés.

I) COMPOSES ETUDIES ET MECANISME DE LA DECONJUGAISON ENZYMATIQUE

1) LES COMPOSES ETUDIES

Les médicaments sont des composés possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Ils sont constitués d'un principe actif qui leur confère leur effet pharmacologique et d'excipients qui sont des substances inertes.

En 2010, la France représentait 4.6% du marché mondial et était comptée parmi les cinq leaders européens [4], ce qui indique une forte consommation des produits pharmaceutiques qui sont ensuite rejetés dans les eaux résiduaires.

Dans cette étude, 23 composés ont été sélectionnés de manière à être représentatifs de différentes classes médicamenteuses. Toutes ces molécules subissent une glucuroconjugaison ou une sulfoconjugaison, afin d'être éliminées de l'organisme. De plus, leur présence dans les eaux a déjà été démontrée et leur analyse en laboratoire déterminée. Ces molécules sont présentées en annexe 1.

➤ ANTIRETROVIRAUX

Les antirétroviraux représentent une famille de médicaments indiqués dans le traitement des infections virales à rétrovirus, principalement le VIH.

➤ PSYCHOLEPTIQUES

Les psycholeptiques sont des substances qui ont la capacité de faire diminuer l'activité psychique. Les neuroleptiques, les anxiolytiques et les hypnotiques appartiennent à cette famille médicamenteuse.

➤ ANALGESIQUES

Les analgésiques sont constitués d'une substance active qui prévient ou diminue la sensation de douleur. La plupart des analgésiques sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens qui ont la propriété de diminuer l'inflammation.

Ils représentent la classe médicamenteuse la plus consommée en France.

➤ HYPOLIPEMIANTS

Les hypolipémiants permettent de diminuer le taux de lipides dans le sang. Ceux étudiés dans cette étude sont des hypocholestérolémiants qui visent à diminuer le taux de cholestérol.

➤ ANTI-DEPRESSEURS

Les anti-dépresseurs, comme leur nom l'indique, sont des médicaments psychotropes utilisés dans le traitement de la dépression.

➤ ANTI-ASTHMATIQUES

Les anti-asthmatiques sont des bronchodilatateurs β -2 stimulant utilisés dans le traitement et la prévention de la bronchoconstriction : la contraction anormale des muscles de la paroi des bronches.

2) MECANISME DE LA DECONJUGAISON ENZYMATIQUE

La glucuroconjugaison est la fixation d'un acide glucuronique, par le biais de l'uridine-diphosphate glucuronique (UDPGA), sur la fonction hydroxyle d'un composé de manière à le rendre plus hydrophile, ce qui facilite son élimination de l'organisme. Cette réaction est catalysée par la UDP-glucuronosyltransférase.

La sulfoconjugaison est également une réaction chimique qui augmente l'hydrosolubilité d'une molécule grâce à la fixation d'un ion sulfate, provenant du 3'-phosphoadénosine-5'-phosphosulfate (PAPS), sur sa fonction hydroxyle, et elle est catalysée par l'ATP-sulfokinase.

La déconjugaison entre l'acide glucuronique ou l'ion sulfate et la substance active du médicament est une hydrolyse catalysée par la β -glucuronidase :



Cette enzyme a trois origines possibles pour son utilisation en chimie analytique : mammifères, bactéries ou mollusques, cette dernière étant la plus couramment utilisée. La β -glucuronidase type HP-2 de *Helixpomatia* est celle choisie pour cette étude car elle possède une activité glucuronidase supérieure et une activité sulfatase [5].

II) MATERIELS ET METHODES

1) ECHANTILLONNAGE ET METHODE D'EXTRACTION

1. ECHANTILLONNAGE

Les eaux analysées en laboratoire sont prélevées dans les stations d'épuration Clos de Hilde et Louis Fargue, se trouvant à proximité de Bordeaux. Pour les deux premières expériences, l'échantillonnage est dit ponctuel car il a été fait instantanément en entrée et en sortie de STEP. En revanche, pour la troisième expérience, les échantillons utilisés proviennent d'un prélèvement moyenné 24 heures fait dans la STEP Louis Fargue, c'est-à-dire qu'un échantillon moyen a été prélevé en fonction du débit sur une période de 24 heures.

Arrivées en STEP, les eaux résiduaires brutes subissent tout d'abord un pré-traitement qui consiste en un dégrillage, un dessablage et un dégraissage, afin d'éliminer les déchets de taille moyenne, les graisses et le sable. Elles passent ensuite dans un décanteur primaire qui permet le retrait des matières en suspension encore présentes. Enfin, ces eaux sont biofiltrées et clarifiées avant d'être rejetées dans la Garonne.

Le prélèvement des eaux d'entrée de STEP s'effectue avant le pré-traitement et celui des eaux de sortie se fait après la biofiltration. Ces échantillons sont conservés jusqu'à leur extraction dans des flacons en Nalgene PEHD (polyéthylène haute densité) qui sont inertes chimiquement.

En laboratoire, les échantillons sont filtrés sur des filtres GF/A (1,6 μ m) puis GF/F (0.7 μ m) pour les eaux d'entrée, étant les plus chargées en déchets, directement sur des filtres GF/F pour les eaux de sortie. Ces eaux filtrées sont conservées dans des congélateurs à -20°C, ce qui permet de les extraire ultérieurement.

2. ETAPES DE DECONJUGAISON

Les prises d'essais des échantillons devant être déconjugués sont de 50ml. Ils sont tout d'abord acidifiés à pH 5 grâce à une solution d'acide chlorhydrique diluée à un tiers avec de l'eau Vittel, puis mis en présence de 50 μ l de β -glucuronidase et incubés pendant 12h à 37°C, afin de se trouver dans les conditions optimales d'activité de l'enzyme [6].

3. TECHNIQUE D'EXTRACTION

La méthode d'extraction utilisée est une extraction en phase solide ou *Solid Phase Extraction* (SPE). Elle permet d'extraire les composés d'intérêt sur une phase stationnaire, récupérés ensuite lors de l'élution, dans un plus petit volume.

Au-delà d'un certain volume, le volume de fuite, certains médicaments ne sont plus piégés dans la phase adsorbante. Dans cette étude, les prises d'essai sont faibles, de 50 ml, de façon à minimiser ce phénomène, tout en restant compatible avec les limites de détection. Tous les échantillons sont, au préalable, acidifiés à pH 2, afin que les molécules soient sous forme neutre, ce qui leur confère une plus grande affinité avec la phase adsorbante de la cartouche.

En parallèle des échantillons d'eau de STEP, des solutions enrichies artificiellement, appelées dopages, sont effectuées avec de l'eau Vittel à pH 2 et une solution constituée d'un mélange des médicaments étudiés se trouvant à l'état natif, achetés dans le commerce. La concentration visée en natifs par dopages est d'environ 600 ng/l. Ces dopages permettront de déterminer par la suite le rendement d'extraction des molécules. La quantification ayant lieu par étalonnage interne, une solution de composés marqués (étalons internes) est ajoutée aux échantillons. De plus, afin de qualifier la contamination apportée par la manipulation, un blanc constitué de ces étalons internes est réalisé.

L'extraction se fait dans des cartouches SPE (OASIS MCX 3cc 60mg) qui sont placées sur une cuve à vide. Les cartouches sont conditionnées par percolation d'acétate d'éthyle, puis d'eau Vittel à pH 2 ; elles ne doivent pas sécher avant le dépôt de l'échantillon. Ce dépôt est effectué à faible débit, goutte à goutte, afin d'éviter la formation de chemins préférentiels dans la phase. Après une étape de séchage sous vide, la fraction organique est éluée dans des flacons de 22 ml avec différents solvants qui permettent l'extraction des composés d'intérêt en fonction de leur polarité, en limitant l'extraction des molécules de la matrice.

Ces flacons sont alors évaporés sous un flux d'azote et la fraction organique est récupérée dans 300µl d'acétonitrile. Pour finir, un marqueur d'injection, l'imipramine d4, est ajouté aux échantillons. Il permet d'évaluer le rendement d'extraction des étalons internes. Ce protocole est résumé en annexe 2.

2) ANALYSE LC-MS/MS

1. APPAREILLAGE

La chromatographie en phase liquide (LC) est effectuée sur un appareil Agilent® 1100 series ou 1260 infinity. Le détecteur est un spectromètre de masse, en tandem, équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI). Cette ionisation sera positive (ESI+) ou négative (ESI-) selon que les molécules aient tendance à se charger positivement ou négativement. Les composés vont être entraînés par une phase mobile composée d'un mélange d'eau milli-Q et d'acétonitrile, qui sont acidifiés par 0.1% d'acide formique dans le cas d'une LC ESI+. La phase mobile est pompée jusqu'au passeur automatique dans lequel a lieu l'injection des échantillons. Les molécules sont alors entraînées et séparées dans la colonne Zorbax SB C18 (50 x 2,1 mm de diamètre, 1,8µm) thermostatée à 30°C. Les billes de silice de la colonne sont greffées à des chaînes de 18 carbones qui lui donnent un caractère hydrophobe permettant de retenir principalement les molécules apolaires.

Dans le cas d'une LC ESI+, les molécules arrivent ensuite au niveau de la source du premier spectromètre de masse (MS) où un proton se fixe sur chacune d'elle, ce qui leur confère une charge positive. La phase mobile est dispersée en gouttelettes et un gaz séchant élimine le solvant entourant les molécules. Un premier quadropôle les sélectionne en fonction

de leur rapport masse sur charge (m/z). Elles subissent ensuite une fragmentation au niveau d'une cellule de collision et le second MS sélectionne un ion produit. Le premier fragment majoritaire obtenu représente la transition de quantification et le second représente la transition de confirmation.

La différence de fonctionnement pour la LC ESI- se trouve au niveau de la source du premier MS qui a pour rôle d'arracher un proton aux molécules, afin qu'elles soient chargées négativement.

Le choix de l'analyse en ESI+ ou ESI- dépend des propriétés des molécules.

2. QUANTIFICATION PAR ETALONNAGE INTERNE

La quantification s'effectue par l'ajout d'une solution d'étalons internes aux échantillons. Ces étalons internes sont, dans la mesure du possible, les mêmes composés que ceux recherchés dans les eaux, à la différence près qu'ils sont deutérés pour être différenciés de leur homologue natif.

Pour l'alprazolam, le lorazepam, l'hydroxy ibuprofène, l'imipramine, la doxépine et laterbutaline, leur étalon interne spécifique n'est pas disponible au laboratoire donc ils sont déterminés en fonction d'un autre étalon interne présentant les mêmes caractéristiques physico-chimiques.

Après le passage des échantillons dans le LC-MS/MS, les chromatogrammes sont analysés par le logiciel de retraitement d'Agilent® Masshunter Quantitative Analysis qui extrait les transitions et intègre les pics chromatographiques. L'aire des pics obtenus est proportionnelle à la masse du composé présente dans l'échantillon : $m_e = k_e \cdot A_e$. Cette formule s'applique également aux composés natifs et le rapport des deux permet de calculer le coefficient de réponse K_i :

$$\frac{m_n}{m_e} = \frac{k_n}{k_e} \cdot \frac{A_n}{A_e} \rightarrow K_i = \frac{k_n}{k_e}$$

La masse d'étalon interne utilisée étant connue, ainsi que la valeur du K_i , calculée à partir d'une solution de composés natifs de concentrations connues, il est possible de déterminer les concentrations des médicaments d'intérêt présentes dans les eaux étudiées.

III) RESULTATS

1) VARIABILITE DE LA METHODE D'EXTRACTION

Une première expérimentation a été effectuée sur des échantillons ponctuels d'entrée et sortie de STEP du Clos de Hilde, en triplicat. Les moyennes des concentrations retrouvées dans ces eaux, pour les différentes molécules étudiées, sont données dans les histogrammes ci-après.

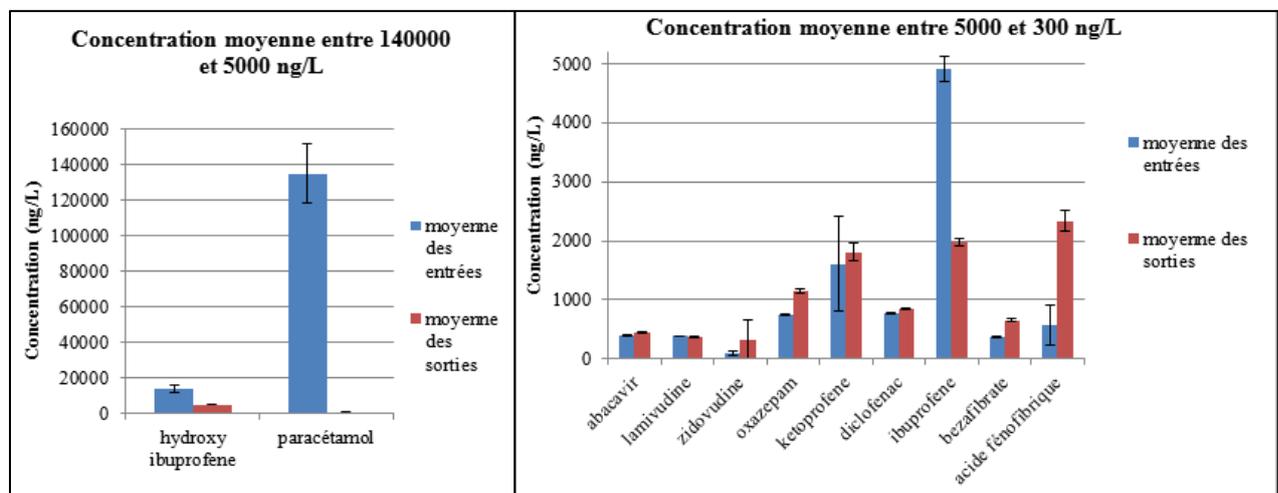


Figure 1: Concentration moyenne des molécules comprises entre 5000 et 300 ng/l en entrée et sortie de STEP

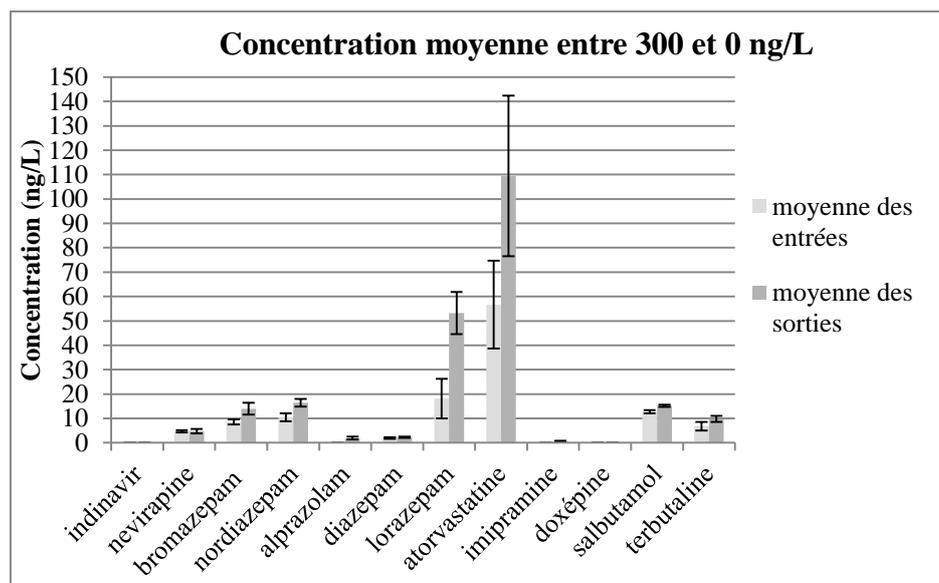


Figure 2: Concentration moyenne des molécules comprises entre 300 et 0 ng/L en entrée et sortie de STEP

Le paracétamol est le composé le plus présent dans les eaux résiduelles d'entrée de STEP. En effet, c'est le médicament le plus consommé parmi ceux analysés dans cette étude. Environ 99% de cette molécule est éliminé de la phase dissoute lors des traitements d'assainissement. L'hydroxy-ibuprofène et l'ibuprofène sont également bien éliminés, respectivement à 64% et 60%.

En revanche, le phénomène inverse est observé pour l'oxazepam, le bézafibrate, l'acide fénofibrique, le lorazepam et l'atorvastatine. L'augmentation de leur concentration entre l'entrée et la sortie de la STEP peut être due à un problème de variabilité de la méthode, mais elle peut également s'expliquer par un phénomène de déconjugaison qui aurait lieu lors de la biofiltration où les métabolites retrouveraient leur forme native. D'autre part, les prélèvements sont ponctuels donc, compte-tenu des temps de résidence des eaux en STEP qui sont d'environ une heure, ce n'est pas la même masse d'eau qui est prélevée en entrée et en sortie. Cela signifie qu'un biais est possible en cas de variation rapide des concentrations des molécules.

D'autres composés tels que l'abacavir, la lamivudine, le diazepam et le diclofénac ont une concentration stable entre l'entrée et la sortie de STEP.

Par ailleurs, la zidovudine, ainsi que le lorazepam et la terbutaline, possèdent des rendements de dosage assez faibles, ce qui ne permet pas de conclure sur leur comportement. L'indinavir, l'alprazolam, l'imipramine et la doxépine sont, quant à eux, totalement ou en partie absents dans ces eaux.

Les analyses ayant été conduites sur des triplicats, il est possible de calculer les écarts relatifs (RSD, en %) des molécules dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP :

RSD (%)	Abacavir	Indinavir	Lamivudine	Nevirapine	Zidovudine	Bromazepam
entrées	4	ND	2	10	35	12
sorties	3	ND	2	20	109	17
	Nordazepam	Alprazolam	Diazepam	Oxazepam	Lorazepam	Ketoprofène
entrées	15	ND	16	2	45	50
sorties	9	29	12	3	16	9
	Diclofenac	Ibuprofène	Hydroxy-ibuprofène	Paracétamol	Bézafrate	Acide fénofibrique
entrées	1	4	16	12	3	57
sorties	1	3	7	15	4	7
	Atorvastatine	Imipramine	Doxépine	Salbutamol	Terbutaline	
entrées	32	ND	ND	5	26	
sorties	30	26	ND	3	13	

ND = non détecté

Tableau 1: Ecart-types relatifs des molécules en entrée et sortie de STEP (%)

L'écart-type relatif renseigne sur la variabilité de la méthode. Lorsqu'il est inférieur à 20% et stable entre les entrées et les sorties, ce qui est le cas pour la plupart des composés, cela indique que la répétabilité de la méthode est bonne.

Pour les molécules n'ayant pas leur propre étalon interne, le RSD est plus élevé, particulièrement dans les eaux d'entrée de STEP où les effets de la matrice sont plus importants. Cela souligne l'intérêt de l'étalonnage interne, ainsi que le besoin d'utiliser un étalon interne adapté à chaque molécule étudiée.

2) VALIDATION DE LA METHODE DE DECONJUGAISON

1. DECONJUGAISON DE DOPAGES

Afin de vérifier l'impact de l'incubation pendant 12 heures à 37°C sur les médicaments, ainsi que celui de l'ajout de la β -glucuronidase dans les solutions, des dopages contenant des composés natifs représentatifs des médicaments étudiés ont été effectués et placés dans différentes conditions :

- soit au réfrigérateur,
- soit dans l'étuve à 37°C pendant 12 heures,
- soit dans les conditions de déconjugaison, c'est-à-dire additionnés à 50 μ l de β -glucuronidase et placés dans l'étuve à 37°C pendant 12 heures.

Les moyennes des triplicats de ces dopages sont représentées dans l'histogramme ci-dessous.

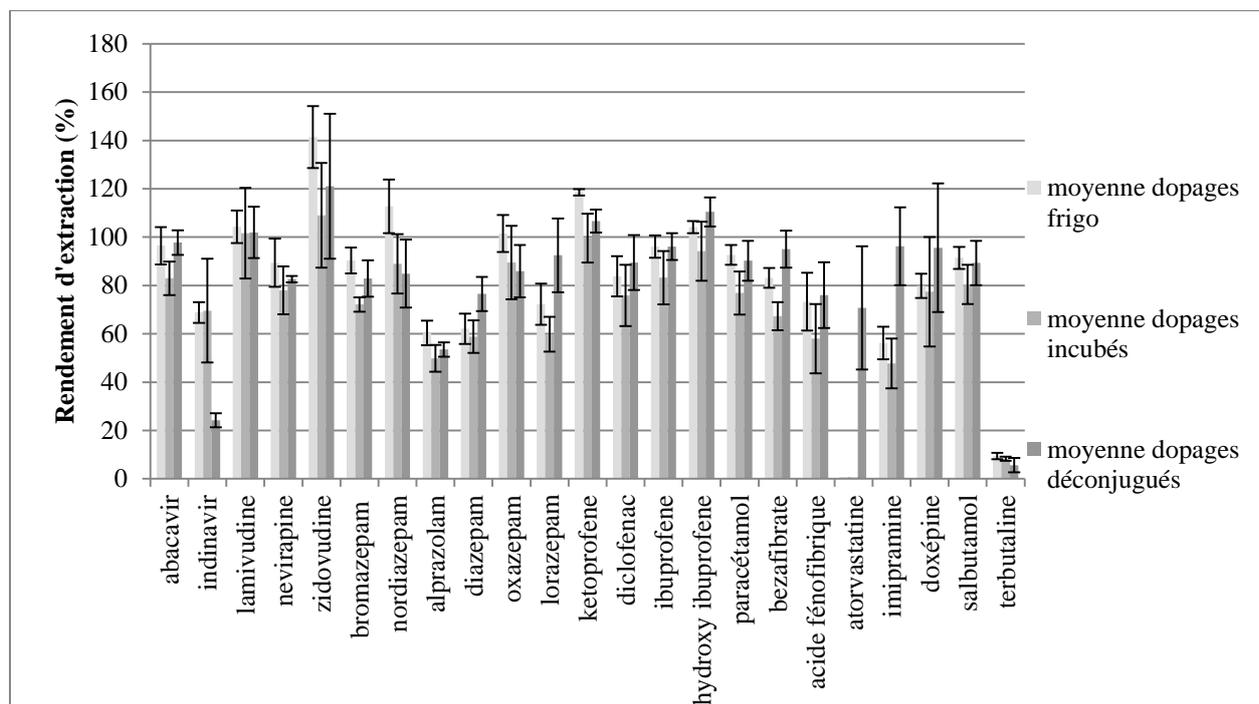


Figure 3: Rendement d'extraction des dopages (%)

En prenant en compte la variabilité des concentrations entre les triplicats, la majorité des médicaments ont une concentration constante qu'ils soient placés au réfrigérateur, dans l'étuve ou mis en présence de l'enzyme.

Dans les dopages, l'atorvastatine est en concentration trop proche de sa limite de détection d'où sa concentration nulle pour les dopages placés au réfrigérateur ou à l'étuve. La différence observée pour l'indinavir n'a pas pu être expliquée mais provient probablement d'un problème analytique et non d'une réelle perte lors de la déconjugaison.

L'imipramine ne possède pas son propre étalon interne donc elle est comparée à un autre composé, l'amitryptiline d6, qui a des propriétés physico-chimiques semblables, mais pas similaires, ce qui explique sa variabilité dans ces dopages.

2. DECONJUGAISON D'EAUX DE STEP

Cette étude a été effectuée sur des eaux d'entrée et de sortie de la station d'épuration du Clos de Hilde provenant d'un prélèvement ponctuel. Un triplicat de chaque a été incubé dans une étuve à 37°C afin d'être dans les mêmes conditions que les triplicats auxquels la β -glucuronidase a été ajoutée.

La moyenne des concentrations de chacun des médicaments étudiés a été calculée pour les échantillons incubés et pour les échantillons déconjugués.

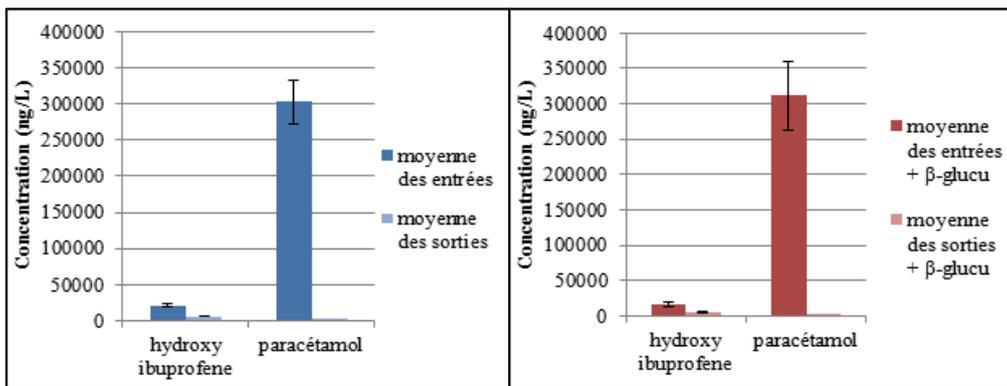


Figure 4: Concentration moyenne des molécules comprises entre 300000 et 5000 ng/l dans les eaux d'entrées et de sorties de STEP ayant subi la déconjugaison ou non

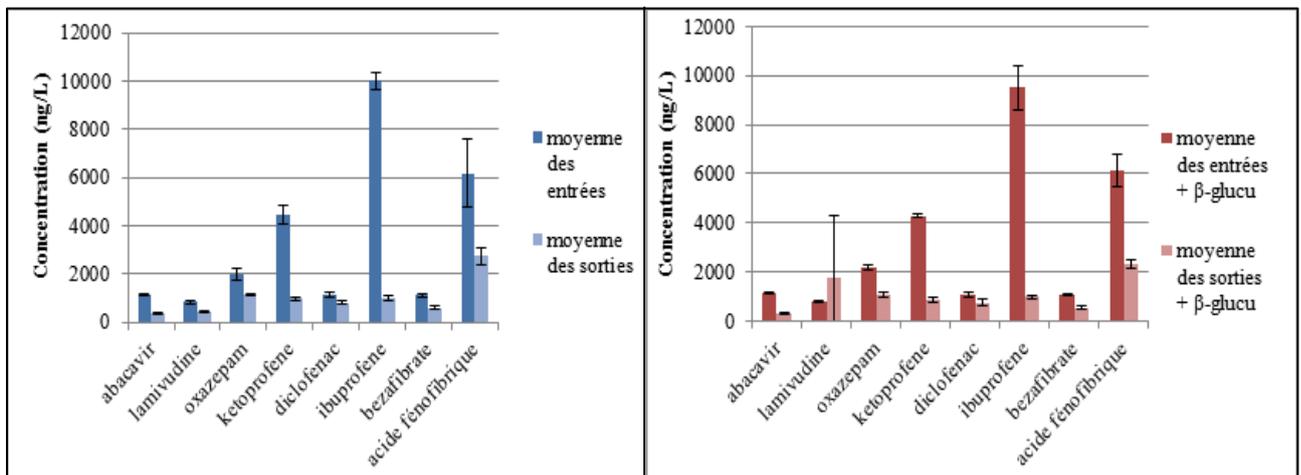


Figure 5: Concentration moyenne des molécules comprises entre 5000 et 300 ng/l dans les eaux d'entrées et de sorties de STEP, ayant subi la déconjugaison ou non

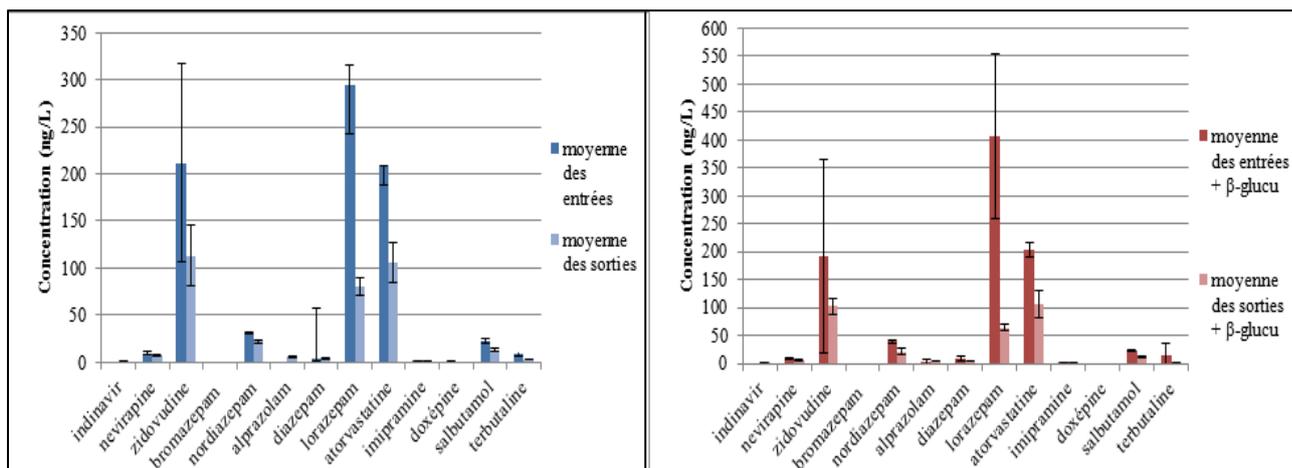


Figure 6: Concentration moyenne des molécules comprises entre 300 et 0 ng/l dans les eaux d’entrées et de sorties de STEP, ayant subi la déconjugaison ou non

Qu’elles aient subi ou non une déconjugaison, toutes les molécules sont en quantité diminuée dans les eaux de sortie par rapport aux eaux d’entrée. En effet, dans les deux conditions de manipulation, le paracétamol est dégradé à environ 99% entre les eaux d’entrée et de sortie de STEP, le kétoprofène à environ 80% et la concentration moyenne en lorazepam est diminuée de 75% dans le cas des échantillons incubés et de 85% dans le cas des échantillons mis en présence de β-glucuronidase.

L’oxazepam, le bézafibrate, l’acide fénofibrique, le lorazepam et l’atorvastatine ont également une concentration plus élevée dans les eaux d’entrée de STEP que dans les eaux de sortie, contrairement à ce qui a été observé dans la première expérimentation. Ceci pourrait s’expliquer par une hydrolyse spontanée des métabolites de ces substances qui aurait été activée par l’incubation des échantillons à 37°C pendant 12 heures. Cependant, il s’agit d’un échantillonnage ponctuel donc une autre explication serait que la masse d’eau prélevée en sortie ne correspond pas à celle prélevée en entrée, le temps de résidence des molécules dans la STEP étant d’environ une heure.

La lamivudine et la zidovudine ont des concentrations très variables selon les échantillons, ce qui ne permet pas de conclure sur ces molécules.

La comparaison des moyennes des concentrations des molécules étudiées dans les eaux résiduelles d’entrée de STEP mises en présence ou non de β-glucuronidase est présentée dans les histogrammes ci-après :

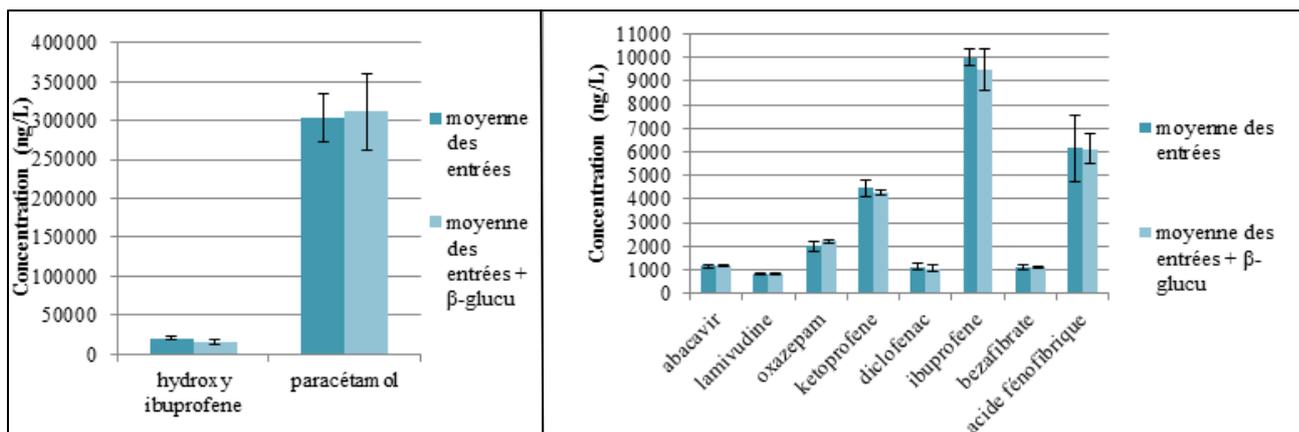


Figure 7: Concentration moyenne des molécules comprises entre 230000 et 200 ng/l dans les eaux d'entrées de STEP ayant subi une déconjugaison ou non

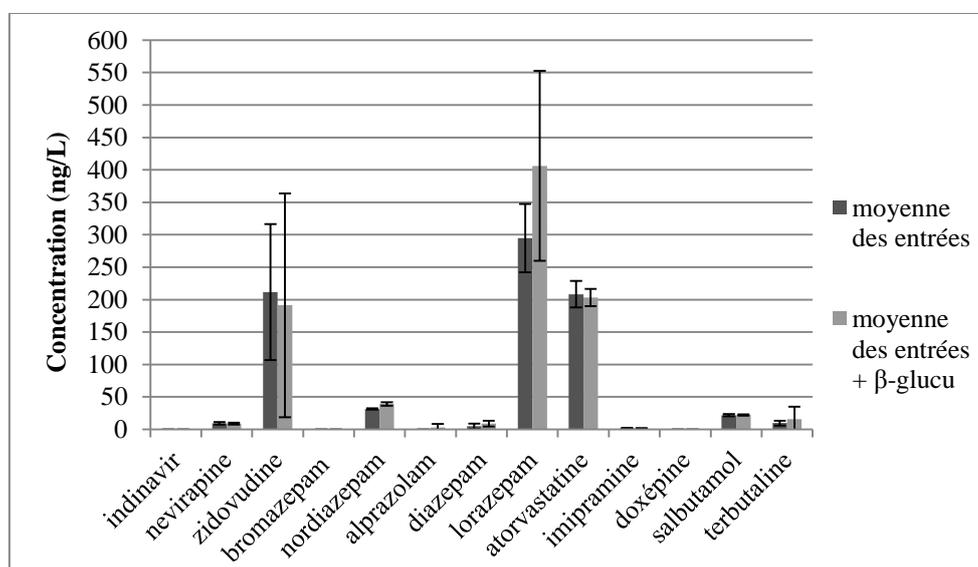


Figure 8: Concentration moyenne des molécules comprises entre 200 et 0 ng/l dans les eaux d'entrées de STEP ayant subi une déconjugaison ou non

La concentration moyenne de chacune de ces molécules dans l'eau analysée est stable que cette eau ait été mise en présence ou non de β-glucuronidase.

D'après les premières observations, les échantillons ayant seulement été incubés auraient pu subir une hydrolyse spontanée due à la température donc, dans tous les échantillons étudiés, les métabolites glucuronidés ou sulfonidés des molécules auraient été déconjugés. Cette hypothèse aurait pu être vérifiée grâce à un triplicat placé au réfrigérateur.

Dans les eaux de sortie de STEP, les moyennes des concentrations des molécules sont également inchangées entre les échantillons incubés et les échantillons mis en présence d'enzyme :

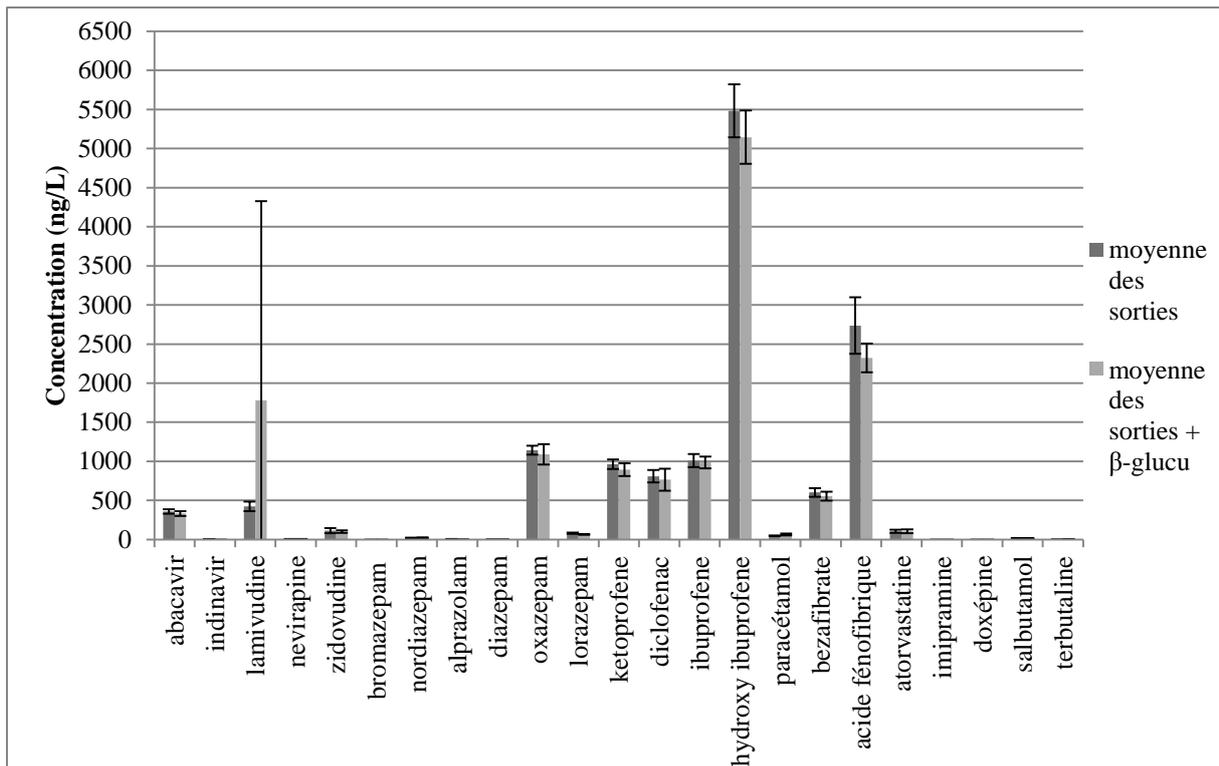


Figure 9: Concentration moyenne des molécules dans les eaux de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non

3) APPLICATION A DES ECHANTILLONS MOYENNES 24 HEURES

Cette méthode de déconjugaison a été appliquée à des échantillons moyennés 24 heures, prélevés dans la station d'épuration Louis Fargue les 29, 30 et 31 mai 2012. Ce prélèvement n'étant pas effectué dans la même STEP que l'expérience précédente, il ne sera pas possible de comparer les résultats de ces deux analyses.

Les résultats les plus pertinents de cette étude sont ceux du paracétamol, de l'ibuprofène, de l'abacavir, du kétoprofène et de l'acide fénofibrique.

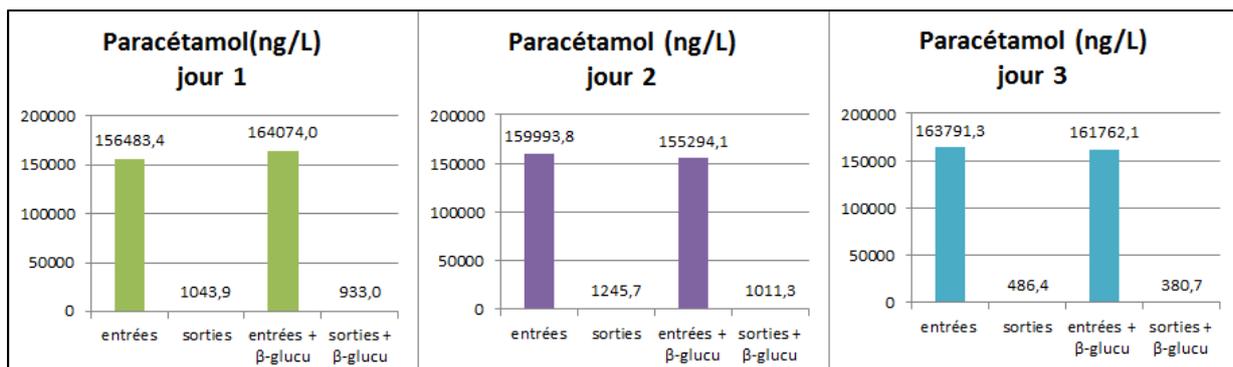


Figure 10: Concentration (ng/l) en paracétamol dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non, des 29, 30 et 31 mai 2012

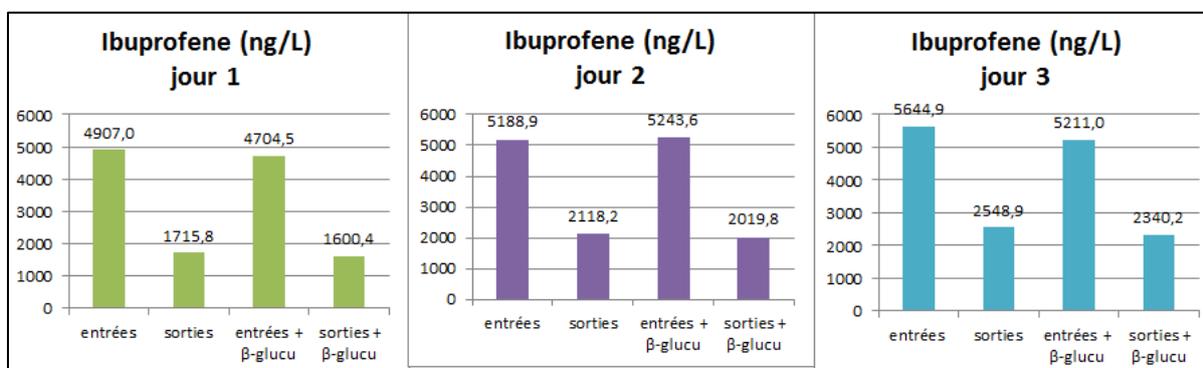


Figure 11: Concentration (ng/l) en ibuprofène dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non, des 29, 30 et 31 mai 2012

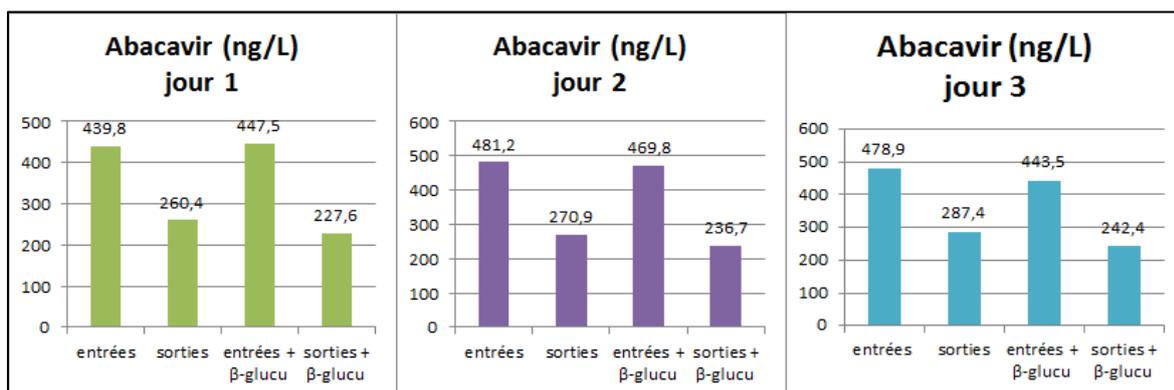


Figure 12: Concentration (ng/l) en abacavir dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non, des 29, 30 et 31 mai 2012

Ces trois molécules sont bien dégradées lors de leur passage dans la STEP. En revanche, l'ajout de β -glucuronidase aux échantillons n'a pas modifié la quantité détectée dans les eaux d'entrée et de sortie.

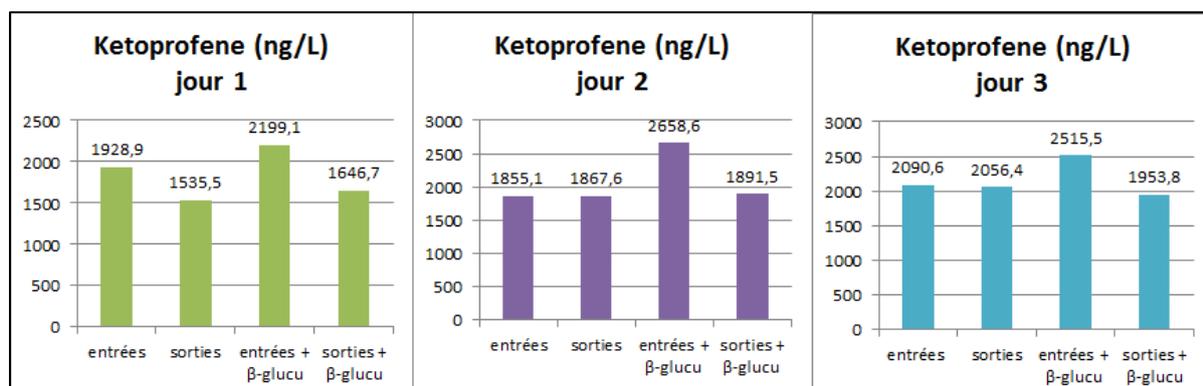


Figure 13: Concentration (ng/l) en kétoprofène dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non, des 29, 30 et 31 mai 2012

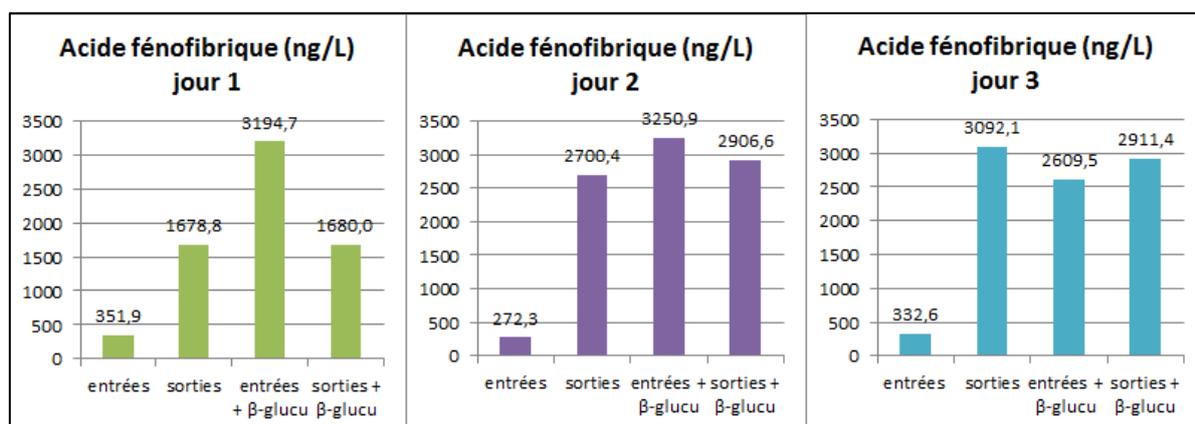


Figure 14: Concentration (ng/l) en acide fénofibrique dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP ayant subi une déconjugaison ou non, des 29, 30 et 31 mai 2012

L'ajout de la β -glucuronidase a augmenté la quantité de kétoprofène et d'acide fénofibrique détectée en entrée de STEP, pour ces 3 jours consécutifs, et n'a pas modifié la concentration déterminée dans les eaux de sortie. Cette observation suppose la déconjugaison des métabolites glucuronidés de ces composés dans les eaux d'entrée qui aurait déjà eu lieu dans les eaux de sortie lors de leur assainissement.

L'acide fénofibrique n'étant pas analysé avec son propre étalon interne, pour vérifier que ces résultats sont réels et non un artefact analytique, il faudrait utiliser l'acide fénofibrique deutéré.

IV) DISCUSSION

L'objectif de cette étude était de trouver une justification de l'augmentation de la concentration de certains composés dans les eaux de sortie par rapport aux eaux d'entrée de STEP, tel que l'oxazepam, le bézafibrate, l'acide fénofibrique, l'atorvastatine et le lorazepam. L'hypothèse qui a été posée pour expliquer cette observation était la dégradation des métabolites de ces molécules lors de la biofiltration en STEP.

D'après les résultats présentés précédemment, la déconjugaison enzymatique effectuée en laboratoire n'a pas abouti à l'effet escompté. La première supposition pour expliquer cela serait que ce protocole de déconjugaison, utilisant la β -glucuronidase de *Helix pomatia*, ne fonctionne pas comme escompté. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait modifier les conditions de manipulation telles que la quantité d'enzyme ajoutée aux échantillons, la température d'incubation, ainsi que le temps. Par exemple 2 heures à 60°C comme l'ont fait K. Croes et al. (2009) [7].

Une autre hypothèse à avancer est que cette déconjugaison enzymatique fonctionne, mais les métabolites glucuroconjugués ou sulfoconjugués ont déjà été hydrolysés spontanément dans l'eau résiduaire amenée en STEP et stockée après le prélèvement. Cette hypothèse a déjà été avancée dans D'Ascenzo et al. (2003) [8].

Afin de confirmer ces hypothèses, une manipulation de déconjugaison enzymatique avec des standards glucuronidés et sulfonidés devraient être effectuée. D'autres familles médicamenteuses pourraient être observées.

VI) CONCLUSION ET PERSPECTIVES

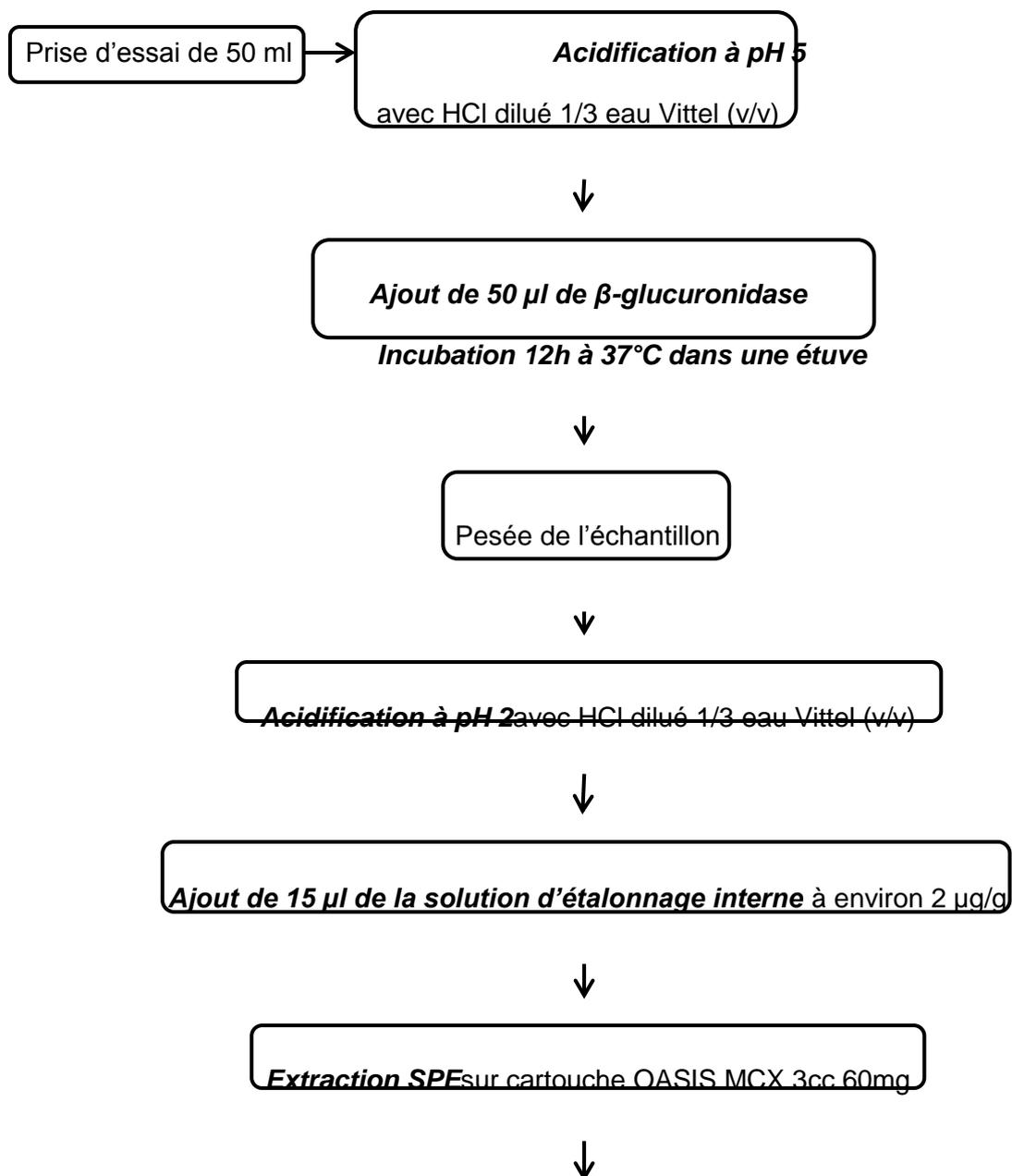
Une première manipulation sur des échantillons ponctuels d'eaux d'entrée et de sortie de STEP a permis de caractériser les concentrations en médicaments dans ces effluents. Cette expérience a mis en évidence une quantité plus importante d'oxazepam, lorazepam, bézafibrate, acide fénofibrique et atorvastatine dans les eaux de sortie par rapport aux eaux d'entrée de STEP. De plus, la variabilité des composés a pu être évaluée. Celle-ci, faible pour la plupart des molécules, indique une bonne répétabilité de la méthode. Un protocole de déconjugaison enzymatique des eaux de STEP a alors été mis en place, afin d'explicitier les différences de concentrations observées entre l'entrée et la sortie. Ce protocole a tout d'abord été appliqué à des solutions de dopages. L'incubation 12 heures à 37°C et l'ajout de β -glucuronidase n'ayant pas modifié le profil des molécules natives, cette technique de déconjugaison a été validée. Elle a ensuite été appliquée à des échantillons ponctuels d'eau d'entrée et de sortie de la STEP du Clos de Hilde. L'oxazepam, le lorazepam, le bézafibrate, l'acide fénofibrique et l'atorvastatine ne se trouvaient pas en plus grande quantité dans les eaux de sortie, mais la concentration des molécules n'était pas augmentée dans les eaux d'entrée après déconjugaison. Enfin, l'application de cette méthode de déconjugaison sur des échantillons moyennés 24 heures a montré une augmentation de la concentration du kétoprofène, ainsi que de l'acide fénofibrique dans les eaux d'entrée de STEP. En revanche, aucune modification due à la β -glucuronidase n'a été remarquée pour les autres molécules.

Donc la problématique d'une plus grande concentration de certains composés en sortie de STEP par rapport aux eaux prélevées en entrée n'a pas pu être expliquée dans cette étude, mais la déconjugaison ne s'applique pas seulement aux eaux de STEP. En effet, les eaux épurées rejetées dans les eaux de surface contiennent des métabolites glucuroconjugués ou sulfoconjugués qui peuvent être hydrolysés dans ces eaux et reprendre leur forme active. La substance active du médicament de départ peut alors agir sur les poissons, organismes aquatiques invertébrés, algues ou bactéries présentes dans l'eau. La toxicité des produits pharmaceutiques pour ces écosystèmes a été fortement étudiée en Suède et également prouvée [9].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ternes TA. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res* 1998 ; 32 : 3245-60.
2. Rapport de l'Académie Nationale de Pharmacie « Médicaments et environnement », 2008.
3. Hernando MD, Mezcua M, Fernandez-Alba AR, Barcelo D, Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta*, 2006, **69**, 334-342.
4. LEEM : Les entreprises du médicament - Le monde du médicament – Les chiffres clés [en ligne]. Disponible sur : <http://www.leem.org/article/marche-mondial> (consulté le 20.06.2012).
5. Rachel L. Gomes, Will Meredith, Colin E. Snape, Mark A. Sephton, Analysis of conjugated steroid androgens: Deconjugation, derivatisation and associated issues, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 49, Issue 5, 12 July 2009, Pages 1133-1140.
6. Sigma-aldrich, Product information: β -glucuronidase from *Helix pomatia*, type HP-2, aqueous solution, $\geq 100,000$ units/mL.
7. K. Croesa, L. Goeyens, W. Baeyens, J. Van Loco, S. Impens, Optimization and validation of a liquid chromatography tandem massspectrometry (LC/MS n) method for analysis of corticosteroids in bovine liver: Evaluation of Keyhole Limpet β -glucuronidase/sulfatase enzyme extract, *Journal of Chromatography B*, 877 (2009) 635–644.
8. G.D'Ascenzo, A.Di Corcia*, A.Gentili, R.Mancini, R.Mastr opasqua, M.Nazzari, R Samperi, Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities, *The Science of the Total Environment* 302 (2003) 199–209.
9. Stockholms läns landsting, Environmentaly classified pharmaceuticals, 2012.

ANNEXE 2



Conditionnement des cartouches : 3 ml éthyle acétate et 3 ml eau Vittel pH 2



Dépôt et élution des échantillons

Cuve SPE sous vide : -5 mmHg



Séchage des cartouches

Cuve SPE sous vide environ 1h



Elution de la fraction organique :

3 ml éthyle acétate ; 3 ml éthyle acétate / acétone (v/v) ;
3 ml méthanol / dichlorométhane (v/v avec 5% de NH₄OH)



Evaporation sous flux gaz



Ajout de 15 µl de solution de marqueur d'injection : Imipramine d4 à environ 1 µg/0



Transfert dans flacons d'injection

avec 300 µl d'acétonitrile



Répartition dans les 3 vials de stock, ESI+ et ESI-

100 µl finaux par vial

Classe pharmaceutique	Substance active	Structure chimique	Consommation en France en 2009	Métabolisme et Conjugaison	Données toxicité [2]
Anti-rétroviraux	abacavir	C ₁₄ H ₁₈ N ₆ O	400 kg/an	glucuroconjugaison	
	indinavir	C ₃₆ H ₄₇ N ₅ O ₄	160 kg/an	glucuroconjugaison	
	lamivudine	C ₈ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	2000 kg/an	sulfoconjugaison	
	nevirapine	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O	800 kg/an	glucuroconjugaison	
	zidovudine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	130 kg/an	glucuroconjugaison	
Psycholeptiques	bromazepam	C ₁₄ H ₁₀ BrN ₃ O	1,7 tonnes/an	glucuroconjugaison	
	nordazepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O	140 kg/an	glucuroconjugaison	
	alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	140 kg/an	glucuroconjugaison	
	diazepam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	400 kg/an	glucuroconjugaison	
	oxazepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	5 tonnes/an	glucuroconjugaison	
	lorazepam	C ₁₅ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	320 kg/an	glucuroconjugaison	
Analgésiques	ketoprofene	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	22,5 tonnes/an	glucuroconjugaison	Toxiques pour invertébrés et algues
	diclofenac	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	8,5 tonnes/an	glucuroconjugaison	
	ibuprofène	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	130 tonnes/an	glucuroconjugaison	
	hydroxy	C ₁₃ H ₁₈ O ₃		métabolite de l'ibuprofène	

	ibuprofène				
	paracétamol	$C_8H_9NO_2$	1800 tonnes/ans	glucuroconjugaison et sulfoconjugaison	
Hypolipémiant s	bézafibrate	$C_{19}H_{20}ClNO_4$	8,5 tonnes/an	glucuroconjugaison	Toxiques pour les bactéries
	acide fénofibrique	$C_{20}H_{21}ClO_4$	45 tonnes/an	glucuroconjugaison	
	atorvastatine	$C_{33}H_{35}FN_2O_5$	8,4 tonnes/an	glucuroconjugaison	
Antidépresseu rs	imipramine	$C_{19}H_{24}N_2$	95 kg/an	glucuroconjugaison	Inhibiteurs de la recapture
	doxépine	$C_{19}H_{21}NO$	82 kg/an	glucuroconjugaison	sélective de la sérotonine
Anti- asthmatiques	salbutamol	$C_{13}H_{21}NO_3$	180 kg/an	sulfoconjugaison	
	terbutaline	$C_{12}H_{19}NO_3$	160 kg/an	sulfoconjugaison	

Annexe 10

Influence des rejets urbains de la Communauté Urbaine de Bordeaux sur la composition de la MOP en Garonne estuarienne.

Rapport Master 2, Université Bordeaux1, 28p.

Nzimandoukou E. (2012).



UNIVERSITE BORDEAUX 1

UFR DES SCIENCES BIOLOGIQUES

MASTER SCIENCES ET TECHNOLOGIES

FONCTIONNEMENT ET DYSFONCTIONNEMENT DES ECOSYSTEMES AQUATIQUES

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011-2012

RAPPORT DE STAGE

ELVIRE L. NZIMANDOUKOU M.

**INFLUENCE DES REJETS URBAINS DE LA COMMUNAUTE URBAINE DE
BORDEAUX SUR LA COMPOSITION DE LA MATIERE ORGANIQUE
PARTICULAIRE EN GARONNE ESTUARIEENNE**

ENCADRANTS :

- NICOLAS SAVOYE ;
- HENRY ETCHEBER ;
- BENOIT SA TOUR.
-

Station Marine d'Arcachon
Equipe ECOlogie et BIOgéo chimie des systèmes Côtiers (ECOBIOC)
Université Bordeaux 1, UMR 5805 EPOC – OASU, 2 Rue du Professeur Jolyet
33120 ARCA CHON (FRANCE)

REMERCIEMENTS :

Ma reconnaissance va avant tout vers Dieu, Celui par qui et pour qui je puis tout. Donne-moi de demeurer en Toi toute ma vie Jésus.

Je remercie Nicolas Savoye pour ces mois de travail. Merci d'avoir cru en moi en me confiant ce sujet. Merci pour la rigueur dans le travail, la sympathie, les conseils, les critiques. Je te suis réellement reconnaissante d'avoir été là pour m'enseigner jours après jours sans jamais me donner l'impression d'être un charge. Je prie que Dieu te rende ce que tu as fait pour moi.

Merci à Henry Etcheber et Benoit Sautour d'avoir été là quand j'ai eu besoin de vous et pour vos conseils avisés.

Merci à Aurélie Lanoux pour ta bonne humeur et ta disponibilité, également pour les sorties mensuelles en stations d'épuration qui, avec toi prenaient une allure de visite dans un musée d'histoire, tu es la pro des STEP ! J'espère que tes travaux aboutiront à des résultats fameux.

François Dindinaud, merci de m'avoir confié tes précieux échantillons, je te promets d'en avoir pris soin. Merci de me permettre d'apporter ma modeste contribution à l'édifice qu'est ta thèse. Bon courage Fanfan

Merci à Valérie David et Sophie Dubois pour votre précieuse aide pour le traitement statistique de mes données. Merci parce qu'après avoir travaillé sous vos ailes je me sens maintenant capable de m'attaquer aux statistiques sans trop de craintes. Vous avez été divines

Merci à Karine Charlier pour les semaines 'spectrométrie de masse à rapports isotopiques'. Merci pour l'apprentissage de ces analyses qui étaient pour moi un mystère. Merci surtout pour ta simplicité.

Merci à tous les étudiants de Master 2 qui étaient également en stage à la station marine Emilie ma pote, Aurélie, Aude, Matthieu, Alexandre, Ludo, Perrine, Perinne, Sophie, Jade, Jennifer, Kevin, Clément et Christophe. Une petite pensée pour Stephanie Vilain, mon autre pote. Je vous souhaite tout le bonheur du monde. Merci à tout le personnel de la station marine et particulièrement à Michel pour ton sourire quotidien, un vrai plaisir.

Pour finir, merci à ma famille et mes amis pour votre présence à mes côtés malgré mon silence pendant les derniers moments de la rédaction de ce rapport.

Merci à mes parents, à ma grande sœur chérie, Edna et mes charmants frères Edgard, Evrard et Epiphane.

Merci à ma sœur du cœur Marina B et à l'homme de ma vie Vincy, mi tonda wè

Table des matières

1. INTRODUCTION.....	Erreur ! Signet non défini.
2. MATERIELS & METHODES	3
2.1 Zone d'étude.....	3
2.2 Stratégie d'échantillonnage	5
2.3 Analyses	7
2.4 Données supplémentaires	7
2.5 Traitement statistique des données.....	7
2.6 Modèle de mélange : IsoSource.....	8
3. RESULTATS & DISCUSSION.....	9
3.1 Variation des rapports isotopiques et élémentaires de la MOP en Garonne estuarienne.....	9
3.2 Signatures isotopiques et élémentaires des sources de matière organique	13
3.3 Composition de la MOP : évolution spatio-temporelle et forçages.....	17
4. CONCLUSION	23
5. BIBLIOGRAPHIE	23

ANNEXE

1. INTRODUCTION

Les estuaires correspondent à la partie terminale des fleuves où l'influence de la mer dans laquelle ils se jettent est perceptible; Ce sont des zones de mélange entre eaux douces et eaux marines. Ils font partie du grand ensemble des écosystèmes côtiers qui ont, entre autre, la propriété de représenter des enjeux stratégiques aussi bien pour les économies (par les services qu'ils rendent) que pour l'environnement, car ils assurent de nombreuses fonctions biologiques et écologiques (zone de transition pour les poissons migrateurs, nurserie... (ECOBAG, 2006)). Cette dualité entre leur importance écologique et les pressions anthropiques auxquelles ils sont soumis fragilise ces écosystèmes, notamment dans les régions européennes.

La matière organique particulaire (MOP) qu'on retrouve dans ces milieux résulte en fait d'un pool de MOP de différentes origines. Il est important de quantifier et de caractériser l'origine de la matière organique afin de mieux contraindre les cycles biogéochimiques des éléments majeurs (carbone et azote) et leurs éventuelles modifications (Siegenthaler et Sarmiento, 1993; Veyssy *et al.*, 1999). De plus, la MOP constitue un relais entre les divers producteurs et consommateurs primaires, qui sont à la base des réseaux trophiques. Ainsi, sa quantité et sa qualité (origine, source, état de fraîcheur ou de dégradation) ont une influence non négligeable car elles déterminent la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Legendre et Rassoulzadegan, 1995, d'après Dubois, 2012). Historiquement, les estuaires étaient regardés comme un lieu de mélange entre MOP marine et MOP terrestre (*e.g.* Fontugne et Jouanneau, 1987). Toutefois, les estuaires sont également considérés comme des réservoirs de MOP. En effet, ce sont des producteurs de matière organique: on parle de la production primaire estuarienne (Etcheber *et al.*, 2007). De ce fait, la MOP que l'on retrouve dans les estuaires est un mélange de MOP pouvant provenir: soit de l'océan, soit du continent ou être produite au sein même de l'estuaire. Chaque MOP est en elle-même un mélange de différentes sources (végétaux supérieurs, micro-et macroalgues, plancton). La MOP des végétaux supérieurs est riche en cellulose et réfractaire, c'est-à-dire qu'elle est difficile à dégrader contrairement à la MOP algale qui est labile, facilement dégradable par l'action des bactéries dans le milieu (Veyssy *et al.*, 1999; Etcheber *et al.*, 2007). La distinction entre les matériels issus des différents réservoirs est généralement possible, entre autre, par le carbone et l'azote organique particulaire (composants majeurs de la MOP) de chacune des sources car ils ont une composition spécifique selon leur origine. Les outils permettant la description de la MOP sont les compositions isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) et élémentaires (C/N) du carbone et de l'azote (Dubois *et al.*, 2012). En effet, ces outils permettent généralement de distinguer les principales sources de MOP et éventuellement d'en quantifier la contribution relative à la MOP dans les systèmes côtiers (Dubois

et al., 2012) et notamment estuariens (De Brabandere *et al.*, 2002 ; Giño *et al.*, 2005). Enfin, parmi les sources alimentant le pool de MOP dans les systèmes fluviaux-estuariens, il est judicieux de tenir compte également de la MOP d'origine anthropique correspondant aux rejets urbains.

L'estuaire de la Gironde, plus grand estuaire ouest-européen, est formé par la confluence de deux fleuves, la Garonne et la Dordogne. Il se caractérise par une influence tidale très marquée (estuaire de type macrotidal) induisant un long temps de résidence des eaux (20-86 jours, Jouanneau et Latouche, 1981 d'après Abril et Etcheber, 1999) et des particules (1 à 2 ans; Jouanneau et Latouche, 1981 d'après Abril et Etcheber, 1999) ainsi que la formation d'un bouchon vaseux constitué de 4.10^6 à 5.10^6 tonnes de particules (Allen, 1972 d'après Savoye *et al.* (sous presse)). Cette forte turbidité est une caractéristique de cet estuaire dont les concentrations en MES sont généralement supérieures à 200mg/L (Savoye *et al.* (sous presse)).

Différentes études ont été menées sur l'ensemble du système fluvio-estuarien de la Gironde afin de déterminer l'origine, la composition et la réactivité de la MOP. Les travaux de Veyssy *et al.*, (1999) sont portés sur la composition de la MOP qui pénètre dans l'estuaire de la Gironde. L'influence de trois sources de matière organique a été mise en évidence: le sol, la litière et le phytoplancton continental. Toutefois, sur les 78000 tonnes de carbone organique particulaire (COP) exportés chaque année par la Garonne, seulement 8% proviennent du phytoplancton. Cela indique que le sol (54%) et la litière (38%) sont les principales sources de matière organique dans la MOP qui entre dans l'estuaire (Veyssy *et al.*, 1999).

Par ailleurs, l'origine de la MOP de l'estuaire géographique (entre le Bec d'Ambès et l'embouchure) et/ou de son bouchon vaseux a été étudiée par Fontugne et Jouanneau, (1987), Abril *et al.*, (1999; 2002), Middelburg et Herman, (2007), Etcheber *et al.*, (2007; 2011) et Savoye *et al.* (sous presse). De ces études il ressort qu'au sein de l'estuaire de la Gironde on distingue donc trois sources de matière organique : le bouchon vaseux, la MOP terrestre provenant de l'érosion du sol et de la litière et le phytoplancton. La source phytoplanctonique peut être soit marine, estuarienne ou continentale. Le bouchon vaseux, présentant des caractéristiques particulières notamment son pourcentage en COP (1,5% des matières en suspension), est composé de matériel terrestre réfractaire (Lin et Etcheber, 1994). C'est la source de MOP qui contribue le plus à la composition de la MOP dans l'estuaire, notamment à cause de son omniprésence dans le système (Savoye *et al.* (sous presse)). Les autres sources de matière organique sont secondaires et influencent de manière plus importante la MOP en Gironde lorsque des conditions favorables se présentent. En effet, la MOP terrestre est apportée majoritairement lors des périodes de crues. Ces mêmes crues sont à l'origine du déplacement du bouchon vaseux vers l'aval. En période d'étiage, le bouchon vaseux

remonte vers l'amont. La baisse de la turbidité permettant une pénétration plus importante de la lumière favorise le développement du phytoplancton dans l'estuaire aval.

L'estuaire de la Gironde est considéré comme peu anthropisé du point de vue de la matière organique (Abril *et al.*, 2002; Etcheber *et al.*, 2007). Abril *et al.*, (2002) ont démontré qu'il présente un rapport population/rejets de 5000 habitants/m³s⁻¹ comparativement à d'autres estuaires tel que l'Escaut ayant 54000 habitants/m³s⁻¹. Ce rapport reflète la pollution potentielle du système considéré en tenant compte de la dilution. Par ailleurs, ces travaux ont montré que les transports solides dans la Gironde sont typiques de taux d'érosion naturelle. De ce fait, la contribution d'une éventuelle source de matière organique anthropique à la MOP en Gironde a été systématiquement considérée comme négligeable.

Cette étude se propose de tenir compte de l'impact potentiel des rejets urbains de la ville de Bordeaux sur la composition de la MOP en Garonne estuarienne. Bien que les stations d'épuration procèdent, par divers traitements bio-physicochimiques, à la purification des eaux usées ; ces eaux rejetées dans le milieu naturel ayant subi des transformations peuvent impacter la matière organique en suspension. Ainsi, l'influence de la matière organique d'origine anthropique peut être ressentie localement, aux alentours des zones de rejets, ou beaucoup plus loin.

C'est dans le cadre du programme ETIAGE (**E**tude **I**ntégrée de l'effet des **A**pports amont et locaux sur le fonctionnement de la **G**aronne **E**stuarienne débuté en 2010) que s'inscrit ce stage. Le programme ETIAGE s'intéresse notamment à l'impact des rejets urbains de la ville de Bordeaux sur la biogéochimie de la Garonne estuarienne. La présente étude a pour objectif, la détermination des signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote des sources de matière organique susceptibles de contribuer à la composition de la MOP dans ce système. Les résultats obtenus permettront de compléter et d'affiner les connaissances déjà acquises. Et *in fine* d'améliorer la compréhension des processus internes dans le système fluvio-estuarien de la Gironde. Pour ce faire, une estimation de la contribution relative de chaque source possible de matière organique à la composition de la MOP en Garonne estuarienne sera réalisée. Enfin, nous tenterons de tracer l'évolution de cette composition vers l'aval.

2. MATERIELS & METHODES

2.1. Zone d'étude

Situé dans le Golfe de Gascogne, le système fluvio-estuarien de la Gironde est le plus vaste d'Europe (635 km) et formé par la confluence de deux fleuves : la Garonne et la Dordogne

(ECOBAG 2006). Le système fluvio-estuarien de la Gironde se divise en 2 sections distinctes : l'estuaire marin et l'estuaire fluvial. L'estuaire marin comprend deux parties. La partie avale, située entre l'embouchure de l'estuaire et Saint-Christoly (l'estuaire aval) et la partie amont qui s'étend de Saint-Christoly au bec d'Ambès (l'estuaire amont). Le Bec d'Ambès est la limite de l'intrusion haline. C'est pourquoi on désigne la première section comme étant l'estuaire marin. L'estuaire fluvial quant à lui correspond à la partie dessalée de l'estuaire où l'effet de la marée dynamique est encore perceptible ; les limites amont sont les villes de Casseuil (Garonne) et de Castillon-la-Bataille (Dordogne) (Pasquaud, 2006). Dans cet estuaire macrotidal, les mouvements de l'eau entraînent un piégeage des sédiments fluviaux en suspension. A cela s'ajoute le long temps de résidence des eaux et des matières en suspension (respectivement 20 à 86 jours et 1 à 2 ans (Jouanneau et Latouche, 1981)). La combinaison de ces facteurs conduit à la formation d'une zone de turbidité maximum appelée aussi bouchon vaseux. Cette zone est considérée comme un réacteur chimique à cause des transformations qui s'y produisent, notamment celles de la matière organique. On note aussi, la minéralisation de la charge organique des eaux via les processus hétérotrophiques largement dominants (Etcheber *et al.*, 2007). Les concentrations en matières en suspension (MES) dans l'estuaire dépassent fréquemment 200 mg/L (Savoye *et al.*, 2003 ; Middelburg et Herman, 2007) ; cette forte turbidité est caractéristique de la Gironde. D'un point de vue saisonnier, on distingue une période de crues (entre janvier et mars mais pouvant s'étaler dans l'année) caractérisée par de forts débits pouvant atteindre entre 1000 à 2000 m³.s⁻¹ et une période d'étiage avec des débits de l'ordre de 200 à 300 m³.s⁻¹ (Fontugne et Jouanneau, 1987). En Gironde, le gradient longitudinal de salinité est surtout déterminé par le débit fluvial.

La Garonne estuarienne, objet principal de notre étude, est une zone oligohaline (0<salinité<5, données MAGEST). La limite amont de l'action de marée dans la Garonne se situe à la Réole, soit à plus de 150 km de l'océan ouvert. La salinité bien que faible, augmente au cours du temps en fonction des débits ; Ainsi durant la période où les débits fluviaux sont importants, les eaux sont moins salées que durant la période d'étiage où par le balancement de la marée il y a une descente vers l'amont des eaux ayant une salinité relativement plus importante (exemple du pK86 en aval ayant une salinité moyenne de 20,6).

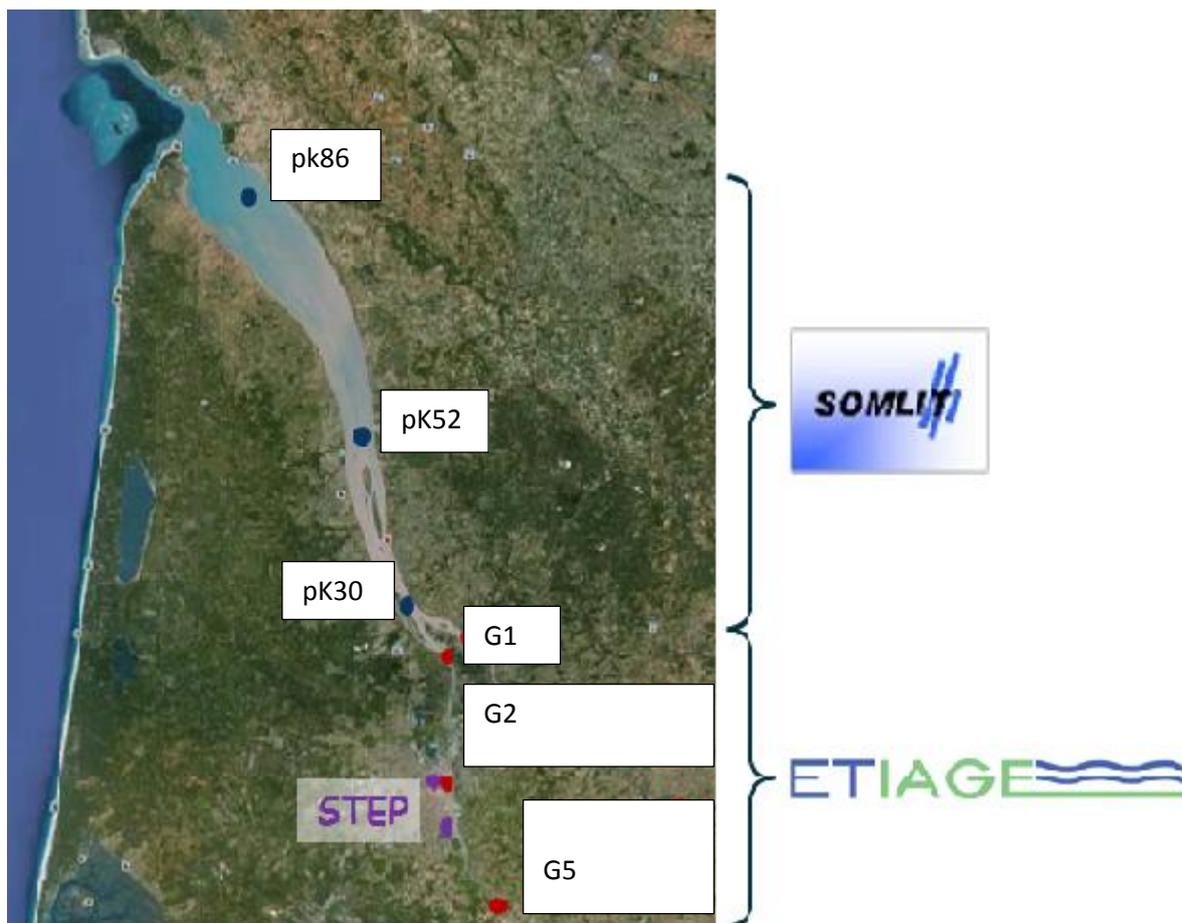


Figure 1 : Localisation des stations de prélèvements sur la carte de l'estuaire de la Gironde. G1, G2 et G5 sur la Garonne estuarienne ; Stations d'épuration (STEP) Louis Fargues et Clos de Hide sur la Garonne estuarienne et pk30, 52 et 86 dans l'estuaire géographique.

2.2. Stratégie d'échantillonnage

2.2.1. Prélèvements

Les sites d'échantillonnage sont la Garonne estuarienne, l'estuaire de la Gironde et les stations d'épuration (STEP). Ces sites sont subdivisés en stations.

2.2.1.1. La Garonne estuarienne

Les prélèvements ont été effectués sur trois sites à différents moments de marée. Il s'agit de : 1) G1 à pleine mer en surface, point le plus aval à Ambès (G1PMS), 2) G2, Bacalan, à tous les moments de marée en surface et en profondeur à l'exception du mi-flot et mi-jusant uniquement en surface (G2PMS, G2PMF, G2MFS, G2MJS, G2PMS, G2PMF) et 3) G5, point le plus en amont à

Langoiran, basse mer surface (G5BMS). Ils ont été faits dans le cadre du programme ETIAGE, mensuellement de Février 2011 à Février 2012 à l'exception des mois de Novembre à Janvier.

2.2.1.2. Les STEP de la Communauté Urbaine de Bordeaux (CUB)

Le choix d'échantillonnage des stations d'épuration s'est porté sur celle de Louis Fargues (LF) et Clos de Hilde (CH) car ce sont les deux plus importantes de la CUB. Toutefois, La station d'épuration de Louis Fargues se localise à proximité de la station de prélèvement (G2), à Bacalan, sur la Garonne estuarienne. Les réseaux de collecte des stations d'épuration peuvent être soit unitaire (la station reçoit en mélange les eaux usées et les eaux pluviales) ou séparatif (composé de deux collecteurs séparés, un pour les eaux usées et l'autre pour les eaux de pluies). En fonction du pourcentage de chaque réseau dans la station d'épuration, celle-ci sera plus ou moins sensible aux apports pluviaux. LF et CH collectent aussi bien les eaux usées que les eaux pluviales mais à des proportions différentes par le biais de réseaux de collecte unitaire ou séparatif. LF collecte 87% des eaux brutes par son réseau séparatif et seulement 13% par le réseau unitaire tandis que CH réceptionne 60% par son réseau unitaire et 40% par son réseau séparatif. Les traitements d'épuration des eaux sont physiques et biochimiques. Il s'agit entre autre de polymère, de biolites (billes d'argile), de chlorure ferrique et de bactéries.

Dans le cadre de cette étude, la collecte des eaux brutes, décantées (Louis Fargues) et traitées a été effectué trois fois par mois (trois jours successifs) de juin 2011 à Avril 2012 à l'exception du mois de juillet 2011.

2.2.1.3. L'estuaire de la Gironde

L'échantillonnage a été effectué mensuellement aux pks 30, 52 et 86 via le service d'observation en milieu littoral (SOMLIT, CNRS-INSU).

Les échantillonnages d'eau ont été effectués à l'aide d'une bouteille Niskin pour les stations de Garonne et de Gironde. Dans les stations d'épuration, les échantillons ont été obtenus au moyen de collecteurs qui effectuent des prélèvements automatiques d'eau en continu pour les besoins des analyses. L'eau collectée a été filtrée avec des filtres GF/F Watman (fibres de verre, 47mm) brûlés au préalable à 450°C pendant 4h pour éviter toute contamination par la présence de carbone organique.

2.2.2. Stockage des échantillons

Les matières en suspension récoltées sur les filtres ont été séchées à l'étuve (60°C). Après cela, les filtres ont été stockés à température ambiante dans des piluliers en verre au dessiccateur (Garonne et Gironde) ou en petri slides dans un bureau (échantillons de stations d'épuration) en attendant les analyses.

2.3. Analyses

Avant de procéder aux analyses, les filtres ont été décarbonatés sous atmosphère d'acide chlorhydrique (HCl) fumant pendant huit heures afin d'éliminer les carbonates (Lorrain et al., 2003).

Les rapports isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) élémentaires (C/N) de carbone et de l'azote ont été déterminés au moyen d'un spectromètre de masse à rapports isotopiques (Isoprime) couplé à un analyseur élémentaire (Carlo Erba NC2500). Ces trois paramètres ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N) sont mesurés sur le même filtre. Les rapports isotopiques sont reportés selon la notation δ . Exemple du $\delta^{13}\text{C}$:

$$\delta^{13}\text{C} = \left\{ \left[\frac{13\text{C}/12\text{C} \text{ échantillon}}{13\text{C}/12\text{C} \text{ référence}} \right] - 1 \right\} \times 1000 \text{ (‰)}$$

Pour le $\delta^{13}\text{C}$, la référence est VPDB ; pour le $\delta^{15}\text{N}$, la référence est l'air atmosphérique.

L'analyseur élémentaire et le spectromètre de masse à rapports isotopiques ont été calibrés et leurs éventuelles dérives corrigées à l'aide de matériel de référence commercial (acétanilide) et internes au laboratoire (caséine, glycine).

2.4. Données supplémentaires

Les paramètres isotopiques ont été mis en relation avec des données environnementales collectées par différents opérateurs. Il s'agit de:

- Température, salinité ou conductivité, concentrations en carbone et azote organiques particulières, ammonium, nitrates, nitrites, chlorophylle (Garonne estuarienne-François Dindinaud; Gironde-SOMLIT);
- Débits d'eau de la Garonne (Port autonome de Bordeaux);
- Débits de carbone organique particulière des stations d'épuration (Aurélié Lanoux, Lyonnaise des eaux-Suez environnement).

2.5. Traitements statistiques des données

Une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée afin de vérifier que les échantillons sont issus d'une même population. Les tests de Shapiro-Willk et de Bartlett ont été réalisés au préalable afin de vérifier la normalité des données et l'homogénéité des variances. En effet, ces tests représentent les conditions d'application d'une ANOVA paramétrique. Dans la mesure où ces deux conditions n'étaient pas respectées ($p > 0,05$), nous procédions à une ANOVA non paramétrique

Une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été réalisée sur le jeu de données afin de déterminer s'il existait une répartition spécifique des données. Le principe de cette analyse se base sur le calcul d'une matrice de dissimilarité entre les objets à analyser. On construit les matrices de distance sur les données transformées (centrées et réduites) à partir de la méthode de distance euclidienne. On obtient des regroupements successifs qui produisent un arbre binaire de classification : un dendrogramme appliquant la méthode d'agglomération du lien moyen. Le lien moyen consiste à calculer la moyenne des distances entre les objets. L'utilisation du test simprof a été nécessaire pour faire le choix des classes à considérer. C'est un test de permutation. Ainsi, les objets les plus similaires sont dans la même classe et inversement pour les objets présentant une dissimilarité plus élevée.

Une analyse en composantes principales (ACP) a permis les transformations des variables liées entre elles en nouvelles variables non corrélées les unes des autres, ce sont les composantes principales. C'est une approche à la fois géométrique et statistique. En effet, les variables sont représentées dans un nouvel espace géométrique et la recherche d'axes indépendants expliquant au mieux la variabilité des données se fait par le moyen des statistiques.

Une analyse de redondance (ARD) a également été faite. C'est une forme contrainte de l'analyse en composantes principales. Les axes des variables à expliquer doivent être au mieux corrélés avec les variables explicatives (données environnementales). Ce compromis est rendu possible par le biais d'une régression linéaire. C'est donc une méthode permettant de mettre en évidence la combinaison de variables environnementales qui explique le mieux la variabilité rencontrée au sein de la matrice de données de départ.

Toutes les analyses statistiques des données a été réalisée avec le logiciel R au moyen de différents packages: ade4 pour ANOVA et ARD; vegan pour CAH; clustsig pour test simprof.

2.6. Modèle de mélange: IsoSource

Les modèles de mélange sont utilisés pour quantifier la contribution de chacune des sources considérées à un mélange ayant une signature isotopique et élémentaire connue. L'avantage de l'outil IsoSource est qu'il est capable de déterminer des solutions possibles au sein d'un système

déterminé (cas de cette étude) ayant donc un nombre de sources égal au nombre d'équations. Ceci est rendu possible par le fait que ce logiciel prenne en compte l'incertitude associée aux signatures isotopiques et élémentaires des sources.

Le concept de base repose sur les équations suivantes :

$$\delta^{13}C_{\text{mélange}} = x_1 \delta^{13}C_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{13}C_{\text{source n}}$$

$$\delta^{15}N_{\text{mélange}} = x_1 \delta^{15}N_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{15}N_{\text{source n}}$$

$$C/N_{\text{mélange}} = x_1 C/N_{\text{source 1}} + \dots + x_n C/N_{\text{source n}}$$

$$x_1 + \dots + x_n = 1$$

Le logiciel détermine toutes les combinaisons possibles de proportions de sources dont la somme est 100% ; Il calcule ces combinaisons, à partir des signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote de chacune des sources prédéfinies par l'utilisateur. Au terme de l'analyse, on obtient des solutions dont les signatures isotopiques et élémentaires calculées pour le mélange sont égales à celles mesurées plus ou moins l'incertitude acceptée. Il est important de noter que ces solutions doivent être considérées comme un ensemble de solutions possibles (Phillips & Gregg, 2003; Phillips *et al.*, 2005).

3. RESULTATS & DISCUSSION:

3.1. Variation des rapports isotopiques et élémentaires en carbone et azote de la matière organique en Garonne estuarienne:

Les rapports isotopiques et élémentaires en carbone et azote dans la Garonne estuarienne ne sont pas constants. On observe une variation des $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ et C/N sur l'ensemble de notre jeu de données. En effet, le $\delta^{13}C$ varie entre -27,6‰ et -24,4‰ et la médiane des valeurs est de -25,4‰. Le $\delta^{15}N$ varie entre 1,1‰ et 6,5‰ avec une médiane autour de 4,4‰. Et enfin, le C/N varie entre 7 mol/mol et 11 mol/mol avec une médiane de 8,8 mol/mol.

La mise en relation entre eux des descripteurs de la MOP peut apporter des informations sur l'influence d'éventuelles sources de matière organique à la MOP en suspension dans le système étudié (Figure 2). Il apparaît ainsi que les $\delta^{15}N$ les plus faibles ($\leq 2\%$) sont associés aux C/N les plus faibles (7-8 mol/mol) et à des $\delta^{13}C$ de l'ordre de -25,5‰. Les C/N les plus élevés (>10 mol/mol) sont associés à des $\delta^{13}C$ faibles ($\sim -26\%$) et des $\delta^{15}N$ assez forts ($\sim 5\%$). Enfin, une grande part des

observations présente un $\delta^{13}\text{C}$ d'environ -25,5‰ associé à des C/N de 8-9 mol/mol. Ces tendances semblent indiquer des influences de sources de MOP différentes.

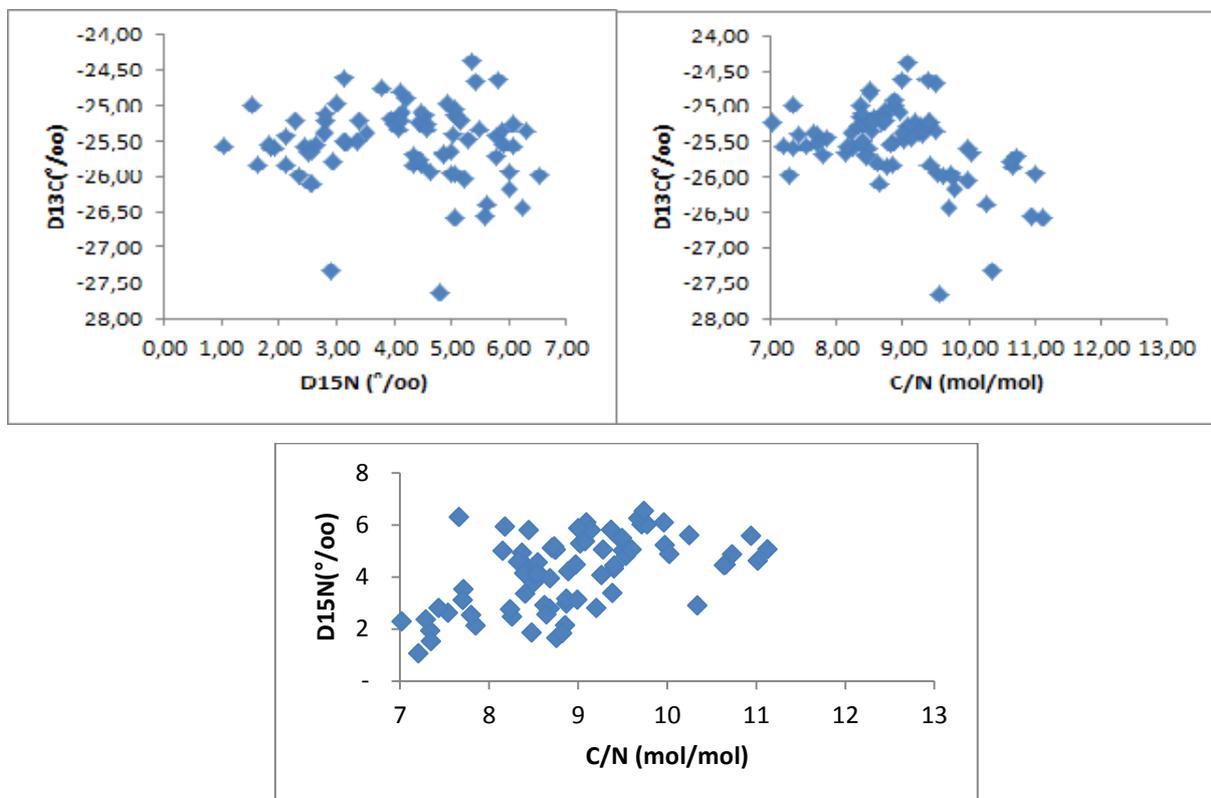


Figure 2 : Mise en relation des $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N de la MOP en Garonne estuarienne: $\delta^{13}\text{C}$ (‰) en fonction de $\delta^{15}\text{N}$ (‰), $\delta^{13}\text{C}$ (‰) en fonction de C/N(‰) et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) en fonction de C/N (mol/mol)

Afin de rendre compte de cette variation des données et de mieux la comprendre, nous avons choisi d'effectuer une classification ascendante hiérarchique (CAH). (Figure 3). Celle-ci a permis de mettre en évidence quatre groupes d'observations sur la base de leurs signatures élémentaires et isotopiques (Figure 4).

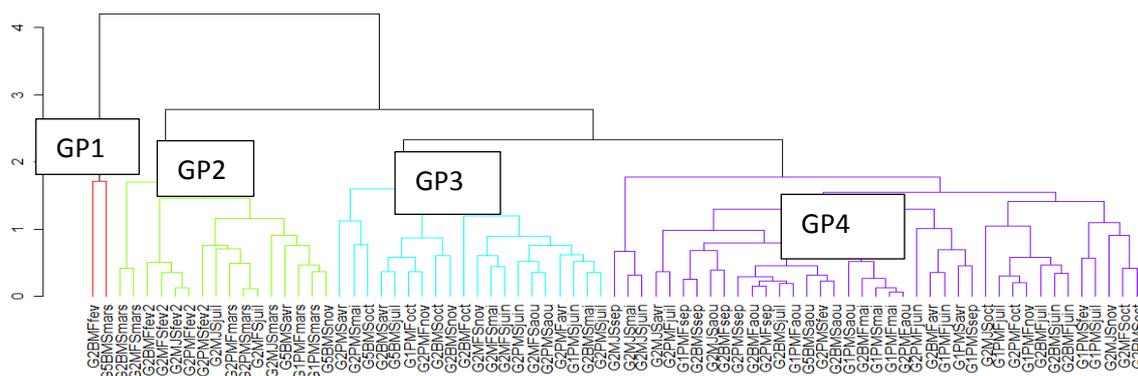


Figure 3 : Dendrogramme issu de la CAH réalisée à partir des signatures isotopiques et élémentaires de la MOP en Garonne estuarienne, suivi d'un test simprof déterminant les groupes.

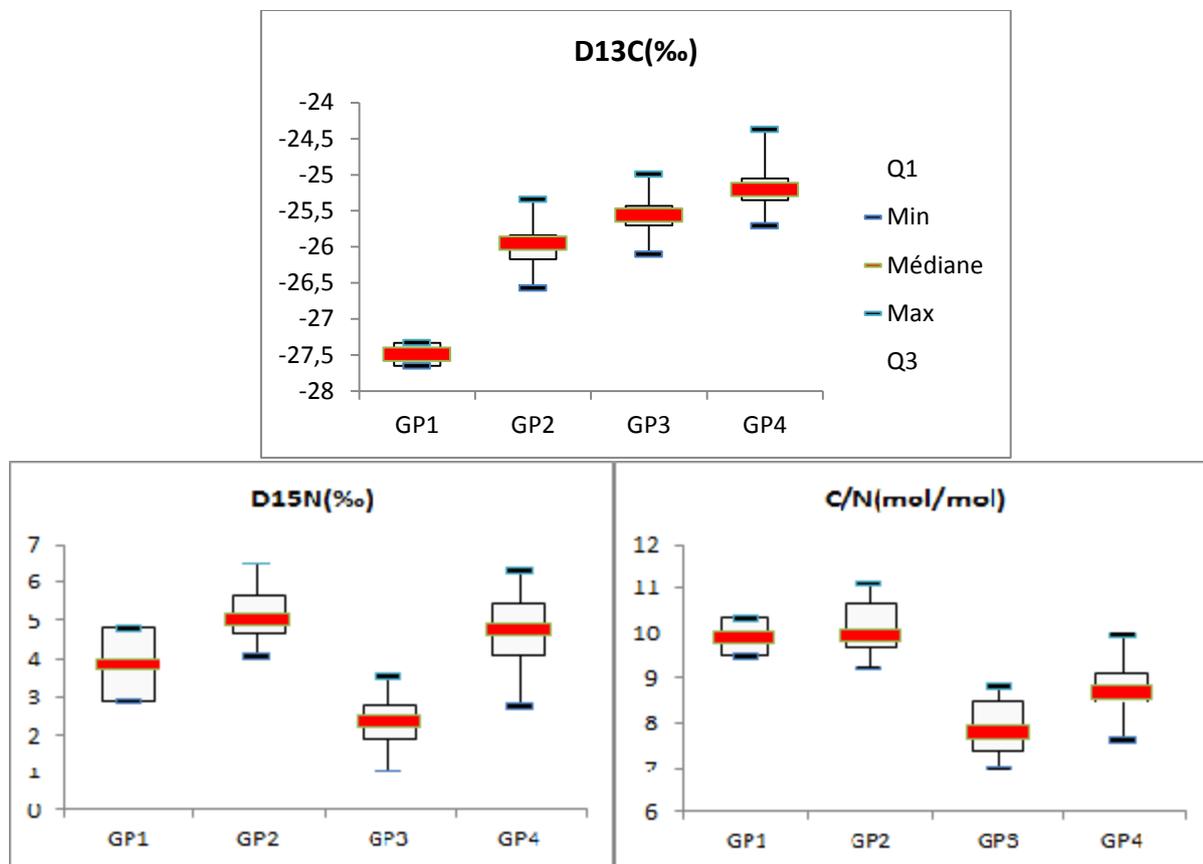


Figure 4 : Boîtes à moustache des 4 groupes identifiés par la CAH faites à partir des statistiques de base sur les observations de chaque. Q1 et Q2 sont les premier et troisième quartiles ; médianes, minimums (min) et maximums (max). Pour GP1 (2 données) il n'y a pas de quartiles.

GP1 rassemble les deux observations de $\delta^{13}\text{C}$ les plus faibles ($\sim -27,5\text{‰}$). Le GP2 (17 données) est caractérisé par des $\delta^{13}\text{C}$ moyens ($-26,6\text{‰} < \delta^{13}\text{C} < -25,3\text{‰}$), de forts $\delta^{15}\text{N}$ ($4,1 < \delta^{15}\text{N} < 6,5$) et des C/N élevés ($> 9,3$). Ce groupe est construit principalement par des mois de Février et Mars. Le GP3 (20 données) est caractérisé par des $\delta^{13}\text{C}$ assez élevés ($> -26,1\text{‰}$), les plus faibles $\delta^{15}\text{N}$ ($1,1\text{‰} < \delta^{15}\text{N} < 3,5\text{‰}$) et des C/N faibles (7-9mol/mol). La répartition temporelle de ce groupe s'étend s'Avril à Novembre, Septembre exclu. Le GP4 (38 données) associe des observations ayant les $\delta^{13}\text{C}$ les plus forts ($-25,7\text{‰} < \delta^{13}\text{C} < -24,8\text{‰}$), les $\delta^{15}\text{N}$ relativement élevés ($2,8\text{‰} - 6,3\text{‰}$) et des C/N moyens (7,7-10mol/mol). On rencontre dans ce groupe les observations de Septembre à Novembre en plus d'une observation d'Aout.

Des analyses de variances ont été réalisées sur les données environnementales associées à chaque groupe enfin de déterminer si ces groupes sont associés à des conditions environnementales particulières. Les paramètres choisis sont : température, conductivité, débits, concentrations en MES, COP, NOP, Chlorophylle a (Chla), le rapport COP/Chla et les pourcentages en COP et NOP dans les MES. Ces paramètres sont indicateurs de la saison, l'influence marine, l'hydrodynamique, l'hydrodynamique sédimentaire et/ou la qualité et la quantité de matière organique particulaire et de la biomasse.

Il n'existe pas de différences significatives ($p > 0,05$) entre les quatre groupes concernant la conductivité, les concentrations en COP, NOP et Chla et les pourcentages en COP et NOP dans les MES, au contraire de la température, des débits, des concentrations en MES et du rapport COP/Chla (Figure 5; $p < 0,01$).

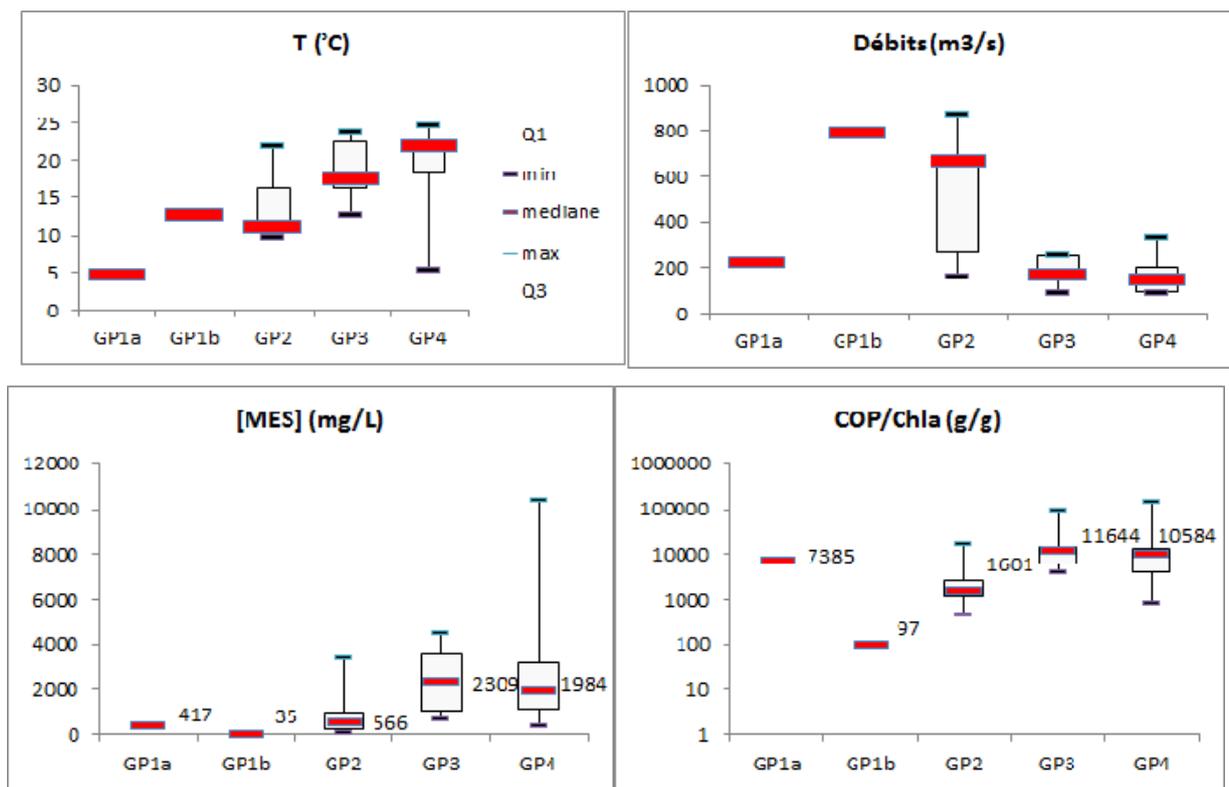


Figure 5 : Boites à moustache des paramètres environnementaux présentant des différences significatives ($p < 0,01$) pour les 4 groupes d'observations obtenus par la CAH. Températures (°C), débits (m^3/s), concentrations en matières en suspension (mg/L), rapport COP/Chla (g/g). Q1 et Q2 sont les premier et troisième quartiles ; médianes, minimums (min) et maximums (max).

GP1b et GP2 sont associés à de forts débits et de faibles concentrations en MES indiquant l'absence ou la faible présence du bouchon vaseux lors de ces périodes de crues. Le faible rapport COP/Chla pour certaines observations de ces groupes indique une forte influence du matériel phytoplanctonique, au contraire du groupe 1a caractérisé par une forte influence du bouchon. Les groupes GP3 et GP4 présentent des valeurs assez proches en débits ($<200\text{m}^3/\text{s}$), [MES]($>1900\text{mg/L}$) et COP/Chla ($>10000\text{g/g}$). Tous ces paramètres indiquent l'influence importante du bouchon vaseux. Seules les températures semblent assez bien différencier ces deux groupes.

Au vue de ces résultats, les paramètres environnementaux sont susceptibles d'influencer la composition de la MOP dans le système et inéluctablement les rapports isotopiques et élémentaires en carbone et en azote.

3.2. Signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote des sources de matière organique particulaire

La MOP dans l'estuaire de la Gironde est un mélange de matériels provenant de plusieurs réservoirs. Etcheber *et al.*, (2007) et Savoye *et al.*, (sous presse) ont montré que la MOP dans l'estuaire de la Gironde est originaire du milieu marin (phytoplancton), du continent (sol, litière, phytoplancton d'eau douce) ou de l'estuaire (phytoplancton estuarien se développant dans la partie avale, où la turbidité est faible, condition favorable pour la production primaire). L'estimation de la MOP qui entre dans l'estuaire de la Gironde a été réalisée par Veyssy *et al.*, (1999). Ils ont démontré que trois sources de matière organique influençaient le MOP en suspension : principalement le sol (54%) et la litière (38%). La troisième source correspond à la production autochtone, la biomasse phytoplanctonique d'eau douce. Notre étude se situe dans la Garonne estuarienne, en aval des travaux de Veyssy *et al.*, (1999) et en amont des travaux d'Etcheber *et al.*, (2007) et de Savoye *et al.*, (sous presse). En Garonne estuarienne, la présence de phytoplancton marin ou du phytoplancton estuarien est peu probable. En effet, la salinité dans ce système est très faible voire nulle. A Bordeaux par exemple, on rencontre les valeurs de salinité les plus élevées en période d'étiage, lorsque les débits sont faibles (1-2, Etcheber *et al.*, 2011). Par ailleurs, ce phytoplancton devrait traverser au moins en partie un bouchon vaseux constitué de 4 à 5 millions de tonnes de particules (Allen, 1972 d'après Savoye *et al.*, (sous presse)) avant de pénétrer en Garonne estuarienne. Or, les particules du bouchon vaseux ont un long temps de résidence dans l'estuaire de la Gironde (entre une et deux années; Jouanneau et Latouche, 1981), temps de résidence suffisamment long pour que le phytoplancton y pénétrant soit dégradé (Etcheber *et al.*, 2007). Ainsi, nous ne considérons pas

dans notre étude le phytoplancton marin ni le phytoplancton estuarien comme des sources possibles de matière organique dans la Garonne estuarienne, au contraire du phytoplancton d'origine continentale. Le bouchon vaseux, est une caractéristique des estuaires macrotidaux européens. En Gironde, on le localise généralement au pK65 et en amont. Il se déplace tout au long de l'année en fonction des débits et des mouvements de marée. Durant la période d'étiage (les débits faibles $<200\text{m}^3/\text{s}$), il se situe à proximité de Bordeaux. L'augmentation des débits fluviaux est à l'origine de sa migration vers l'aval. Il peut néanmoins être expulsé vers l'océan exceptionnellement (une fois par an ou moins, (Doxaran *et al.*, 2009)). De plus, on constate que plus les débits diminuent, plus le bouchon vaseux s'allonge passant de 25km, lorsque le maximum de turbidité se trouve près du pk65, à 70km de long, quand il est à Bordeaux (Sottolichio et Castaing, 1999). La MOP issu du bouchon vaseux a été étudiée et décrite comme composée de carbone organique particulaire très réfractaire avec un rapport COP/MES toujours autour de 1,5%. A l'origine de cela se trouve le long temps de résidence des particules dans cette zone qui favorise la dégradation de la fraction organique de ce matériel (Veyssy *et al.*, 1999; Abril *et al.*, 1999, 2002; Etcheber *et al.*, 2007; Middelburg et Herman, 2007). L'omniprésence du bouchon vaseux dans l'estuaire dynamique justifie le choix porté sur lui en tant de source de MOP dans la Garonne estuarienne, source possédant des caractéristiques isotopiques et élémentaires très précises (Savoie *et al.*, (sous presse)). Le matériel terrestre issu de l'érosion des sols et de l'apport de litière lors des crues est également une source possible de MOP que nous considérons dans notre étude. Enfin, une dernière source que nous prenons en compte est la MOP d'origine anthropique apportée par la ville de Bordeaux à travers les rejets des stations d'épuration.

Les signatures des rejets anthropiques ont été déterminés à partir d'échantillons prélevés en sortie de stations d'épuration (il s'agit là d'une mesure directe). Celles du bouchon vaseux sont également mesurées directement. Au contraire, les signatures des deux autres sources considérées (MOP terrestre issues des sols et de la litière, et phytoplancton continental) ont été estimées indirectement à partir d'un jeu de données indépendant du notre (SOMLIT-Gironde; années 2007-2011) selon une approche similaire à celle de Savoie *et al.* (sous presse).

3.2.1. Bouchon vaseux

Pour déterminer la signature du bouchon vaseux, nous avons considéré les observations dont les concentrations en MES étaient supérieures à 500mg/L. Sont obtenues les valeurs suivantes (moyenne \pm écartype) respectivement pour COP/MES, NOP/MES, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N: 1,5 % \pm 0,3; 0,20‰ \pm 0,06; -25,2 \pm 0,2‰ ; 5,6 \pm 0,5‰ et 8,7 \pm 0,6‰. Ces valeurs sont en accord avec celles

rencontrées dans la littérature (Fontugne et Jouanneau, 1987 ; Veyssy *et al.*, 1999, Savoye *et al.* (sous presse)).

3.2.2. Phytoplancton et MOP terrestre

En Gironde, l'ensemble des particules de l'estuaire sont impactées par la MOP issue du bouchon vaseux. Afin de déterminer les signatures du matériel autre qu'issu du bouchon vaseux, il est nécessaire de corriger les données de cette influence. Pour établir la signature du phytoplancton et de la MOP terrestre, nous avons considéré les données ayant: COP/MES $\geq 1,77\%$ et NOP/MES $\geq 0,22\%$. Ces valeurs correspondent aux valeurs les plus élevées susceptibles d'être rencontrées dans le bouchon vaseux considéré comme 'pur'. A partir de ces deux paramètres nous avons pu déterminer les échantillons dans lesquels il y a un matériel autre que le bouchon vaseux. Afin de quantifier ce matériel, nous avons calculé ses concentrations en carbone et azote organiques particulières à partir des concentrations en COP et NOP mesurées et celles du bouchon vaseux.

$$[\text{COP}]_{\text{bv}} = \% \text{COP}_{\text{bv}} * [\text{MES}] \text{ avec } \% \text{COP} = 0,0147$$

$$[\text{NOP}]_{\text{bv}} = \% \text{NOP}_{\text{bv}} * [\text{MES}] \text{ avec } \% \text{NOP} = 0,0020$$

Où bv : bouchon vaseux.

$$\text{Ainsi, } [\text{COP}]_{\text{autre}} = [\text{COP}]_{\text{mesuré}} - [\text{COP}]_{\text{bv}} \text{ et } [\text{NOP}]_{\text{autre}} = [\text{NOP}]_{\text{mesuré}} - [\text{NOP}]_{\text{bv}}$$

Dans les cas où nous obtenions des concentrations de COP_{autre} et de NOP_{autre}, représentatives en terme de proportions comparativement à celles du bouchon vaseux, les rapports isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ ont été recalculées afin d'éliminer l'influence du bouchon vaseux de la manière suivante.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{autre}} = \{[\text{COP}]_{\text{mesuré}} * (\delta^{13}\text{C})_{\text{mesuré}} - [\text{COP}]_{\text{bv}} * \delta^{13}\text{C}_{\text{bv}}\} / [\text{COP}]_{\text{autre}}$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{autre}} = \{[\text{NOP}]_{\text{mesuré}} * (\delta^{15}\text{N})_{\text{mesuré}} - [\text{NOP}]_{\text{bv}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{bv}}\} / [\text{NOP}]_{\text{autre}}$$

3.2.2.1. Phytoplancton

Les signatures isotopiques du phytoplancton continental ont été estimées à partir de la donnée pour laquelle la salinité était nulle et le rapport $[\text{COP}]_{\text{autre}} / \text{Chla} \leq 150\text{g/g}$. En effet, ces valeurs de COP/Chla indiquent que dans la MOP considérée il y a une dominance du phytoplancton (Savoye *et al.* (2003)). La signature du phytoplancton d'eau douce est donc à $-34,5\text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et $6,5\text{‰}$ pour le $\delta^{15}\text{N}$. Ces valeurs sont cohérentes et semblent bien correspondre à du phytoplancton d'eau douce en accord avec les valeurs estimées par Giño (d'après Savoye *et al.* (sous presse)) même s'il s'agit d'un autre système. En ce qui concerne le C/N, le rapport de

Redfield de 6,6mol/mol a été considéré à cause d'une grande variabilité de ce rapport ne s'expliquant pas par des paramètres environnementaux.

3.2.2.2. MOP terrestre

Les signatures de la MOP terrestre ont été déterminées à partir des données associées à des débits supérieurs à 800m³/s, car ce matériel est apporté du continent par les crues, et des rapports [COP]_{autre}/Chla > 200g/g afin de minimiser l'influence du phytoplancton continental. On obtient, en considérant la moyenne et l'écartype, un $\delta^{13}\text{C}$ de $-28,4 \pm 0,4 \text{ ‰}$ et un $\delta^{15}\text{N}$ de $4,4 \pm 2\text{ ‰}$. Pour la détermination du rapport massique (C/N), une autre approche a été utilisée. En effet, de la même raison que nous avons recalculé les rapports isotopiques, à savoir éliminer l'influence du bouchon vaseux, nous avons décidé de recalculer les C/N des données correspondant à la MOP terrestre.

$$\text{C/N}_{\text{MOP terrestre}} = (12 * [\text{COP}]_{\text{autre}}) / (14 * [\text{NOP}]_{\text{autre}}).$$

Les valeurs obtenues se trouvaient être extrêmement hétérogènes et pour certaines aberrantes. Nous avons donc choisi d'extrapoler la valeur du C/N de la MOP terrestre à partir de la corrélation existant entre le $\delta^{13}\text{C}$ et le N/C (Figure 6). Cette relation génère l'équation suivante: $\text{C/N} = 1 / [0,0138 * \delta^{13}\text{C} + 0,4618]$.

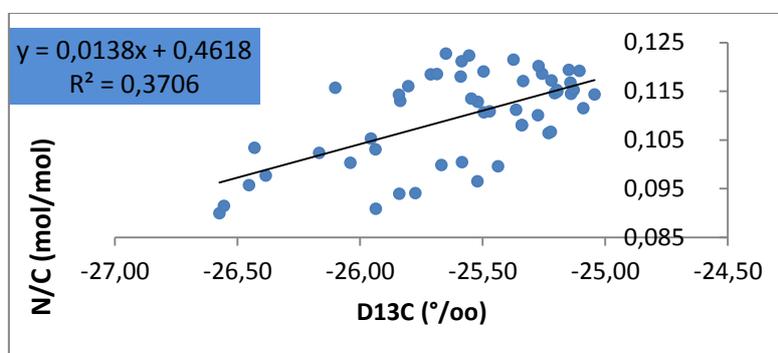


Figure 6 : $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP de Garonne estuarienne en fonction du N/C.

De là, pour un $\delta^{13}\text{C}$ de $-28,4\text{ ‰}$ (valeur obtenue précédemment), on obtient un C/N de 14,2mol/mol. Cette valeur est tout à fait plausible pour de la MOP terrestre. Ce C/N est donc considéré comme représentatif de celui correspondant au matériel provenant de l'érosion du sol et de la litière.

3.2.3. MOP anthropique

S'agissant des rapports isotopiques et élémentaires de la MOP anthropique, nous avons opté pour la détermination d'une signature unique en dépit du fait que nous ayons effectué les prélèvements au sein de deux stations d'épuration : Louis Fargues (LF) et Clos de Hilde (CH). Pour ce faire, nous avons procédé à la pondération des rapports isotopiques et élémentaires par les débits de COP pour le $\delta^{13}\text{C}$ et de NOP pour $\delta^{15}\text{N}$ et C/N de chaque station, afin d'obtenir une seule valeur de ces paramètres pour chacune des dates de prélèvement selon:

$$\delta^{13}\text{C} = x \delta^{13}\text{C}_{\text{LF}} + y \delta^{13}\text{C}_{\text{CH}}$$

$$x = \text{QCOP}_{\text{LF}} / \text{QCOP}_{\text{total}}$$

$$y = \text{QCOP}_{\text{CH}} / \text{QCOP}_{\text{total}}$$

$$\text{Avec } \text{QCOP}_{\text{total}} = \text{QCOP}_{\text{LF}} + \text{QCOP}_{\text{CH}}$$

Les calculs sont similaires pour le $\delta^{15}\text{N}$ et le C/N. Les débits (Q) correspondent à une quantité de COP par unité de temps (g/s).

Les données présentant des différences temporelles significatives (ANOVA ; $p < 0,05$), la variabilité temporelle de ces signatures doit être prise en compte pour estimer la composition de la MOP de la Garonne et sa variabilité temporelle. Par ailleurs, il existe un décalage entre les périodes d'échantillonnage des stations d'épuration (juin 2011-juin 2012) et de Garonne (février 2011-février 2012). Nous avons fait le choix d'extrapoler les signatures des stations d'épuration des mois manquants par les signatures des mêmes mois pour l'année suivante.

Un modèle statistique de cycle annuel a été réalisé pour estimer le $\delta^{13}\text{C}$ et le C/N (Figure 7).

$$\delta^{13}\text{C} = -3,99580588 \cdot 10^{-7} \text{date}^3 + 4,89052029 \cdot 10^{-2} \text{date}^2 - 1,99518149 \cdot 10^3 \text{date} + 2,71322621 \cdot 10^7$$

$$\text{C/N} = -3,42855387 \cdot 10^{-7} \text{date}^3 + 4,19560127 \cdot 10^{-2} \text{date}^2 - 1,71141038 \cdot 10^3 \text{date} + 2,32697083 \cdot 10^7$$

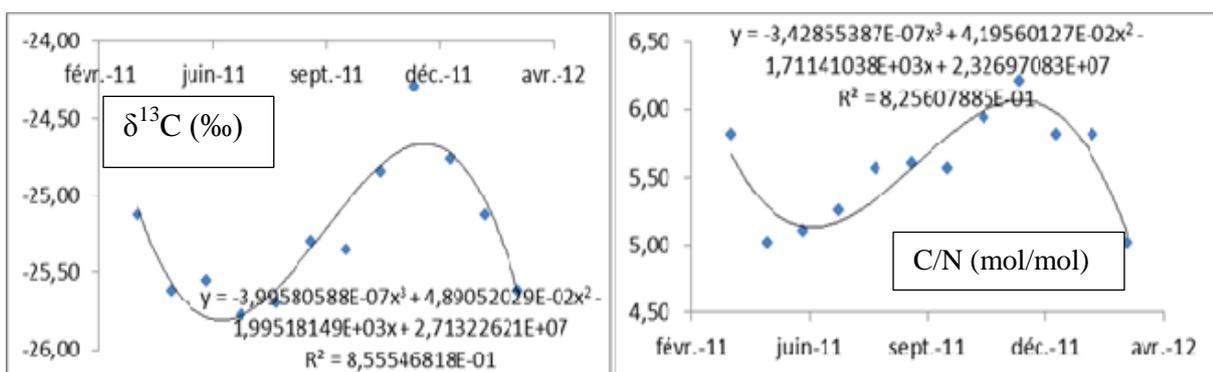


Figure 7 : Evolution temporelle des $\delta^{13}\text{C}$ et C/N de la MOP anthropique.

Concernant les $\delta^{15}\text{N}$, le jeu de données n'a pas permis une telle approche. Afin de l'estimer, nous avons considéré les valeurs mesurées dans les stations d'épuration à la même période que les

échantillons de Garonne. Ces valeurs ont été extrapolées d'une année sur l'autre quand nécessaire. Les signatures mensuelles des rejets de stations d'épuration sont consignées en annexe.

La comparaison des signatures isotopiques et élémentaires des sources de MOP montre que la combinaison de ces paramètres permet de bien discriminer les différentes sources (Figure 8). La comparaison des signatures des sources et celles de la MOP permet d'indiquer qualitativement la contribution relative de chacune de ces sources à la MOP de Garonne estuarienne.

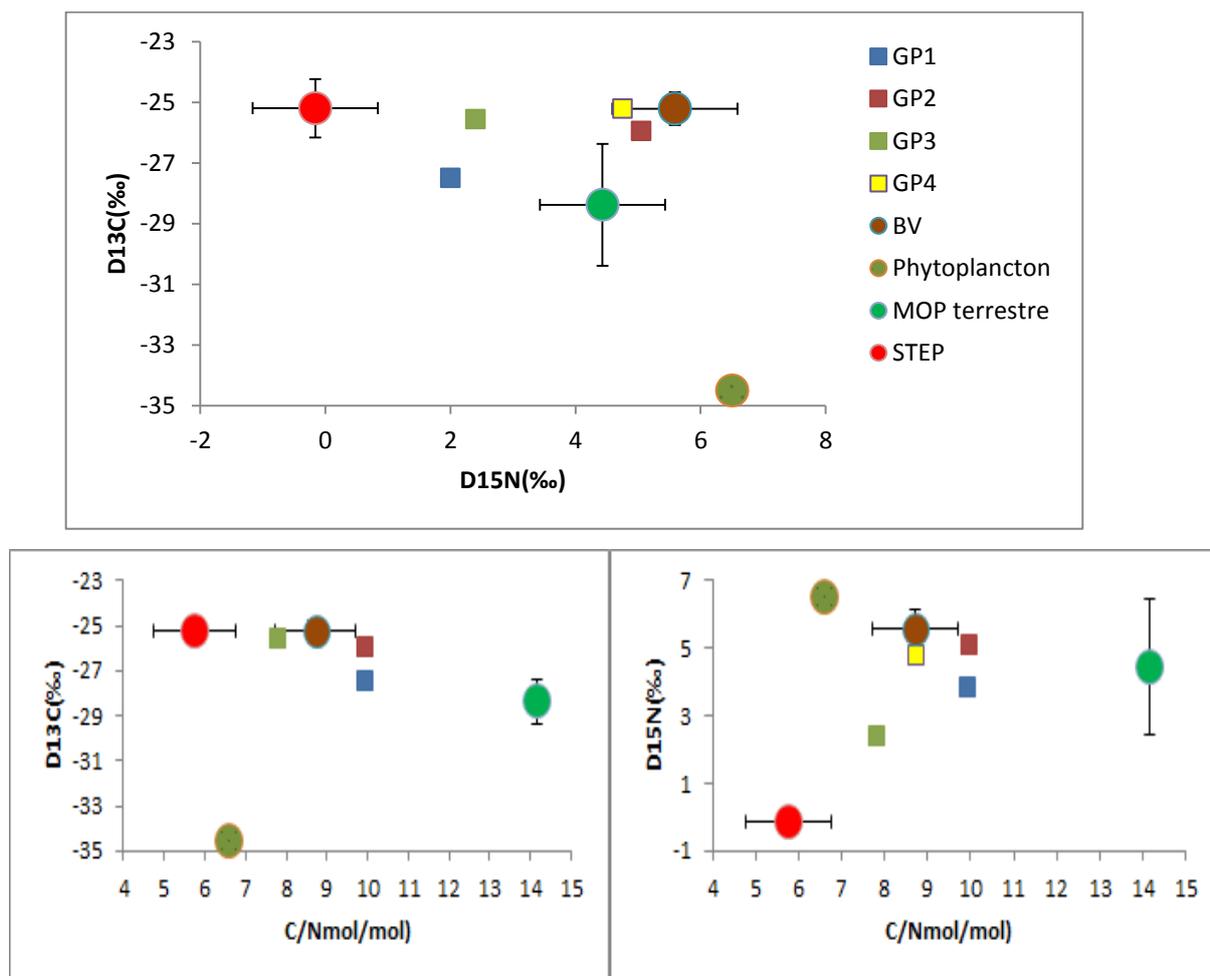


Figure 8 : Représentation des signatures isotopiques et élémentaires des 4 groupes d'observations (GP1, GP2, GP3 et GP4) et des sources de matière organique (bouchon vaseux (BV), MOP terrestre, phytoplancton et MOP anthropique (STEP)).

L'observation de ces graphiques met en évidence la proximité entre les groupes GP2 et GP4 et la source bouchon vaseux; en particulier sur le graphique représentant le $\delta^{13}\text{C}$ en fonction du $\delta^{15}\text{N}$, où on constate que le groupe GP4 est confondu au point représentant le bouchon vaseux. Ce ci indique que cette source est probablement le principal contributeur à la MOP dans les groupes précités. Au contraire, les signatures des groupes GP1 et GP3 sont plus intermédiaires, ce qui sous-

entend une composition plus diversifiée de la MOP au sein de ces groupes. Enfin, la distance à laquelle se trouvent les signatures de la source phytoplanctonique de celles des 4 groupes laisse penser à une faible contribution de ce matériel à la composition de la MOP dans le système.

3.3. Composition de la matière organique particulaire en Garonne estuarienne: évolution spatio-temporelle et forçages

Afin de quantifier la contribution relative de chaque sources de MOP possibles considérées dans le système fluvio-estuarien de la Garonne, nous utilisons un logiciel de mélange (IsoSource) permettant d'obtenir un ensemble de solutions possibles correspondant à des combinaisons de proportions de sources dont la somme est 100%. Pour des soucis de présentation, seules les médianes des solutions possibles sont présentées et discutées ci-dessous.

A l'échelle spatio-temporelle de l'étude, il apparait que la MOP de la Garonne estuarienne est composée de 69% de MOP issue du bouchon vaseux (matériel terrestre réfractaire), 20% de MOP anthropique, 10% de MOP terrestre plus labile, et seulement 1% de phytoplancton. Toutefois, comme vu d'après les données isotopiques et élémentaires, une variation spatio-temporelle existe.

Une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été réalisée à partir de données de composition de la MOP obtenues par le logiciel IsoSource. Le dendrogramme issu de cette analyse est consigné en annexe. Treize classes d'observations ont été mises en évidence. On leur attribue les codes suivants : C1,C2,C3,C4,C5,C6,C7,C8,C9,C10,C11,C12 et C13. Afin de simplifier la représentation graphique, le regroupement de certaines classes a été effectué à partir des nœuds du dendrogramme. Il s'agit des classes allant de C5 à C10. On obtient en définitive huit classes d'observations (Figure 9).

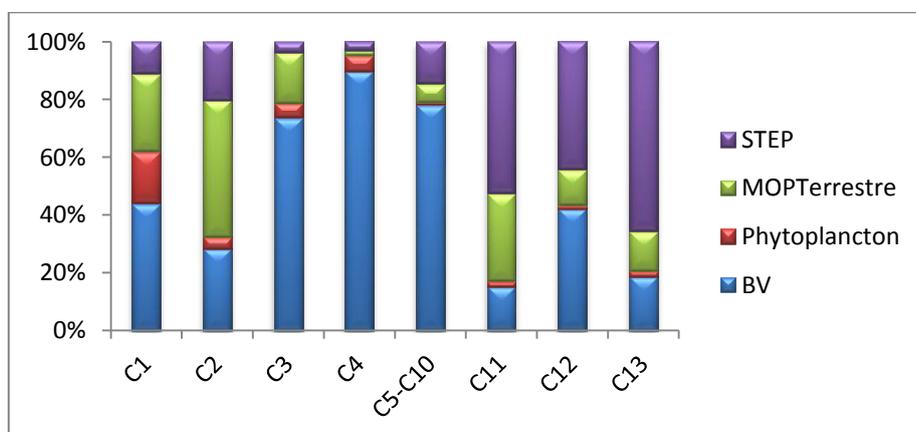


Figure 9 : Représentation de huit classes d'observations mise en évidence par la CAH réalisée à partir des données de composition de la MOP en Garonne suivi d'un simprof.

Les classes qu'on observe peuvent être rassemblées en fonction de la source de matière organique qui influence le plus la composition de la MOP des observations qui les constituent. Les classes C3, C4 et C5-C10 sont construites par les observations au sein desquelles le matériel issu du bouchon vaseux est prédominant, il contribue dans ces classes à plus de 70%. Cet ensemble d'observations correspond à plus de la moitié de notre jeu de données. Il contient 2/3 des échantillons prélevés durant les périodes de plus forte remise en suspension des sédiments par la marée (mi- flot et mi- jusant). On retrouve dans ces classes, les observations de juin à novembre. Il est important que remarquer que le matériel issu du bouchon vaseux est toujours présent dans le milieu, en toutes circonstances. Les classes C1 et C2 sont celles où la MOP terrestre est la plus influente. Y sont regroupées uniquement les observations de basse mer surface pour les mois de février et mars, durant lesquelles les débits étaient importants. L'augmentation des débits a probablement permis l'apport de MOP continentale, le déplacement du bouchon vaseux vers l'aval et le développement du phytoplancton d'eau douce ou son apport depuis l'amont, notamment pour C1 (1 donnée). Dans les classes C11 à C13, on remarque la prédominance de la MOP anthropique, toujours supérieure à 50%. On rencontre les observations de pleine mer et basse mer mais on constate majoritairement des prélèvements de surface (15 sur 19 données). Les classes C11 à C13 sont principalement issues des observations à la station G2, proche de la Station d'épuration de Louis Fargues.

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur l'ensemble du jeu de données pour explorer les liaisons entre les différentes sources de matière organique de la MOP. En plus de cela, les paramètres environnementaux (température, débits, concentrations en MES, Chla, %COP, COP/Chla) ont été introduits comme variables supplémentaires sur cette ACP (Figure 10).

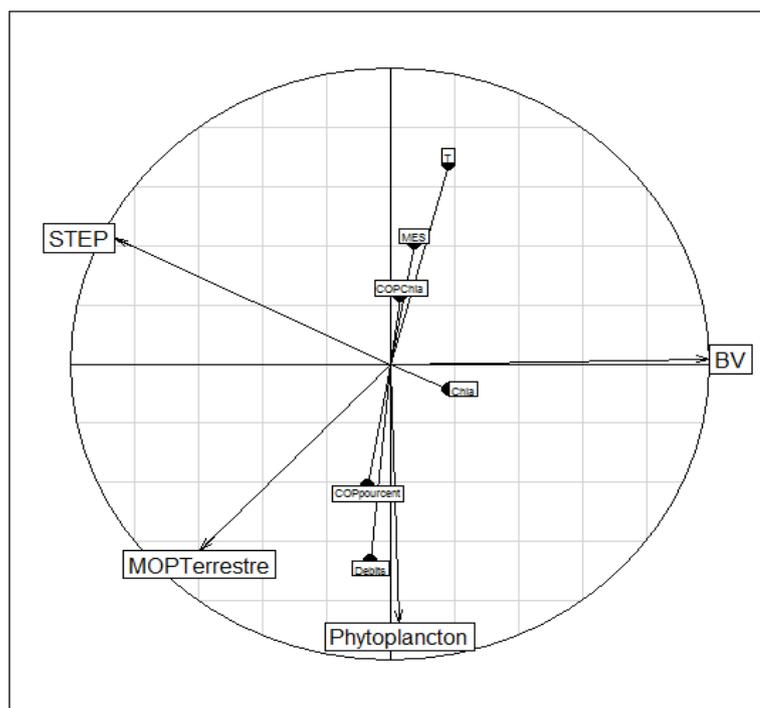


Figure 10 : ACP réalisée à partir des données de composition de la MOP en Garonne estuarienne avec les paramètres environnementaux (débits, températures, [MES],[Chla], %COP, COP/Chla) placés en variables supplémentaires. Les axes 1 et 2 expliquent 82% de la variance.

On constate que la contribution relative des sources à la matière organique de la Garonne estuarienne sont à la fois bien représentées (proches du cercle des corrélations) et bien discriminées les unes des autres. Par ailleurs, il est important de noter que bien qu'un lien mathématique existe entre ces sources (la somme des contributions est égale à 100%), les contributions relatives du bouchon vaseux et du phytoplancton sont indépendantes, de mêmes que les contributions relatives de la MOP anthropique et de la MOP terrestre. Les projections des contributions relatives sur l'axe 1 indiquent que celle du matériel issu du bouchon vaseux est balancée par celles de la MOP anthropique et de la MOP terrestre labile : quand la contribution de matériel issu du bouchon vaseux est importante, les contributions de MOP terrestre et anthropique sont faibles, et inversement. Au contraire, les projections des contributions relatives sur l'axe 2 indiquent que celle du phytoplancton et de la MOP anthropique évoluent de façon similaire.

La projection des paramètres environnementaux (température, débits, concentrations en MES, Chla, %COP, COP/Chla) sur l'ACP des contributions relatives des sources de MOP (Figure 10) indique que ceux-ci n'expliquent que peu les contributions relatives. Toutefois, la température de l'eau et les débits se projettent bien sur l'axe 2, mettant ainsi en avant l'influence de la saisonnalité, des apports en eau douce et/ou du décalage du bouchon vaseux vers l'aval sur la contribution relative du phytoplancton continental et de la MOP terrestre. Il est également

intéressant de noter que ni les concentrations en MES, ni les débits, n'expliquent la variabilité du matériel issu du bouchon vaseux. Cette contribution ne dépend donc pas uniquement de la présence du bouchon vaseux, mais également de l'absence des autres sources, le matériel issu du bouchon vaseux étant toujours présent dans le système, mais en concentrations variables.

Afin d'observer s'il existe une répartition spécifique des observations en fonction de la contribution relative des matériels issus de chaque source de matière organique, nous avons projeté les caractéristiques de chaque observations (moment de marée et profondeur de prélèvement) sur l'ACP construite à partir de la composition de la MOP. Les observations ayant les mêmes caractéristiques construisent, dans l'espace géométrique de l'ACP, une ellipse de dispersion. Les résultats de ces analyses sont dans l'annexe. On constate, à l'échelle de notre jeu de données, que ces critères ne sont pas à l'origine d'une répartition spécifique des observations.

Après avoir déterminé les sources de matière organique qui contribuent à la composition de la MOP en Garonne estuarienne, nous avons cherché à connaître l'évolution cette composition vers l'aval. Pour ce faire, nous avons utilisé le modèle de mélange IsoSource pour déterminer les contributions relatives des quatre sources de matière organique que nous avons identifiées en Garonne estuarienne à la composition de la MOP dans la partie amont de l'estuaire marin. Ce sont les signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote de la MOP à la station SOMLIT pk30 qui ont été considérées. L'analyse a été faite pour l'année 2011. Les résultats montrent que le matériel issu du bouchon vaseux représente 80% de la composition de la MOP. La MOP phytoplanctonique d'eau douce ne contribue qu'à hauteur de 3% à la composition de la MOP. Les contributions relatives de MOP anthropique et terrestre sont respectivement de 6% et 12%. On constate, d'une part l'influence du matériel provenant du bouchon vaseux est très largement majoritaire et que la contribution de la MOP anthropique est faible. Ce matériel qui compose 20% de la MOP en Garonne estuarienne, compose 6% de la MOP en Gironde amont. Cette diminution peut être due soit à une dilution dans un ensemble plus large de MOP, soit une perte de ce matériel par sédimentation ou reminéralisation. Il apparaît donc intéressant d'approfondir les recherches sur ce sujet en travaillant sur un jeu de données pluriannuel, ce qui paraît réalisable au vu du suivi effectué depuis plusieurs années au sein de l'estuaire par le service d'observation SOMLIT. Ces études permettront non seulement de confirmer ou non la contribution de la MOP anthropique à la MOP de l'estuaire mais surtout de déterminer jusqu'où cette influence des rejets urbains est perceptible.

4. CONCLUSION

En définitive, la matière organique particulaire en Garonne estuarienne est un mélange de matériels originaires de quatre sources : le matériel issu du bouchon vaseux (réfractaire), la MOP anthropique provenant des rejets urbains de la ville de Bordeaux, la MOP phytoplanctonique d'eau douce et la MOP terrestre, labile, issue de l'érosion des sols et de la litière. Ces différentes sources de matière organique présentent des signatures isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) et élémentaires (C/N) en carbone et azote permettant de les distinguer les unes des autres. Les signatures isotopiques et élémentaires de la MOP en Garonne estuarienne varient donc en fonction de la contribution relative de chaque source de matière organique en présence. Ces variations semblent être étroitement liées aux variations saisonnières. En effet, l'augmentation des débits fluviaux durant les périodes de crue est à l'origine d'apports de MOP terrestre plus importants, du déplacement du bouchon vaseux vers l'aval et de la diminution de la turbidité ce qui elle-même favorise le développement du phytoplancton d'eau douce. La combinaison de ces facteurs fait varier les proportions des sources de matière organique dans le milieu et inéluctablement dans la composition de la MOP. Toutefois, c'est le matériel issu du bouchon vaseux qui semble contribuer le plus à la composition de la MOP en Garonne estuarienne. Par ailleurs, la MOP anthropique qui, jusqu'à présent, n'avait jamais été prise en compte en tant que source de matière organique à la MOP dans le système fluvio-estuarien de la Gironde, se révèle être un matériel non négligeable dans la composition de la MOP en Garonne estuarienne. Cet matériel semble faiblement exporté vers l'estuaire de la Gironde. Reste maintenant à caractériser ce matériel en déterminant son état de fraîcheur ou de dégradation, sa réactivité et ainsi son devenir dans l'estuaire au vu des potentielles modifications qu'il peut subir dans cette masse d'eau.

5. BIBLIOGRAPHIE

- Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralisation in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnology and Oceanography* **44**, 1304-1315.
- Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabçadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., 2002. Behaviour of Organic carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **54**, 241-262.
- Allen, G.P., 1972. Etude des processus sédimentaires dans l'estuaire de la Gironde. Thèse d'état Sciences, Université Bordeaux 1, 314p.

- De Brabandere, L., Dehairs, F., Van Damme, S., Brion, N., Meire, P., Daro, N., 2002. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ dynamics of suspended organic matter in freshwater and brackish waters of the Scheldt estuary. *Journal of Sea Research* **48**, 1-15.
- Doxaran, D., Froidefond, J.M., Castaing, P., Babin, M., 2009. Dynamics of turbidity maximum zone in a macrotidal estuary (the Gironde, France): Observations from field and MODIS satellite data. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **81**, 321-332.
- Dubois, S., 2012. Composition et transfert trophique de la matière organique particulaire dans le Bassin d'Arcachon. Thèse, Université Bordeaux 1. 2p.
- Dubois, S., Savoye, N., Grémare, A., Plus, M., Charlier, K., Beltoise, A., Blanchet, H., 2012. Origin and composition of sediment organic matter in a coastal semi-enclosed ecosystem : An elemental and isotopic study at the ecosystem space scale. *Journal of Marine Systems* **94**, 64-73.
- ECOBAG, 2006. L'estuaire de la Gironde: un écosystème relativement préservé par sa taille mais en situation de fragilité.
- Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Maneux, E., Chabaux, G., Escalier, J.-M., Wennekes, H., Derriennic, H., Schmeltz, M., Quéméner, L., Repecaud, M., Woerther, P., Castaing, P., 2011. Monitoring water quality in estuarine environments: lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system. *Hydrology and Earth System Sciences* **15**, 831-840.
- Etcheber, H., Taillez, A., Abril, G., Garnier, J., Servais, P., Moatar, F., Commarieu, M.V., 2007. Particulate organic carbon in the estuarine turbidity maxima of the Gironde, Loire and Seine estuaries: origin and lability. *Hydrobiologia* **588**, 245-259.
- Fontugne, M.R and Jouanneau, J.M., 1987. Modulation of the Particulate Organic Carbon Flux to the Ocean by a Macrotidal Estuary: Evidence from Measurements of carbon Isotopes in Organic Matter from the Gironde System. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **24**, 377-387.
- Giño, M.A., Catheya, M.W., Kim, Y.H., Voulgaris, G., 2005. Fluxes and sources of suspended organic matter in an estuarine turbidity maximum region during low discharge conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **63**, 638-700.
- Jouanneau, J-M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. In: Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D., Seibold, E., (Eds.), 1981. Contribution to Sedimentology, **Vol. 10**. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp. 1-115.
- Legendre, L., Rassoulzadegan, F., 1995. Plankton and nutrient dynamics in marine waters. *Ophelia* **41**, 153-172
- Lin, R.G. and Etcheber, H., 1994. The degradability of particulate organic matter in the Gironde estuary, France. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, **Vol. 12**, No.2.

- Lorrain, A., Savoye, N., Chauvaud, L., Paulet, Y.-M., Naulet, N., 2003. Decarbonation and preservation method for the analysis of organic C and N contents and stable isotope ratios of low-carbonated suspended particulate material. *Analytica Chimica Acta* **491**, 125-133.
- Middelburg, J.J and Herman, P.M.J., 2007. Organic matter processing in tidal estuaries. *Marine Chemistry* **106**, 127-147.
- Pasquaud, S., 2006. Les relations trophiques: elements de structuration des peuplements ichtyologique en milieu estuarien. Application à l'estuaire de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, 27p.
- Phillips, D.L., Gregg, J.W, 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Ecosystems Ecology* **136**, 261-269.
- Phillips, D.L., Newsome, S.D., Gregg, J.W, 2005. Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods. *Stable Isotope Issue* **144**, 520-527.
- Savoye, N., Aminot, A., Tréguer, P., Fontugne, M., Naulet, N., Kerouel, R., 2003. Dynamics of particulate organic matter $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ during spring phytoplankton blooms in a macrotidal ecosystem (Bay of Seine, France). *Marine ecology Progress Series* **255**, 27-41.
- Savoye, N., David, V., Morisseau, F., Etcheber, H., Abril, G., Billy, I., Charlier, K., Oggian, G., Derriennic, H., Sautour, B., (sous presse). Origin and composition of particulate organic matter in a macrotidal turbid estuary : The Gironde Estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 1-13.
- Siegenthaler, U. et Sarmiento, J.L., 1993. Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature*, **365**, 119-125.
- Sottolichio, A. and Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *Earth & Planetary Science* **329**, 795-800.
- Veyssy, E., Etcheber, H., Lin, R.G., Buat-Menard, B., Maneux, E., 1999. Seasonal variation and origin of Particulate Organic carbon in the lower Garonne River at La Réole (southwestern France). *Hydrobiologia* **391**, 113-126.

ANNEXE1 :

	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$	Incertitude	$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	Incertitude	C/N (mol/mol)	Incertitude
Avril-2011	-25,09	0,53	0,85	0,81	5,84	0,83
Mai-2011	-25,78	0,53	-0,47	1,20	5,22	0,47
Juin-2011	-25,84	0,29	-0,84	0,50	5,18	0,08
Juillet-2011	-25,72	0,22	0,19	1,45	5,31	0,21
Août-2011	-25,54	0,24	1,21	1,37	5,48	0,21
Septembre-2011	-25,32	0,37	1	0	5,68	0,11
Octobre-2011	-25,12	0,18	0,56	1,26	5,86	0,26
Novembre-2011	-24,94	0,41	-1,99	0,10	6,01	0,44
Decembre-2011	-24,83	0,02	-0,69	1,21	6,08	0,14
Janvier-2011	-24,82	0,53	-1,14	0,09	6,06	0,16
Fevrier-2012	-24,94	0,17	-0,05	0,11	5,90	0,08
Mars-2012	-25,52	0,71	-0,57	0	6,46	0,64

Tableau 1 : Signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote mensuelles des stations d'épuration.

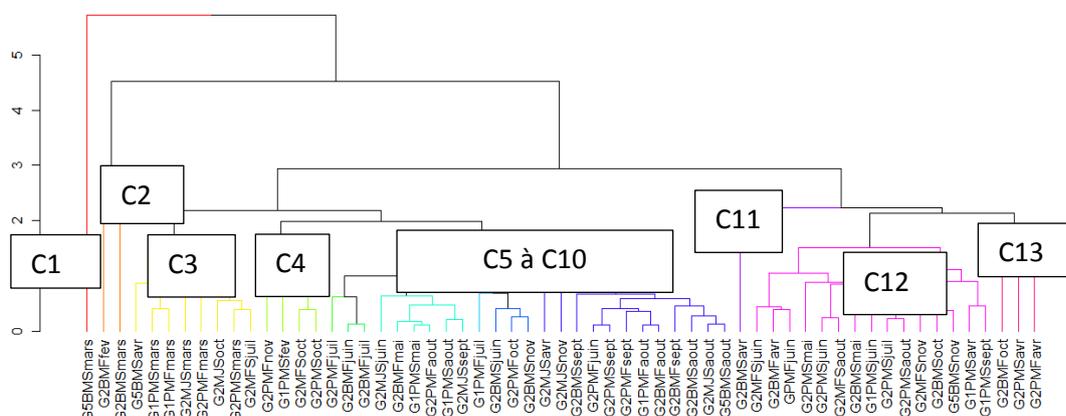


Figure 11 : CAH réalisée à partir des données de composition de la MOP en Garonne estuarienne suivie d'un simprof. 13 classes ont été mises en évidence (C1 à C13). Les classes C5 à C10 ont été regroupées à partir des nœuds du dendrogramme afin de simplifier la représentation graphique.

ANNEXE2 :

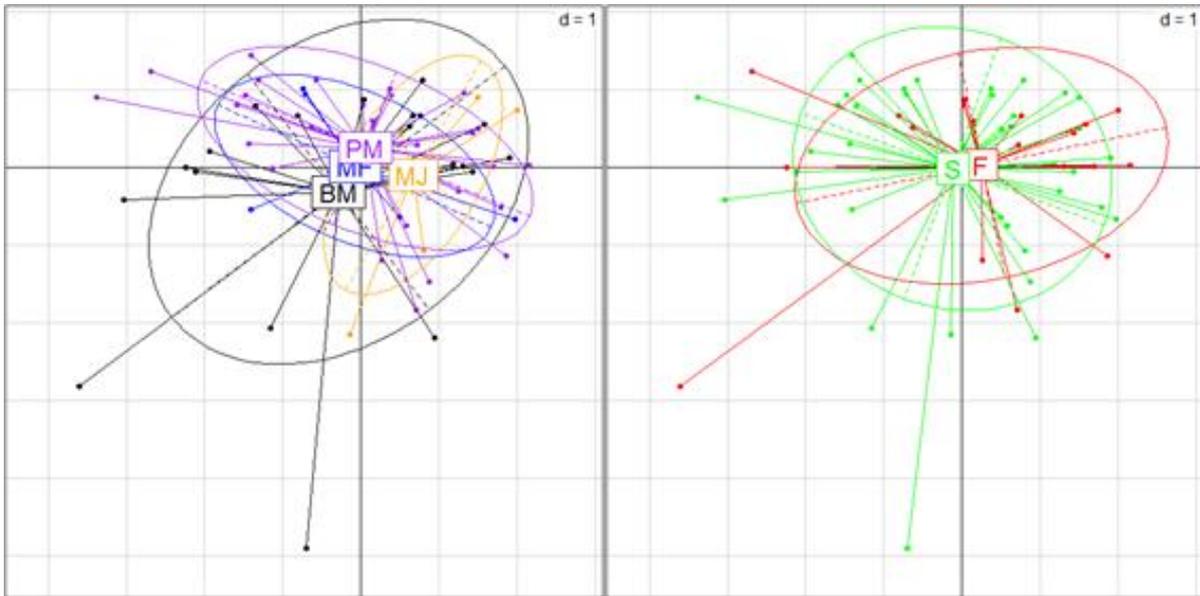


Figure 12 : Projections de observations en fonction des moments de marée (basse mer, pleine mer, mi- flôt, mi- jusant) et des profondeurs (surface, fond) de prélèvement sur l'espace géographique de l'ACP construite à partir de la composition de la MOP des observations.

Résumé :

Dans les écosystèmes côtiers, le pool de matière organique particulaire (MOP) résulte d'un mélange de matières de différentes origines naturelles (végétaux supérieurs, algues, plancton), elles-mêmes issues de plusieurs réservoirs (marin vs continental, terrestre vs aquatique) et de labilité différentes (MOP 'fraîche' vs MOP dégradée), mais également de matières d'origine anthropique (rejets urbains en particulier). La quantification et la caractérisation de l'origine de la matière organique sont susceptibles de fournir des informations essentielles quant au niveau de perturbation de la qualité des écosystèmes, que ce soit au niveau biogéochimique (modification du cycle des éléments biogènes tels que le carbone) ou au niveau trophique (modification de la matière organique particulaire et de sa disponibilité pour les consommateurs primaires).

L'estuaire de la Gironde a fait l'objet de très nombreuses études biologiques et biogéochimiques depuis de nombreuses décennies, dans le cadre de programmes de recherche, de surveillance et d'observation. L'origine de la matière organique particulaire a été estimée en amont de l'estuaire (Veyssy *et al.*, 1999 ; Etcheber *et al.*, 2007) et dans l'estuaire (Fontugne et Jouanneau, 1987 ; Savoye *et al.*, (sous presse)). Toutefois, parmi les sources possibles, les rejets urbains ont systématiquement été négligés. Le programme ETIAGE (Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne ; démarrage en 2010) s'intéresse notamment à l'impact des rejets de la ville de Bordeaux sur la biogéochimie de la Garonne estuarienne.

Dans ce contexte, le stage a pour objectif de déterminer les signatures isotopiques et élémentaires des rejets de la ville de Bordeaux, de les comparer à celles des autres sources de matière organique particulières (phytoplancton, bouchon vaseux, litière, etc.) afin 1) d'estimer la part relative de chacune des sources dans la composition de la matière organique particulaire (MOP) et sédimentaire (MOS) de la Garonne estuarienne et 2) de tracer sa dilution vers l'aval dans la MOP et la MOS de l'estuaire de la Gironde. L'étude sera réalisée à partir des prélèvements effectués dans le cadre du programme ETIAGE (responsable : H. Etcheber), et en particulier dans le cadre des thèses de François Dindinaud et d'Aurélié Lanoux, ainsi que dans le cadre du Service d'Observation en Milieu Littoral (SOMLIT ; www.domino.u-bordeaux1.fr/somlit_national/ ; responsable : B. Sautour).

Annexe 11

Variation spatio-temporelle de la méiofaune en estuaire fluvial.

Rapport M2, FDEA, Université Bordeaux 1.

Realis E. (2012).

Université de Bordeaux 1

UFR des Sciences Biologiques

Master Sciences et Techniques

Mention Sciences de la Terre et Environnement, Ecologie

Spécialité Ecologie, FDEA « Fonctionnement et Dysfonctionnement des Ecosystèmes Aquatiques »

Année universitaire 2011-2012

Les assemblages méiofauniques en estuaire fluvial (Garonne et Dordogne)



Rapport de stage : Emilie Réalis

Maitres de stage : Sautour Benoit (PR), Dindinaud François (doctorant).

Laboratoire d'accueil : UMR 5805 EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques), Université de Bordeaux1, Station Marine d'Arcachon

Sommaire

I.	Introduction	1
	Matériels et méthodes.....	3
	2.1.1 L'estuaire de la Gironde.....	3
	2.1.2 L'estuaire fluvial	3
	2.2 Stratégies d'échantillonnage.....	Erreur ! Signet non défini.
	2.2 Stratégies d'échantillonnage.....	4
II.	Méthode d'analyse de la méiofaune	5
	3-1 Préparation des échantillons pour analyses	5
	3-2 Dénombrement et identification.....	5
	3-3 Traitement des données.....	6
	3.3.1 Sources de variabilité au sein de l'estuaire fluvial	6
	3.3.2 Variabilité en zone intertidale : Estuaire fluvial Garonne et Dordogne	6
III.	Résultats	7
	4.1 Sources de variabilité au sein de l'estuaire fluvial.	7
	4.1 .1 Environnement	7
	4.1.2. Méiofaune.....	8
	4.2 Variabilité en zone intertidale le long de la Garonne et de la Dordogne.....	9
	4.2.1 Variabilité inter-fleuves.....	9
	4.2.1.2. Méiofaune.....	10
	4.3. Zone intertidale, variabilité intra-fleuves	11
	4.3.1 Dordogne	11
	4.3.2 Garonne	13
	4.5 Variabilité de la zone subtidale durant l'année 2011.....	16
	4.5.1. Variations environnementales	16
	4.5.2. Méiofaune	17
IV.	Discussion	19
V.	Conclusion	22
VI.	Bibliographies	23
	Annexes	27

La station marine d'Arcachon

La station marine d'Arcachon a été créée en 1867 par la société scientifique d'Arcachon. Depuis 1948, elle fait partie de l'Université Bordeaux 1 et accueille à l'heure actuelle une composante d'une unité mixte de recherche, UMR 5805 EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques), dirigée par Antoine Grémare.

-L'équipe METHYS: «Modélisation Expérimentation Télédétection en Hydrodynamisme Sédimentaire».

-L'équipe PALEO: «La dynamique passée du climat à l'échelle du Quaternaire et du Néogène et à toutes les latitudes par l'analyse des archives naturelles marines et terrestres ».

-L'équipe SEDIMENTOLOGIE : «L'enregistrement des processus de dépôts et de construction des corps et des systèmes sédimentaires dans les environnements marins et de transition ».

-L'équipe ECOBIOEC : «Structuration du vivant ainsi qu'à son rôle dans le fonctionnement de ces écosystèmes côtiers ».

-L'équipe Ecotoxicologie Aquatique -EA : «La compréhension de l'impact de son activité, et des produits qu'il rejette, sur le fonctionnement de son environnement ».

-L'équipe TGM , Transferts Géochimiques des Métaux à l'interface continent océan :
« compréhension des cycles des ETM (Eléments Traces Métalliques) dans les environnements aquatiques de la surface terrestre ».

Ce stage de master 2 a été effectué au sein de l'équipe ECOBIOEC sous la direction de Mr. Sautour et Mr. Dindinaud.



Photo de la **station marine d'Arcachon** (01°9'48"O ; 44°39'47"N) epoc.u-bordeaux.fr

Remerciements

Au terme de ce travail de master 2 Sciences de la Terre et Environnement, Ecologie Spécialité Ecologie, FDEA «Fonctionnement et Dysfonctionnement des Ecosystèmes Aquatiques» durant l'année universitaire 2011_2012, effectué au sein de la Station Marine d'Arcachon.

Je commencerais par remercier Frédéric Garabetian, pour son accueil au sein de la station marine et donc sans qui rien n'aurait été possible.

Je voudrais exprimer mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à mes deux maîtres de stage M. Benoit SAUTOUR et M. François DINDINAUD, pour toute leur confiance qu'ils m'ont accordé, pour leurs conseils et suggestions bienveillantes et pour leurs grande disponibilité. Leurs critiques toujours positive de mes écrits a facilité amplement la rédaction de ce manuscrit.

Je remercie très vivement M. Michel PARRA, technicien de l'unité de recherche dans laquelle j'ai effectué ce stage, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa bonne humeur.

Ma reconnaissance s'adresse aussi à Mme Aurélie CHAALALI, doctorante, pour ses conseils statistiques et sa bonne humeur et sa patience.

Je remercie également M. Frédérique Azemar, pour son aide à l'identification des rotifères, cladocères et tardigrades.

Pour leur apport technique et surtout moral, je voudrais remercier ceux qui ont partagé avec moi, plusieurs heures dans le laboratoire: Aurélie DESSIER et Mathieu TOUCOULET ainsi qu'à mes collègues du bureau des Master 2 pour leurs bonnes humeurs.

Je souhaiterais enfin remercier la patience de mes enfants et surtout de mon mari qui m'ont toujours soutenue.

Glossaire

Cycle tidal : Cycle des marées dû à l'attraction de la lune.

Intertidale (zone intertidale) : Qui concerne la zone de balancement des marées, typiquement un estran. Qui vit dans la zone de balancement des marées, c'est à dire entre les niveaux des plus basses et des plus hautes mers de vives eaux.

Subtidale (zone subtidale) : Environnement peu profond, marin ou de l'estran, qui se trouve sous le niveau moyen des basses eaux des marées de vives-eaux.

Macrotidal : Qualifie un milieu subissant des amplitudes de marée importantes (plus de 4 à 5 mètres).

Permafrost : Terme de géologie qui désigne un sol dont la température se maintient en permanence inférieure ou égale à 0°C, pendant une période de deux ans.

Pélites : Désigne une grande variété de roches sédimentaires formées d'éléments fins. Certains auteurs, le réservent aux sédiments meubles (poudres ou argiles, limons ou silts) constitués par ces éléments.

Ectotherme : Cela qualifie les animaux dont le sang à une température variable, liée à celle de leur milieu.

Abréviation de la variable	Nom de la variable
particule 63µm	particules dont la taille est <à 63µm de diamètre
X 63 90	particules dont la taille est comprise entre 63 et 90µm de diamètre
X90 200	particules dont la taille est comprise entre 90 et 200 µm de diamètre
X200 900	particules dont la taille est comprise 200 et 900µm de diamètre.

Abréviation de la variable	Nom de la variable
D3M5	
D	Dordogne s
3	Station numéro 3
M	mois
5	mai
nem	Nématode
cop	Copépode
nau	Nauplii de copépode
fora	Foraminifère
roti	Rotifère
tar	Tardigrade
aca	Acanthaire
gas	Gastéropode
poly	Polychète
ins	insecte

I. Introduction

Depuis quelques années l'impact du réchauffement climatique sur l'environnement est de plus en plus marqué (Goberville *et al.*, 2010; Arias *et al.*, 2011). Cette composante du changement global est devenue un problème majeur d'intérêt public. Elle induit un problème de santé publique comme le souligne la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'agriculture et l'alimentation). Parmi les impacts majeurs, une modification sur la circulation des courants océaniques ce qui aurait elle-même une incidence sur le climat (Brinkman et Sombroek, 1996)

Les systèmes littoraux sont des environnements très complexes et participent activement et passivement au changement global (Brinkman et Sombroek, 1996). Leur importance sur le climat réside pour partie dans leur participation au cycle du carbone avec une émission non négligeable de 30 à 40MT/an de CO₂ pour l'Europe occidentale (Elliott et McClusky, 2002). Parmi les effets directs du climat, actuellement observés, la marinisation des zones littorales est un processus qui impacte directement la faune et la flore (Maury, 1996), avec une remontée des espèces marines vers les zones internes (Gouletquer, 2008; Pasquaud *et al.*, 2012).

Les estuaires sont des zones d'une importance majeure tant sur le point écologique (zone de migration, frayère, réserves pour de nombreuses espèces : Carman et Trisble , 1985 ; Boet *et al.*, 2009 , économique (commerces, tourisme, etc... : Boet *et al.*, 2009. Ils sont soumis à une pression anthropique croissante notamment via des pollutions de différents types (organiques, métalliques, bactériennes,...), issues des bassins versants (Mauvais et Guillaud, 1994 ; Avoine, 1985).

Les estuaires, sont caractérisés par de fortes contraintes environnementales, marquées par de très forts gradients des paramètres physico-chimiques (Heip, 1995) et biologiques (Irigoiien et Castel , 1997; Modéran *et al.*, 2010; Barcena, 2012). Ce sont des zones à forte concentration en matière en suspension (MES). Dans certains de ces environnements (e.g. Gironde), celles-ci limite la profondeur de la zone photique et est responsable de la faible production primaire (Irigoiien et Castel, 1997 ; Pasquaud *et al.*, 2012). C'est dans ce cadre qu'intervient le concept de « paradox de qualité des estuaires » (Elliott et Quintino, 2007, David *et al.*, 2005) qui nous indique qu'il y un fort taux de matières en suspension dans les estuaires mais une faible diversité des espèces estuariennes.

La période estivale a un impact mesurable au sein de l'estuaire. Cette période est caractérisée par des débits fluviaux faibles (Sottolichio, 1999). Les faibles débits entraînent une remontée du bouchon vaseux vers la partie amont. Celui-ci est caractérisé par des concentrations très fortes en MES (>1g/L) : Mauvais et Guillaud, 1994. En plus d'une concentration des MES, ces faibles débits ont pour conséquences une augmentation des polluants et de la température dans la colonne d'eau. Ajouté à cela l'augmentation du temps de résidence des particules en période

estivale, en relation avec l'augmentation temporelle auront pour conséquence la création de zones temporairement anoxiques (Etchebert *et al.*, 2011). La structure des communautés zooplanctoniques étant corrélée à la concentration des matières en suspension (Modéran *et al.* 2010), le bouchon vaseux est présenté comme étant une « barrière biologique ».

Depuis environ 80 ans, au sein de la partie fluviale de la Gironde, la communauté scientifique s'est intéressé essentiellement aux paramètres physico-chimique (Prade, 1935 ; Lerat, 1963) mais la biologie a très peu été étudiée (38 publications sur les poissons dans le système Garonne/ Dordogne depuis 1901 à nos jours et aucun travail sur la méiofaune n'est recensé. Aujourd'hui, cette zone fait l'objet d'une attention particulière pour les raisons évoquées ci-dessus mais aussi du fait de l'anthropisation croissante.

C'est dans le cadre de la compréhension des changements en cours au sein des estuaires que s'inscrit le programme ETIAGE (**E**tude **I**ntégré de l'effet des **A**pports amont et locaux sur le fonctionnement de la **G**aronne **E**stuarienne) sous la direction de H. Etcheber (UMR 5805 EPOC) et M. Lepage (IRSTEA). Ce programme a pour but de caractériser la zone oligohaline de l'estuaire de la Gironde (4 axes de recherches : I rôle des apports organiques ; II contaminants organiques ; III contamination métallique ; IV cortèges biologiques). L'étude que je vais présenter par la suite concerne l'axe 4 nommé « caractérisation de la composante planctonique et benthique dans la masse d'eau fluviaux estuarienne (Garonne et Dordogne). Plus particulièrement je me suis focalisée sur la méiofaune notamment, car depuis quelques années les activités anthropiques (création de chenaux de navigation et d'endigements, aménagements portuaires...) ont conduit au morcellement des communautés benthiques (Merle, 2007).

L'objectif ici est donc de caractériser une partie de la faune benthique : la méiofaune. Celle-ci bien que longtemps considérée comme une voie trophique sans issue énergétique (MCIntyre, 1964) est un maillon du réseau trophique de petite taille (0,63 à 1µm) mais indispensable à l'interface eau sédiment (Castel, 1985). Elle a du fait de son cycle de vie court une forte productivité (Production/Biomasse $\approx 15 \text{ j}^{-1}$) et un temps de régénération rapide (Katarzyna Grzelak et Lech Kotwicki, 2012). Elle a un rôle de ressource nutritive notamment pour les alevins de poissons, les mysidacés, les décapodes et les copépodes (Feller et Kaczynski, 1975 ; Bouet *et al.*, 2009) ainsi que de la macrofaune dépositivore (Bouchet, 1976). La méiofaune, par sa fonction, de ressource trophique envers la macrofaune peut structurer celle-ci et avoir une incidence sur sa variété (Watzin, 1983). Elle a aussi un rôle dans le maintien et la diversité de la communauté du bactériobenthos (Carman et Trisble, 1985 ; dos Santos, 1995). Enfin, elle joue un grand rôle dans les flux énergétiques ainsi que dans la dégradation de la matière (Alizier *et al.*, 1996). La méiofaune a donc un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème.

En outre, elle présente aussi l'intérêt d'être un bio-indicateur de sites pollués (Amjad et Gray, 1983). Le rapport Nématodes/ Copépodes qui sont habituellement les deux taxons dominants dans la méiofaune est utilisé comme un indice de pollution aux HAP mais aussi pour déceler une pollution organique (Amjad et Gray, 1983 ; Shiells et Anderson, 1985). Ce ratio est faible si le milieu est préservé de la pollution organique (Amjad et Gray 1983; Shiells et Anderson, 1985 ; Amor Hedfi *et al.*, 2003). Enfin d'autres auteurs pensent au contraire que ce rapport ne constitue pas un indice direct de pollution organique (Keller, 1984; Lee *et al.*, 2001). D'autres études ont démontré que la densité des nématodes augmente avec l'eutrophisation (Mistou *et al.*, 2012) mais ainsi que, les différents taxons de la méiofaune réagissent différemment face à celle-ci (Fonseca *et al.*, 2011 ; Ristau *et al.*, 2012).

L'objectif de notre étude est d'étudier la répartition et la structuration des différents taxons de la méiofaune benthique le long de deux environnements contrastés, la Garonne (influence CUB) et la Dordogne (hors influence CUB). Le second objectif est d'identifier les paramètres environnementaux, biotiques et abiotiques responsables de la variabilité de sa répartition dans la partie fluviale de l'estuaire de la Gironde.

Matériels et méthodes

2.1-Zone d'étude

2.1.1 L'estuaire de la Gironde

L'estuaire de la Gironde est situé dans le sud-Ouest de la France (Figure 1) et constitue le principal exutoire du bassin aquitain (Pasquaud, 2006). Il couvre une superficie de 450 km² à marée basse et de 625 km² à marée haute (Pasquaud, 2006). Ce qui en fait le plus grand estuaire macrotidal d'Europe (Mauvais et Guillaud, 1994.).



Figure 1 : Localisation de l'estuaire de la Gironde, (encadré rouge).

Source : <http://cartothèque.free.fr>

L'estuaire de la Gironde est alimenté par deux fleuves, la Garonne et la Dordogne qui se rejoignent au bec d'Ambés. L'estuaire de la Gironde présente trois grandes subdivisions. Un estuaire aval, de l'embouchure à Saint-Christoly correspondant à la zone polyhaline ($30 < \text{Salinité} > 16$), un estuaire moyen, de Saint-Christoly au Bec d'Ambés correspondant à la zone mésohaline ($16 < \text{Salinité} > 3$), ces deux parties de l'estuaire forment la partie marine de l'estuaire. correspondant à la zone oligohaline ($5 < \text{Salinité} > 0.5$).

La troisième subdivision est l'estuaire fluvial en amont du Bec d'Ambes jusqu'à la limite de la marée dynamique (Pasquaud, 2006) conséquent d'eau douce (d'où une salinité très proche de 0)

et des actions quotidiennes de la marée. Elle s'étend jusqu'à la limite de la marée dynamique vers l'amont et a la caractéristique de concerner 2 fleuves la Garonne et la Dordogne. Elle s'étend vers l'amont jusqu'à la Réole en Garonne et jusqu'à Castillon-la-Bataille en Dordogne (≈150km en amont de l'embouchure). Cette zone fait l'objet d'une attention particulière, notamment car elle subit une anthropisation croissante d'année en année

La Garonne est un fleuve de 478 km drainant un bassin versant de 57 000 Km² (Mauvais et Guillaud, 1994). La Dordogne est longue de 483 Km (Mauvais et Guillaud, 1994) et son bassin versant couvre 23 800 km². La Dordogne étant considérée comme potentiellement non impactée par la CUB (Communauté Urbaine de Bordeaux) sera utilisé comme un environnement « de référence » dans notre étude. La Garonne est considérée comme influencée par la CUB. En effet elle reçoit l'ensemble des rejets urbains et pluviaux (également les eaux de ruissèlements) des deux stations d'épuration (Clos de Hilde et Louis Fargues). De plus, au niveau de Bordeaux symbolisant la « terminaison » de la Garonne les temps de résidence des particules sont plus long cela induit une concentration des pollutions organiques ou métalliques provenant du bassin versant Adour-Garonne (Etchebert *et al.*, 2011).

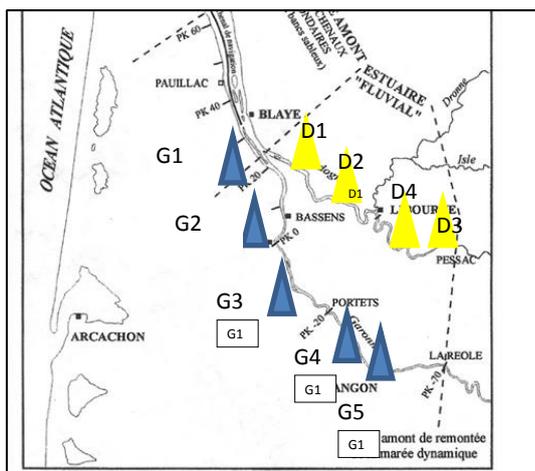


Figure 2 : Zone d'étude, Estuaire fluvial: Répartition des points de prélèvement le long de l'estuaire fluvial de la Gironde. Triangles bleus = Garonne avec ; G1=Ambès ; G2=Bacalan ; G3=Bordeaux ; G4=Bègles ; G5=Langoiran. Triangle jaune= Dordogne avec ; D1=Ambès ; D2=Cubzac les ponts ; D3=Izon ; D4=Libourne. Source : www.energiedelalune.fr

2.2 Stratégies d'échantillonnage

Neufs points de prélèvements ont été définis pour notre étude se répartissant au nombre de 5 points en Garonne et 4 points en Dordogne (Figure 2). La méiofaune et des paramètres descripteurs de l'environnement ont été échantillonnés ou mesurés en zones subtidale et intertidale. L'échantillonnage a été effectué durant l'année 2011 et en début 2012, avec un pas mensuel pour les échantillons de la zone intertidale et trois fois dans l'année (Mai, Aout, Octobre) pour les échantillons de la zone subtidale. L'échantillonnage intertidal a été effectué sur le même isobathe. L'échantillonnage subtidal a été effectué hors chenaux de navigation pour éviter l'influence néfaste du dragage sur les communautés.

Dans le cadre de notre analyse de la structuration spatio-temporelle de la méiofaune, nous sommes intéressés aux premiers centimètres (0-2 cm) du sédiment qui concentrent la majeure partie de la méiofaune (Escaravage *et al.*, 1989). Pour chacun des sites de prélèvements, 3 répliquas ont été prélevés à l'aide d'un carottier de 50ml (3cm de diamètre) afin d'éviter l'effet d'agrégat de la même espèce, permettant ainsi d'avoir une meilleure représentativité de la variabilité spatiale à micro-échelle (Castel, 1985). Les prélèvements sont transférés individuellement dans un pot de prélèvement pré-formolé (formol 10 %). De l'eau distillée est ensuite rajoutée dans les échantillons directement sur le site de prélèvement pour ne pas altérer la morphologie des organismes.

Les paramètres descripteurs de l'environnement mesurés en parallèle sont : la granulométrie, les concentrations en COP, NOP, Chlorophylle *a,b,c* et phéophytine totale et ont été acquis et analysés suivant les méthodes classiques (Neveux et Lantoine, 1993).

Dans le cadre de mon travail, j'ai pu bénéficier de l'ensemble de la matrice de données environnementales (2970 données), ce qui m'a permis de me consacrer pleinement à l'échantillonnage (début 2012) et au dépouillement des échantillons de méiofaune, ainsi qu'à l'analyse croisée des 2 matrices de données obtenues.

II. Méthode d'analyse de la méiofaune

3-1 Préparation des échantillons pour analyses

Les échantillons ont subi une première centrifugation (300t /min) pendant trois minutes après ajout de Ludox (HS 40). Le ludox est une solution colloïdale de silice avec un potentiel osmotique très faible diminuant la dégradation des organismes lors de l'apport en eau douce pour les rinçages. Le ludox conférant aux organismes et aux sédiments des flottabilités différentes (De Jonge et Bouwman, 1977). Les organismes ont leurs flottabilités proche de un et flotteront à la surface alors que les particules inertes se déposeront. Le surnageant contenant la méiofaune est prélevé et tamisé sur un tamis de 63 µm de vide de maille et remis en suspension dans une solution formolée à 10%. Une seconde et troisième centrifugation plus longue (5min) ont eu lieu sur la matière présumée inerte de l'échantillon pour récolter l'ensemble de la méiofaune restante. Les échantillons ont ensuite été colorés au rose de Bengale pour une meilleure identification des taxons.

3-2 Dénombrement et identification

Le tri et l'identification des organismes ont été réalisés sous une loupe binoculaire (Nikon SMZ 1500) au sein d'une cuve Dolfuss (200 carrés de 5mm de côté). L'ensemble de l'échantillon a été analysé. Dans le cadre de notre étude, nous avons déterminé différents groupes zoologiques à partir des travaux de Higgins et Thiel, (1988). Pour certains taxons nous avons été jusqu'à l'espèce, pour d'autres nous sommes restés à un niveau de détermination compatible avec la faisabilité du

travail dans le temps imparti (e.g. nématodes). Les espèces ont été identifiées au microscope (Axioston Zeiss (X40)) à immersion et, lorsque c'était nécessaire, des dessins (chambre claire) et des photos des détails morphologiques remarquables ont été réalisés. En cas de doutes, les reconnaissances ont été validées auprès de spécialistes de la méiofaune (F. Azémar, U. Toulouse) ou des groupes biologiques (J.C. Sorbe, UMR EPOC).

Les données obtenus à l'issue du tri ont été rapportées à une unité de surface standard (10 cm²) afin de pouvoir comparer nos résultats à la littérature et les résultats obtenus pour les 3 répliquas de chaque station ont été groupés pour intégrer la variabilité à micro-échelle.

3-3 Traitement des données

L'ensemble des données a été analysé avec le logiciel R.

Les données ont été réparties en deux matrices, une matrice faunistique et une matrice environnementale. Les données de la matrice faunistique ont été transformées en $\log_{10}(X+1)$ afin de minimiser l'écart entre les fortes abondances et les faibles, de plus cette transformation nous permettra de comparer nos résultats à la littérature. Des ACP ont été réalisées sur les différentes matrices, seules les variables ayant un $\cos^2 > 0,5$ ont été conservées car elles sont considérées comme représentatives lors de l'interprétation de l'analyse. Pour chaque ACP, il a été réalisé un dendrogramme qui conjointement à l'analyse du plan de projection des variables de l'ACP a servi pour former des groupements de stations.

3.3.1 Sources de variabilité au sein de l'estuaire fluvial

Deux ACP globales sur les données environnementales d'une part et sur les données faunistiques d'autre part, des 2 fleuves (Garonne et Dordogne), incluant zone intertidale et zone subtidale ont été réalisées afin d'avoir une première caractérisation de la variabilité du jeu de données (tailles des particules, différents types de chlorophylles, phéophytines, COP, NOP). Cette première approche a été réalisée sur les données moyennées sur l'année pour chaque station de prélèvement. A ce stade, seules les dates communes d'échantillonnages « intertidal » et « subtidal » ont été utilisées (3 dates : mai, août et octobre). La mise en évidence de la variabilité des observations sur le plan 1/2 de l'ACP a été faite en représentant la variation des scores des observations sur chacun des axes de l'ACP en fonction de la station de prélèvement et du niveau (intertidal vs subtidal).

3.3.2 Variabilité en zone intertidale : Estuaire fluvial Garonne et Dordogne

Dans un deuxième temps nous avons réalisé un test de Shapiro pour tester la normalité de nos deux matrices faunistiques ($p > 0,05$). L'homogénéité de la variance a été testée avec le test de Fischer qui s'est révélé négatif ($p < 0,05$). Nous avons donc effectué des tests de Wilcoxon pour voir

un effet temporel et spatial sur la répartition des différents taxons. Nous traiterons de la même façon nos données environnementales

Cette caractérisation a été faite sur les données mensuelles et non annuelles comme précédemment. Notre premier travail a consisté à voir si la discrimination des 2 fleuves restait la principale source de variabilité de la matrice malgré l'introduction de la variabilité saisonnière dans l'analyse. Comme précédemment, la variabilité des 2 matrices « intertidales » a été abordée grâce à 2 ACP prenant en compte les variables environnementales d'une part (tailles des particules, phéophytine, COP, NOP et les différents types de chlorophylles) et les données faunistiques d'autre part. Comme précédemment la représentation de la variabilité des scores des observations sur chacun des axes a été réalisée sur un histogramme en fonction du temps et de la station échantillonnée. La caractérisation de la variabilité intra-fleuve a été faite à partir d'ACP sur les matrices de données de chacun d'entre eux.

III. Résultats

4.1 Sources de variabilité au sein de l'estuaire fluvial.

4.1.1 Environnement

L'axe 1 de l'ACP (CP1) représentant 49% de la variance totale est expliqué par les variables *chlob* et phéophytine. L'axe 2 (CP2) représentant 20% de la variance totale est expliqué par les variables COP et tailles des particules [$63\mu\text{m} < T < 90\mu\text{m}$], [$200\mu\text{m} < T < 900\mu\text{m}$].

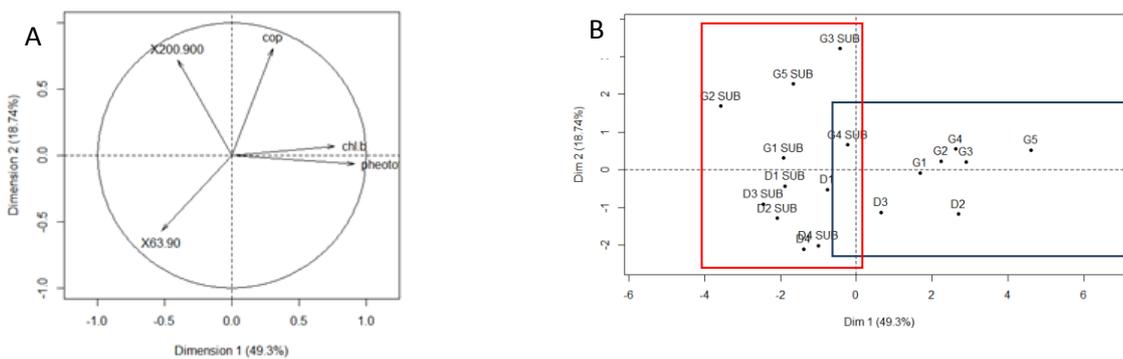


Figure 3 : Estuaire fluvial de la Gironde, 2011. ACP sur les paramètres environnementaux : A : représentation des variables sur cercle de corrélation (1/2) : COP, particules de tailles [$63\mu\text{m} < T < 90\mu\text{m}$], [$200 < T < 900\mu\text{m}$], phéopigments, chlorophylle *b* (*chlo b*); B : représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1 → G5, Dordogne D1 → D4 ; Subtidale (Sub).

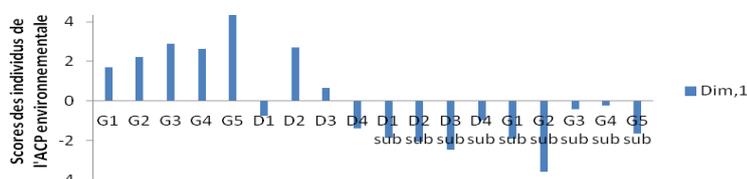
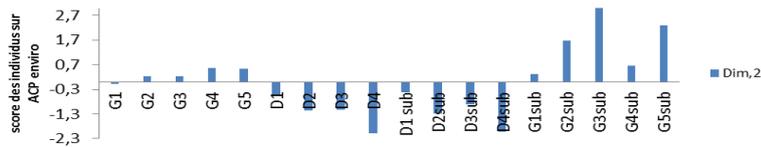


Figure 4 : Estuaire fluvial de la Gironde, 2011. Représentation des scores des observations (données environnementales) A : sur l'axe 1 de l'ACP, B/ sur l'axe 2.

A



B

La projection des observations sur le plan (Figure 3B) et la représentation des scores des observations sur les 2 axes de l'ACP (Figure 4) mettent en évidence un double regroupement : selon la zone de prélèvement (intertidal/subtidal) sur la CP1 et selon les fleuves sur la CP2. La principale source de variabilité (CP1) permet de caractériser les stations intertidales, avec de fortes concentrations en chlob et phéophytine, (encadré bleu) et les stations subtidales peu différenciées des intertidales par ces variables mais par une forte variabilité de la granulométrie ($[63 < T < 90\mu\text{m}]$, $[200 < T < 900\mu\text{m}]$: encadré rouge).

4.1.2. Méiofaune

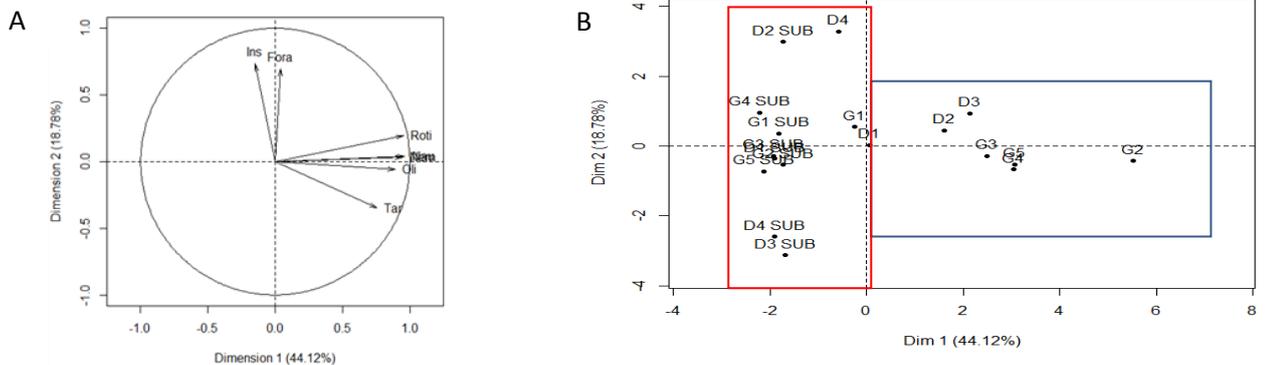
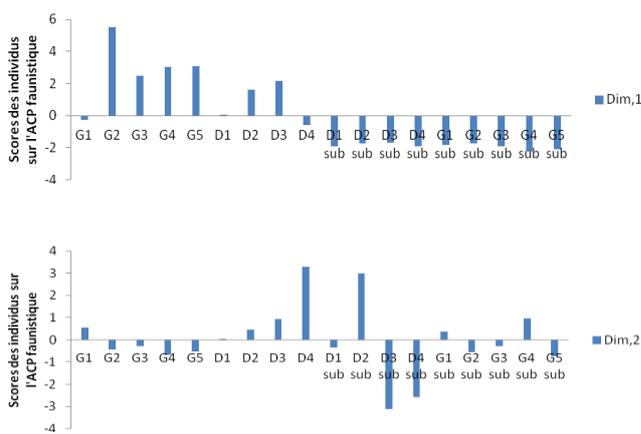


Figure 5 : Estuaire fluvial de la Gironde, 2011. ACP sur les paramètres faunistiques : A : représentation des variables sur cercle de corrélation (1/2) : insectes, foraminifères, rotifères, oligochètes, tardigrades, nématodes, copépodites; B représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1 → G5 , Dordogne D1 → D4 ; Subtidale (Sub).



A

B

Figure 6 : Estuaire fluvial de la Gironde, 2011. Représentation des scores des observations (données faunistiques) A : sur l'axe 1 de l'ACP, B/ sur l'axe 2.

L'axe 1 (CP1) de l'ACP réalisée sur les données faunistiques (Figure 5A) représente 44% de la variance expliquée par les taxons : copépodes, nématodes, nauplii, rotifères, tardigrades et oligochètes. L'axe 2 (CP2) synthétisant 19% de la variance est expliquée par les taxons : insectes et

foraminifères. La projection des observations sur le plan (Figure 5B et 6) et la représentation des scores sur les axes 1 et 2 permettent de mettre en évidence un double regroupement :

- Axe 1 : différencie des stations intertidales qui sont caractérisées par les copépodes (copépodites et nauplii), les nématodes, les rotifères, les tardigrades et les oligochètes et des stations subtidales influencées en Garonne par de fortes abondances en insectes et foraminifères et en Dordogne par de faibles abondances de ces mêmes taxons ;
- Axe 2 : différencie un groupe de stations des 2 fleuves caractérisées par la représentativité des insectes et des foraminifères.

4.2 Variabilité en zone intertidale le long de la Garonne et de la Dordogne

4.2.1 Variabilité inter-fleuves

4.2.1.1. Environnement

La CP1 représente 32% de la variance totale, elle est principalement expliquée par les variables NOP, COP et les tailles de particules [$63\mu\text{m} < T < 200\mu\text{m}$]. La CP2 représentant 21% de la variance totale est expliquée par les variables *chl a*, phéophytines, tailles de particules [$63\mu\text{m} < T < 200\mu\text{m}$]. Les 2 axes expliquent 53% de la variance totale. L'examen du dendrogramme et des scores des observations sur le plan de l'ACP (Figures 7 et 8) permet de distinguer 2 groupes : les stations de la Dordogne influencée la granulométrie (encadré bleu) et celles de la Garonne influencée par le COP et NOP. Les variables phéophytines et chlorophylle *c* identifient un groupe restreint de stations estivales dans les 2 fleuves.

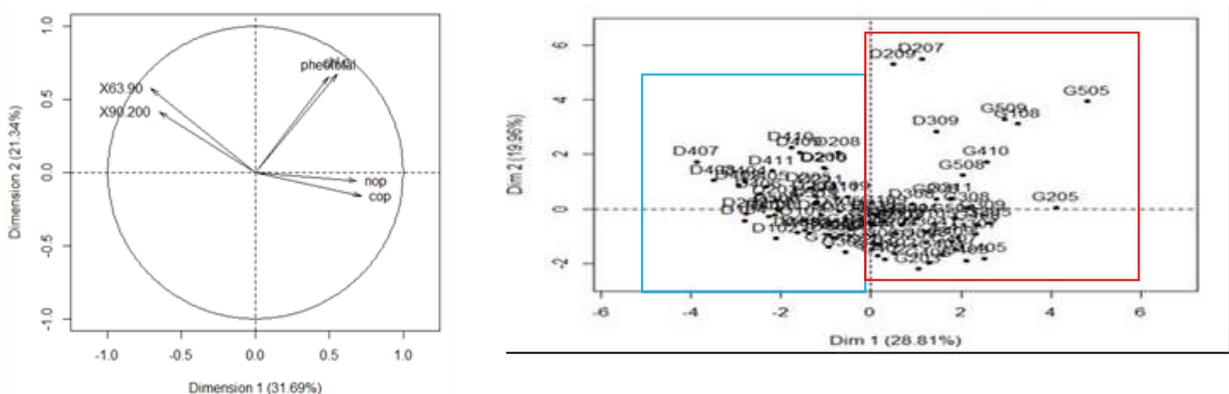


Figure 7 : Estuaire fluvial de la Gironde, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres environnementaux : Représentation des variables sur cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1 → G5, Dordogne D1 → D4 ; Subtidale (Sub).

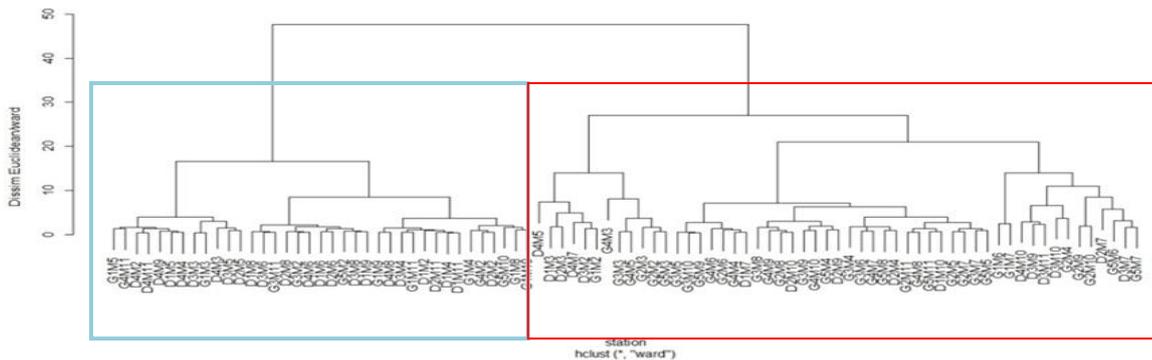


Figure 8 : Estuaire fluvial de la Gironde, Zone intertidale, 2011. dendrogramme réalisé sur les paramètres environnementaux (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellés des observations : D et G pour Dordogne ou Garonne, N° de la Station, M et mois. Encadré bleu = Dordogne, rouge = Garonne.

4.2.1.2. Méiofaune

La CP1 représente 46% de la variance totale, cet axe est caractérisé par les nématodes, copépodes (nauplii et copépodites), tardigrades, rotifères, oligochètes et gastéropodes. La CP2 résume 19% de la variance et est décrite par les insectes (Figure 9). Le dendrogramme (Figure 10) différencie 2 groupes dont l'analyse conjointe avec les valeurs des scores des observations sur le plan 1/2 de l'ACP indique que les stations de la Garonne sont caractérisées par les insectes alors qu'en Garonne elles sont caractérisées par les nématodes, copépodes, dont nauplii et oligochètes.

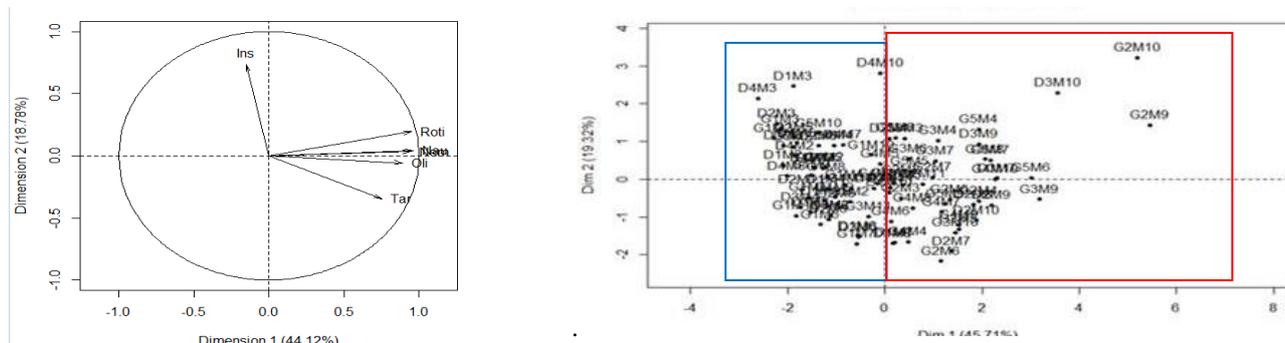


Figure 9 : Estuaire fluvial de la Gironde, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres faunistiques : Représentation des variables sur cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1→G5 , Dordogne D1→D4 ; Subtidale (Sub).

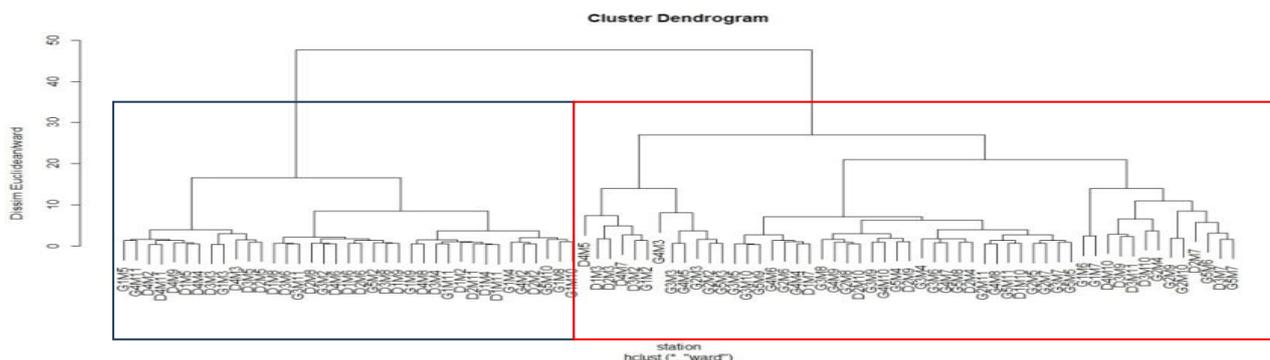


Figure 10 : Estuaire fluvial de la Gironde, Zone intertidale, 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres faunistiques (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : D et G pour Dordogne ou Garonne, N° de la Station, M et mois. Encadré bleu = Dordogne, rouge = Garonne.

4.3. Zone intertidale, variabilité intra-fleuves

4.3.1 Dordogne

4.3.1.1. Environnement

La plan formé par les 2 premières composantes décrit 53% de la variabilité de la matrice de données (CP1: 32% ; CP2: 21%). Les variables décrivant ce plan sont les tailles de particules [$63\mu\text{m} < T < 200\mu\text{m}$] et les concentrations en [NOP et COP] corrélées à l'axe 1 sont anti corrélées et la variable phéophytines indépendante de celles-ci et principalement explicative de l'axe 2. L'analyse conjointe du plan des observations et de la classification (Figures 11B et 12) permet de mettre en évidence 2 groupes les stations caractérisées par une granulométrie des particules [$< 63\mu\text{m} < T < 200\mu\text{m}$] et une faible représentativité de COP et NOP (encadré bleu) et un second groupe correspondant aux prélèvements réalisés sur la station D4 (encadré rouge) qui se distingue des autres à la fois par sa granulométrie et par ses plus fortes concentrations en COP et NOP.

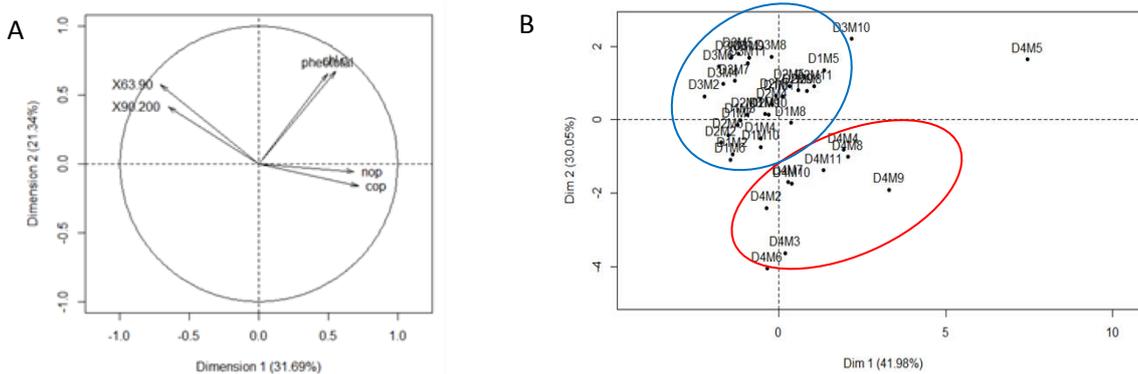


Figure 11 : Estuaire fluvial de la Dordogne, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres environnementaux : Représentation des variables sur le cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Dordogne D1 → D4.

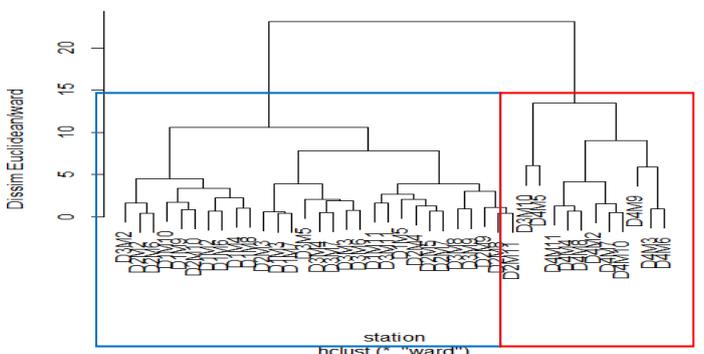


Figure 12 : Estuaire fluvial de la Dordogne, Zone intertidale, 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres environnementaux (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : D pour Dordogne, N° de la Station, M et mois.

L'analyse a été refaite en excluant la station D4, ce qui permet de mettre clairement en évidence un gradient amont, aval de granulométrie des stations étudiées (D3 : sédiments les plus fins, D1 : les plus grossiers, Annexe 31). En outre l'analyse ne permet pas la mise en évidence d'une variabilité saisonnière de l'environnement pour les variables prises en compte.

4.3.1.2. Méiofaune

La plan formé par les 2 premières composantes décrit 50% de la variabilité de la matrice de données (CP1 : 33%; CP2 : 17%). Les variables décrivant ce plan sont les taxons des nématodes, copépodes (nauplii et copépodites) et oligochètes (positivement corrélées à l'axe 1) ; la variable tardigrade est corrélée à l'axe 2 dans sa partie positive. L'analyse conjointe du plan des observations et de la classification (Figures 13B et 14) permet de mettre en évidence 3 groupes (Figure 14) : le groupe influencé par les taxons les tardigrades (encadré bleu, taxons présents pour en mars et mai = printemps), celui influencé par les copépodes, nématodes, oligochètes (encadré vert, taxons présents pour les mois de juillet, septembre et octobre = fin d'été), celui influencé par une faible représentativité des groupes précédents (encadré rouge, taxon fortement présent en avril, juin, aout, novembre).

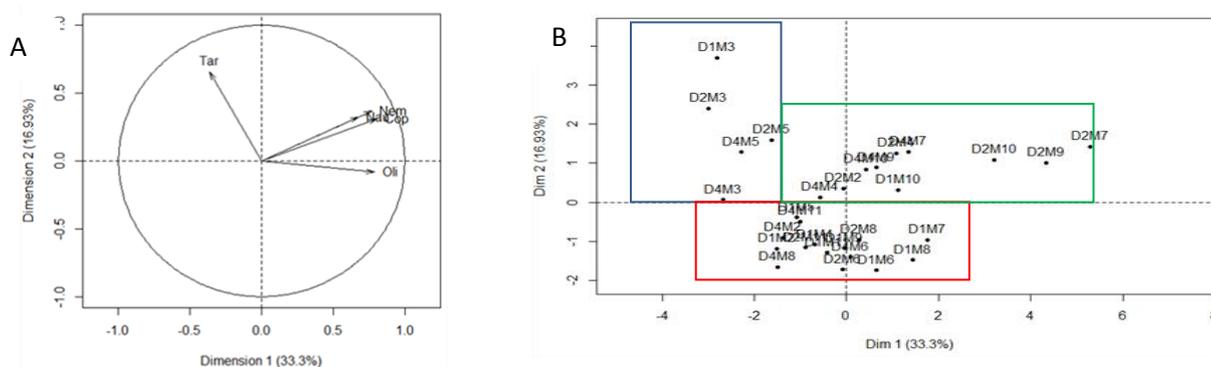


Figure 13 : Estuaire fluvial de la Dordogne, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres faunistiques : Représentation des variables sur le cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Dordogne D1→D4.

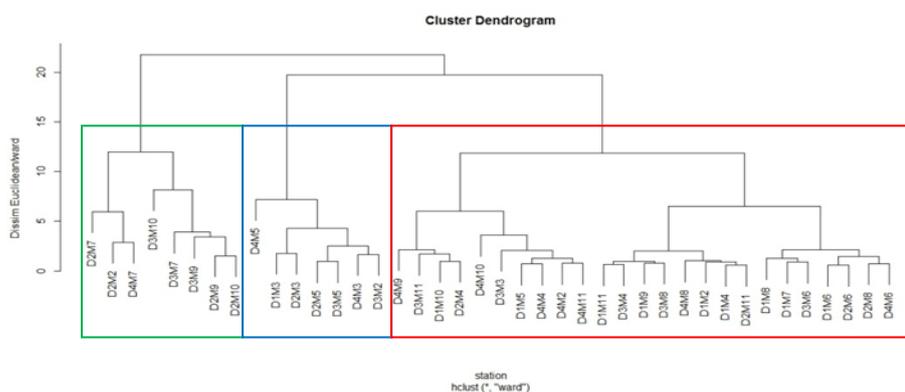


Figure 14 : Estuaire fluvial de la Dordogne, Zone intertidale, 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres faunistiques (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : D pour Dordogne, N° de la Station, M et mois.

Cette ségrégation en 3 groupes traduit une variabilité saisonnière marquée par une variation de dominance des taxons (Figure 15) et par une variation d'abondance de ces groupes (Figures 16 et Annexes 31 et tableau 1). Dans le détail, le taxon majoritaire est celui des nématodes quel que soit la période de l'année. Il présente un pic d'abondance en avril/juin puis un second de septembre à novembre. Outre celui-ci, les autres taxons « majoritaires » (abondance > 5 ind/10cm²) sont les copépodes (nauplii et copépodites), les foraminifères, les oligochètes et les rotifères. Une forte variabilité saisonnière des abondances au sein de chacun de ces taxons est observée (Figure 16). Les taxons les moins abondants (abondance < 5 ind/10cm²) sont les acanthaires, les polychètes, les insectes, les gastéropodes, les tardigrades et les cladocères (Annexe 32). Il faut noter que l'ensemble des taxons identifiés durant la période d'échantillonnage sont présents au mois de février (nématodes :50%, foraminifères 30%, rotifères 9%, copépodes 2%, nauplii 2%, insectes 1%, oligochètes 3%, tardigrades 2%), faisant de ce mois le plus riche taxonomiquement.

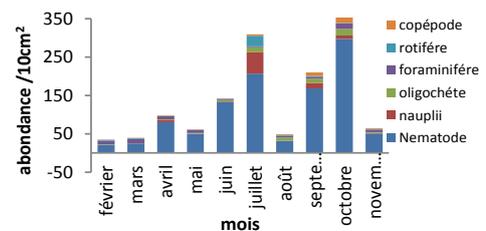
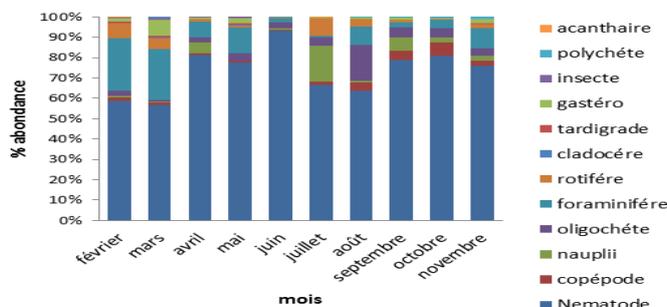


Figure15 : Estuaire fluvial Dordogne, 2011. Variation temporelle de l'abondance relative de la méiofaune en zone intertidale (l'ensemble des taxons est représenté).

Figure 16 : Estuaire fluvial Dordogne, 2011. Evolution temporelle des taxons majoritaires (moyenne annuelle > 5 ind/10cm²) au sein de la zone intertidale. L'évolution des taxons minoritaires en donnée en annexe32

4.3.2 Garonne

4.3.2.1. Environnement

La plan formé par les 2 premières composantes décrit 90% de la variabilité de la matrice de données (CP1 47%; CP2 : 43%, Figure 17). Les variables décrivant ce plan sont la taille des particules, les phéophytines, et les différents types de chlorophylle *c*. On peut noter que les variables particules [$<63\mu\text{m}$] et celles de [$63<T<90\mu\text{m}$] sont anti corrélées et indépendantes des variables phéophytines et chl *c*. L'analyse conjointe du plan des observations (Figure 17 B) et de la classification (Figure 18) permet de mettre en évidence 2 groupes, le groupe influencé par les tailles de particules $<63\mu\text{m}$ (encadré bleu, principalement stations G2 à G5) et le second groupe influencé par les tailles de particules comprises entre 63 et 90 μm (encadré rouge, principalement station G1).

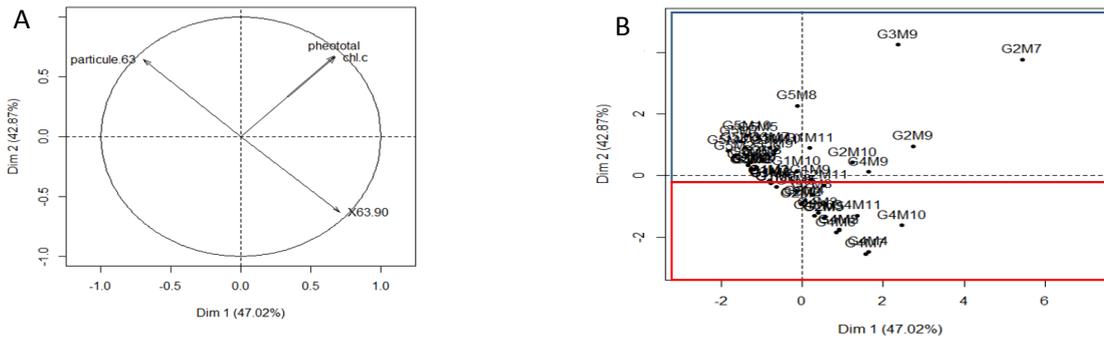


Figure 17 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres environnementaux : Représentation des variables sur le cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1 → G5.

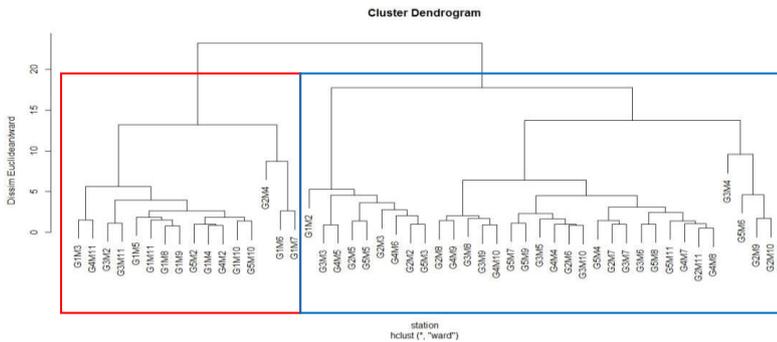


Figure 18 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres environnementaux (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : G pour Garonne, N° de la Station, M et mois.

4.3.2.2. Méiofaune

La plan formé par les 2 premières composantes décrit 94% de la variabilité de la matrice de données (CP1 75 %; CP2 : 19%). Les variables décrivant ce plan sont : le taxon des nématodes positivement corrélés à l'axe 1 et à l'axe 2, les taxons des copépodes (nauplii et copépodites) positivement corrélés à l'axe 1. L'analyse conjointe du plan des observations (Figure 19) et de la classification (Figure 20) permet de mettre en évidence 2 groupes : celui des prélèvements de la station G1 (encadré bleu) peu caractérisé par les taxons copépodes et nématodes, à l'inverse du groupe des autres stations (encadré rouge).

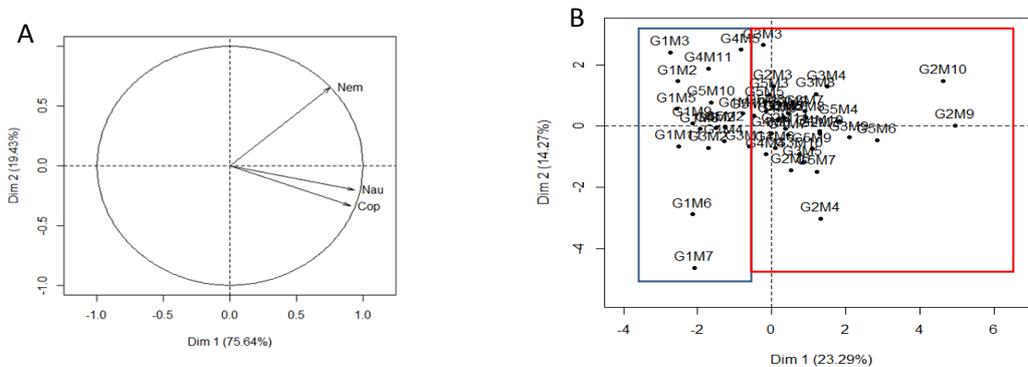


Figure 19 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres faunistiques : Représentation des variables sur le cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Garonne G1 → G5.

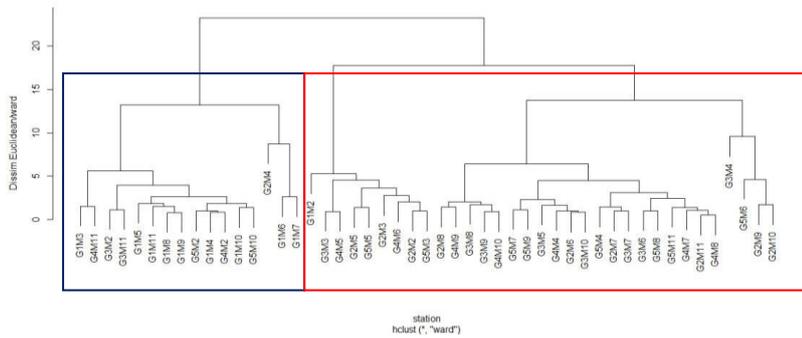


Figure 20 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. dendrogramme réalisé sur les paramètres faunistiques (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : G pour Garonne, N° de la Station, M et mois.

Une ACP a été effectuée sans la station « atypique » G1 afin d'avoir une meilleure représentation de la variabilité des autres stations de la Garonne (Figure 21). Le plan formé par les 2 premières composantes décrit 70% de la variabilité de la matrice de données (CP1 45%; CP2 : 23%). Les variables décrivant ce plan sont les nématodes et oligochètes corrélés positivement à l'axe 2 et les foraminifères corrélés négativement à l'axe 2. Les copépodes (nauplii et copépodites) décrivent l'axe 1 dans sa partie positive. L'analyse conjointe du plan des observations et de la classification (Figures 21 et 22) permet de mettre en évidence 4 groupes qui ne révèlent ni découpage saisonnier, ni découpage spatial clair de la composition faunistique ces stations. Ceci est principalement dû à la forte variabilité des abondances relatives du groupe très largement dominant, s'exprimant pour chaque station de manière très ponctuelle et non synchrone : les nématodes.

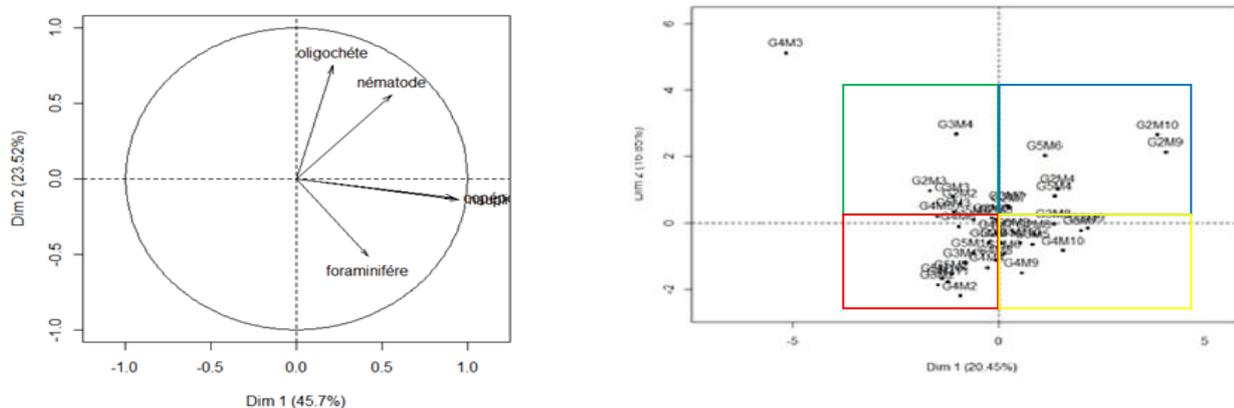


Figure 21 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. ACP sur les paramètres faunistiques : représentation des variables sur le cercle de corrélation (1/2) et représentation des observations sur le plan : stations Garonne G2→G5.

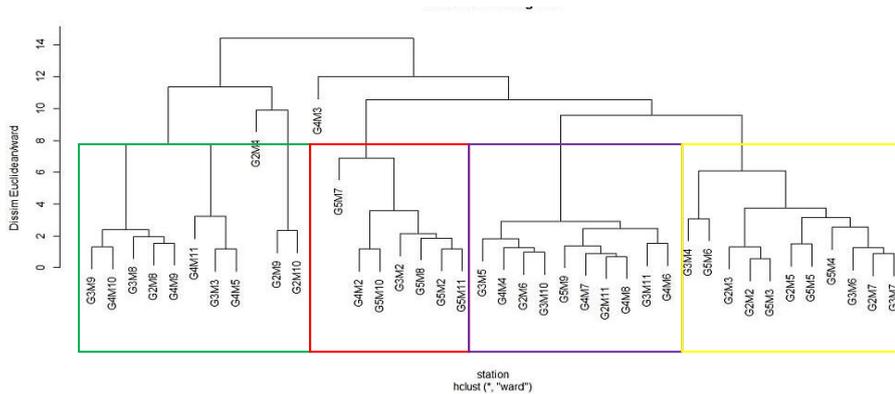


Figure 22 : Estuaire fluvial de la Garonne, Zone intertidale, 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres faunistiques (distance euclidienne, méthode du plus grand saut). Libellé des observations : G pour Garonne, N° de la Station, M et mois.

En moyenne, sur l'ensemble des stations (excepté G1) le taxon largement majoritaire est donc celui des nématodes (abondances maximales pratiquement 3 fois supérieures à celles observées en Dordogne) : il est présent quel que soit le mois de l'année, avec un pic d'abondance maximale au mois de juin. Les autres taxons les plus abondants (abondance > 5 ind /10cm²) sont les nématodes, les copépodes (nauplii et copépodites), les foraminifères, les oligochètes et les rotifères. Les taxons les moins abondants (abondance < 5 ind /10cm²) sont les acanthaires, les polychètes, les insectes, les gastéropodes, les tardigrades et les cladocères (Annexe 33). Il faut noter que l'ensemble des taxons identifiés durant la période d'échantillonnage sont présents au mois de mars (nématodes :85%, foraminifères 5%, rotifères 5%, copépodes 1%, nauplii 1% ,insectes 0,5%, oligochètes 2% , tardigrades 0,5%), ce mois étant donc le plus riche taxonomiquement.

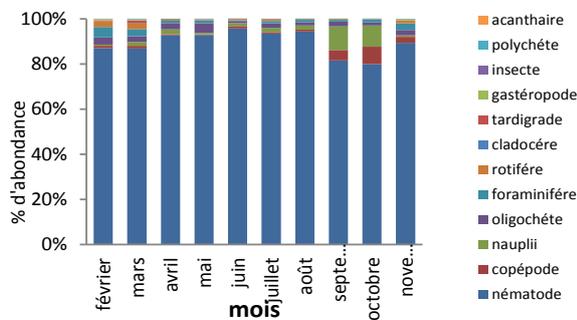


Figure 23 : Estuaire fluvial Garonne, 2011. Variation temporelle de l'abondance relative de la méiofaune en zone intertidale (l'ensemble des taxons est représenté).

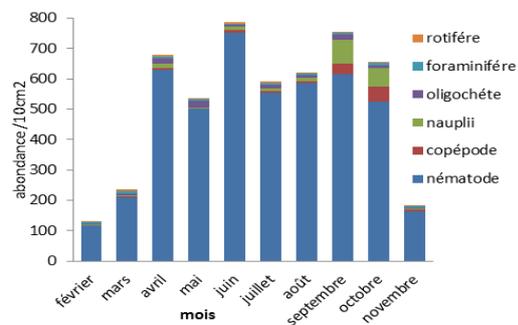


Figure 24 : Estuaire fluvial Garonne, 2011. Evolution temporelle des taxons majoritaires (moyenne annuelle > 5 ind/10cm²) au sein de la zone intertidale. L'évolution des taxons minoritaires en donnée en Annexe 33.

4.5 Variabilité de la zone subtidale durant l'année 2011

4.5.1. Variations environnementales

Le plan formé par les 2 premières composantes décrit 53% de la variabilité de la matrice de données (CP1 29%, CP2 : 24%). Les variables décrivant ce plan sont : les concentrations en phéophytine, chlo *b*, chlo *c* corrélées négativement à l'axe 1 et les concentrations en NOP négativement corrélées à l'axe 2. L'analyse conjointe du plan des observations (Figure 25B) et de la

classification (Figure 26) permet de mettre en évidence 2 groupes ; Le premier est influencé par les concentrations en NOP (encadré bleu) et le second non influencé par les concentrations en chlo *b*, phéophytine et chlo *c* (encadré rouge).

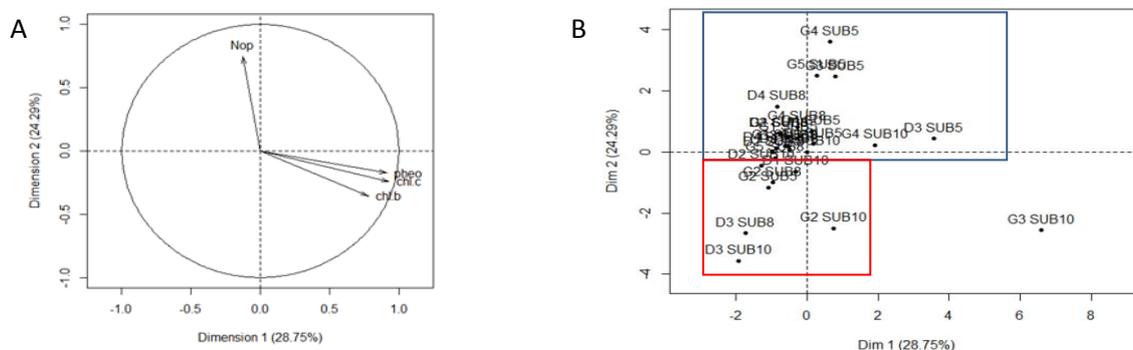


Figure 25: ACP des données environnementales de la zone subtidale durant l'année 2011, A : Cercle de corrélation de l'ACP ; B : plan de l'ACP, NOP, chlorophylle b,c ; phéophytine totale..

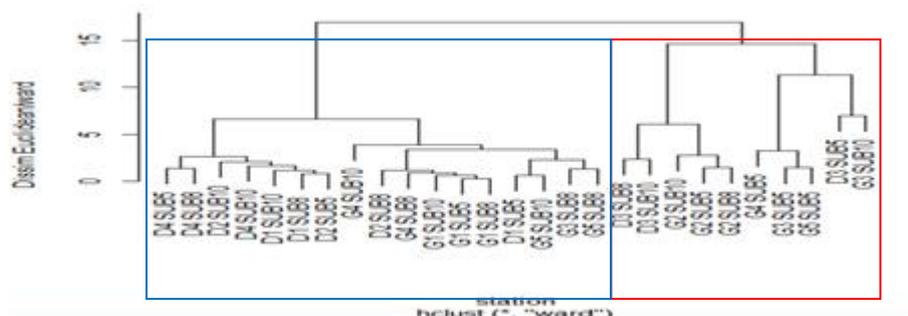


Figure 26 : Estuaire fluvial de la Zone subtidale 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres environnementaux (distance euclidienne, méthode du plus grand saut).

4.5.2. Méiofaune

Le plan formé par les 2 premières composantes décrit 89% de la variabilité de la matrice de données (CP1 70%, CP2 : 19%). Les variables décrivant ce plan sont : les taxons des nématodes, nauplii corrélés positivement à l'axe 1 et le taxon des copépodes corrélés négativement à l'axe 1. On peut noter que les variables copépodes et nématodes sont anti corrélées. L'analyse conjointe du plan des observations et de la classification (Figure 27B et 28) permet de mettre en évidence 2 groupes ; Le groupe des stations influencé par le taxon des nématodes (encadré bleu) ayant principalement des stations du mois de mai et le groupe des stations influencé par les copépodes (encadré rouge).

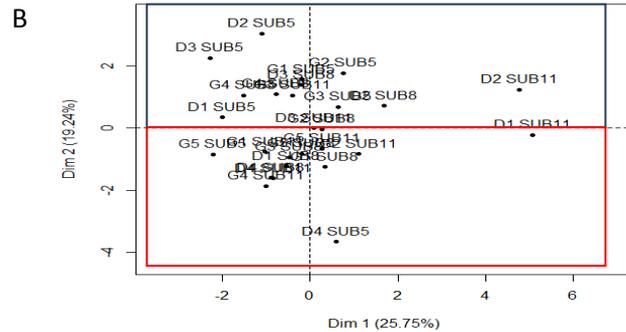
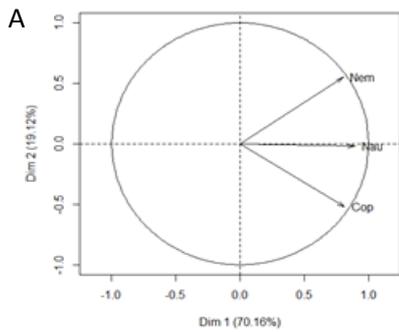


Figure 27: ACP des données faunistiques de la zone subtidale durant l'année 2011, A : Cercle de corrélation de l'ACP ; B : plan de l'ACP, copépodes, nauplii, nématodes.

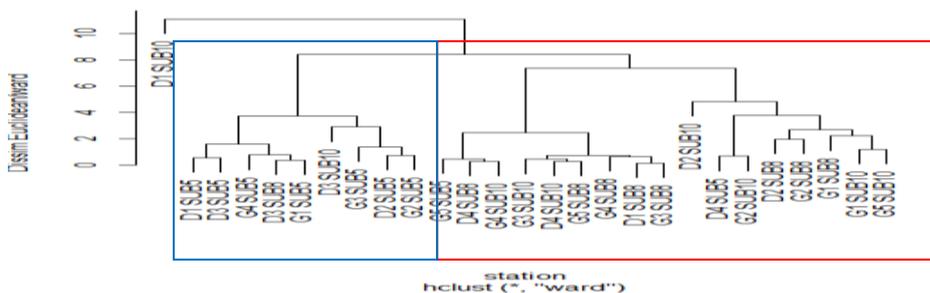


Figure 28 : Estuaire fluvial de la Zone subtidale 2011. Dendrogramme réalisé sur les paramètres faunistiques (distance euclidienne, méthode du plus grand saut).

Les figures 29 ,30 montrent des variations saisonnières pour les différents taxons. Le taxon majoritaire est celui des nématodes quel que soit la période de l'année. Il possède un pic d'abondance au mois de juin. Les taxons les plus abondants (abondance > 5 ind /10cm²) sont: nématodes, foraminifères, gastéropodes, oligochètes, rotifères, insectes, copépodes. Le tableau 3 montre la forte variabilité des abondances au sein de chaque taxon, ce qui confirme la variabilité saisonnière. Les taxons les moins abondants (abondance < 5 ind /10cm²) sont les acanthaires, les naupliis, polychètes les tardigrades et les cladocères(Annexe 34). Ce graphique indique des cycles de vie des différents taxons. Il indique une évolution du taxon des nématodes du mois de mai à novembre, et à l'inverse une diminution de l'abondance du taxon des polychètes. Il faut noter que tous les taxons identifiés ne sont pas présents en zone subtidale ; le taxon des polychètes est absents. (Néanmoins, cette analyse n'est réalisée que sur trois mois).

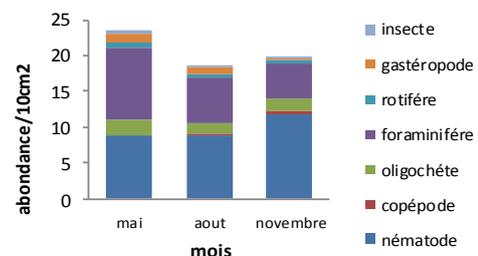
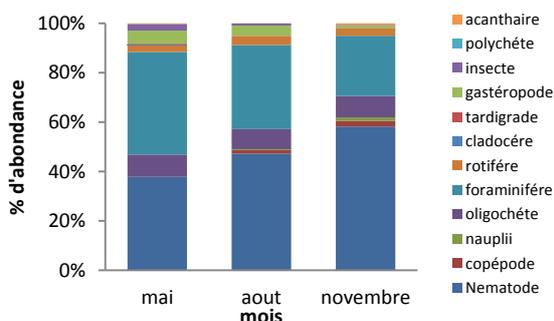


Figure 29 : Estuaire fluvial en zone subtidale, 2011. Variation **Figure 30 :** Estuaire fluvial en zone subtidale 2011.

temporelle de l'abondance relative de la méiofaune en zone intertidale (l'ensemble des taxons est représenté).

Evolution temporelle des taxons majoritaires (moyenne annuelle > 5 ind/10cm²) au sein de la zone intertidale. L'évolution des taxons minoritaires en donnée en Annexe 34

IV. Discussion

Intérêt de l'étude

Très peu d'études ont été réalisées sur la répartition de la méiofaune en milieu estuarien (228 publications depuis 1989 web of sciences). Les études menées sur le littoral aquitain se sont principalement concentrées sur le Bassin d'Arcachon (Castel, 1985 ; Escaravage *et al.*, 1989, Antajan, 1997, Alves *et al.*, 2009). Notre étude est nouvelle au sein de l'estuaire fluvial (Garonne et Dordogne) en zone oligohaline. Cette zone est connue de la littérature pour une diversité taxonomique et des abondances plus faibles que la zone polyhaline (Mauvais et Guillaud, 1994 ; Adao *et al.*, 2008).

L'objectif général de notre étude, visait dans un premier temps à identifier les communautés méiofauniques (zones inter et subtidales) et par la suite à les caractériser afin d'observer un potentiel impact de la CUB. La problématique est sous-tendue par les travaux d'Etcheber *et al.*, 2011 qui nous apprennent que la zone estuarienne située à proximité de Bordeaux souffre d'un important phénomène d'hypoxie en période d'étiage. L'hypoxie en étiage est issue de la réduction des débits qui a pour conséquence majeure une remontée du bouchon vaseux vers l'amont, ce qui, combiné à la hausse des températures induit un déficit en oxygène. La dynamique de la méiofaune étant sous l'influence de nombreux facteurs, biotiques et abiotiques, il a été nécessaire d'aller étudier cette dernière dans une zone soumise à de grandes variations spatiaux-temporelle des paramètres physico-chimique (Carman et Trisble, 1985 ; Castel, 1985).

Diversité taxonomique au sein des communautés

Intertidale vs Subtidale

Lors de ce stage, il a été possible de différencier nos zones subtidales et intertidales du point de vu de la répartition faunistique. Dans notre étude, les variations d'abondances en zone subtidale sont comprises entre 12 et 30 ind/10cm². Cette variation est faible comparée à la zone intertidale (Dordogne 47 et 360 ind/10cm², Garonne 120 et 800 ind/10cm²) mais est connu de la littérature (Houston *et al.*, 2011). Cette variation est à rapprocher des conditions environnementales plus contraignantes dans cette zone (moins de nourriture, davantage de contraintes physico-chimique, remaniement sédimentaire) qu'en zone intertidale (Adao *et al.*, 2008). Nous pouvons également noter que la répartition méiofaunique semble être la même entre les stations subtidales. Cette zone

se caractérise par des faibles concentrations en chlorophylle et des fortes concentrations en NOP. A contrario de la zone intertidale qui est influencée par les paramètres biotiques (COP, NOP, chlorophylle *a*, phéophytine) : cela en fait un pool nutritif important et variable temporellement.

Dordogne vs Garonne Intertidale

La Garonne est très différente de la Dordogne, dans un premier temps à cause de la granulométrie qui est décrite comme l'un des principaux facteurs structurant la méiofaune (Rodriguy 2002 ; Ouisse *et al.*, 2011). Il est intéressant de voir que les stations de la Garonne : G2, G3, G4, G5 (qui sont plus en amont) sont influencées par les sables fins (particules comprises entre 63 μ m et 90 μ m de diamètres). Tandis que la station G1 plus en aval est influencée par des silts (particules <63 μ m de diamètres). Cette variation de granulométrie au sein de la Garonne peut provenir d'un temps de résidence plus long en aval avec un taux de sédimentation plus élevé (Sottolichio *et al.*, 2011) ; Cette différence de granulométrie entre le zone amont et aval s'observe également en Dordogne (D3 : sédiments les plus fins, D1 : les plus grossiers). Ces différences de granulométrie peuvent avoir un effet sur l'abondance des nématodes et des copépodes, leur fournissant ou non des micro habitats., Les silts étant connus dans la littérature (Carman et Tisble 1985), comme étant responsable de la variation de densité et de diversité de certains taxons comme celui des nématodes leurs fournissant une modification temporelle à micro-échelle de leurs habitats. (Adao *et al.*, 2008). Dans les sables fins envasés (63 à 90 μ m) et sablo-vaseux (90 à 200 μ m) il y a une dominance des nématodes qui s'expliquent par leurs morphologies et leurs modes de déplacement (Antajan, 1997) leur procurant ainsi une facilité d'enfouissements. Nos résultats indiquent que les nématodes et copépodes sont plus abondants dans les stations avec une dominance des silts. Ce fait a déjà été observé par Rodwell et Brown en 2007 qui ont démontré une corrélation positive entre les silts et les taxons des copépodes et nématodes. De plus,,BOUCHET en 1976 et Coull en 1986 ont mis en évidence de forts taux d'abondances reliés à des taux élevés de pélites* et de matières organiques

Nous pouvons également observer des cycles saisonniers pour les taxons des nématodes et copépodes avec un pic d'abondance des nématodes en Garonne au mois de juin et septembre et pour les mois de juillet et novembre en Dordogne. La richesse spécifique est la même entre la Dordogne et la Garonne mais on note des différences abondances significatives pour le taxon des nématodes. Il représente 85% de l'abondance en Garonne contre 50% de l'abondance en Dordogne (test de Wilcoxon significativement différents). Dans la littérature pour des environnement proches pour un environnement proche de la Dordogne (Rodriguy *et al.*, 2002 l'abondance des nématodes est de 44%, pour un environnement proche de la Garonne 88%,(Antajan ,1997 sur BA). Nous pouvons

noter que nos résultats sont proches de la littérature ; La différence d'abondance entre la Dordogne et la Garonne d'abondance pourraient provenir d'un décalage de leur cycle de vie du à la température ; ces organismes étant ectothermes ont leur cycle de vie régit par la température.

Nous pouvons émettre aussi d'autres hypothèses la première serait due à une pression plus forte des nématodes en Garonne due à une compétition interspécifique pour l'espace, et pour la ressource nutritive La Dordogne ayant de plus faibles concentrations en éléments nutritifs (NOP,COP chlorophylle *a,b,c* , péohéophyrine totales) que la Garonne (Garonne(chlo *a* 17µg/L) chlo *a* 2 fois plus élevé qu'en Dordogne (chlo *a* 9µg/L)). La littérature nous informe (Montana *et al.*, 1994) que l'abondance des nématodes et copépodes harpacticoides semble influencée par la disponibilité en microphytobenthos.. Néanmoins, d'autres études démontrent que la nourriture disponible n'est pas un facteur limitant pour la méiofaune (Grzelak et Kotwicki, 2012). Une autre hypothèse une sensibilité différentes des taxons face à un enrichissement ; effet négatif sur l'abondance des : copépodes, cladocères qui semblent privilégier la quanlité nutritive (certaines macroalgues) a la quantité mais un effet positif sur l'abondance des rotifères et nématodes.

Les nématodes, groupe dominant et bio-indicateur

Le taxon majoritaire quel que soit la zone d'étude (Gar vs Dor ; Int vs Sub) est celui des nématodes. Ces organismes sont indispensables à la méiofaune, comme nous le montre le principe de « gardening » (Gerlach, 1976) : les nématodes provoquent une bonne oxygénation grâce à leurs activités de bioturbation et bio irrigation libérant des nutriments, de la matière organique dissoute ainsi que des métabolites au travers leurs peaux (Gerlach, 1976). Ce taxon a un cycle de vie court régit par la température, (Boufatja *et al.*, 2010). Les nématodes semblent toujours majoritairement présents en plus fortes abondances du fait de sa plus grande résistance aux pollutions organique (Amjad et Gray, 1983 ;Keller.,1985; Rowe., 1997 ;Heidgi *et al.*, 2003 ; Boufaja *et al.*,2010), métalliques(.Richard *et al.*, 1999 ;Lee *et al.*, 2001) Leurs cycle de vie court leur permet d'intégrer les changements rapides de l'environnement d'où la mise en place d'un indice de pollution organique (Amjad et Gray, 1983) basé sur le ratio **Nématodes/Copépodes**. Lorsque celui-ci est élevé alors le milieu est pollué. Cet indice connait néanmoins des réfractaires comme (Shiells & Anderson, 1985) démontrent le contraire. Les auteurs, Rubal *et al.*, 2009 considèrent cet indice comme une simplification de la structure de la méiofaune, ces deux taxons étant majoritaires le plus souvent au sein de la méiofaune. Le tableau 6 montre le ratio Nématodes/Copépodes. La granulométrie influençant la répartition du taxon des nématodes et des copépodes. (Rubal *et al.*, 2009) ont établie des valeurs seuils en fonction du milieu. Pour les stations sableuses $N/C > 20$

indique une pollution en MO, pour les stations influencées par les silts N/C>70. Dans cet indice les naupliis sont considérés comme des copépodes adultes et rentrent dans le calcul de celui-ci.

Tableau 6: Evolution du rapport nématodes sur copépodes (N/C) au sein des différentes stations intertidales. D1-D4 = stations de la Dordogne ; G1-G5= stations de la Garonne.

Le calcul a été réalisé sur les données brutes. La Garonne et la Dordogne possédant un taux supérieur à 85% de particules inférieure à 63µm nous utiliserons le N/C pour les stations vaseuses dont la limite non polluée est de 70. Quand copépodes = 0, N/C = 0.

	D1	D2	D3	D4	G1	G2	G3	G4	G5
Nématodes	106,85	204,16	359,33	81,85	94,80	1182,73	1936,61	387,76	651,09
Copépodes	1,56	5,90	20,88	2,61	1,28	55,92	10,01	6,32	14,09
N/C	68,38	34,60	17,21	31,41	73,99	21,15	193,46	61,38	46,22

Les stations de la Dordogne ne semblent pas impactées par une pollution organique au vu de cet indice (N/C < 70). On peut noter que le ratio N/C montre une pollution organique en Garonne pour les stations G1 (à part sur l'ACP) et G3. La station G1 est située à proximité d'une usine pétrolière. Une des hypothèses serait : le rejet de matière organique par celle-ci, ou d'une contamination directe ou indirecte au HAP ou résidus de HAP. La littérature nous apprend que les copépodes benthiques sont sensibles à une pollution d'origine pétrolière (Hedfi *et al.*, 2003) ce qui pourrait expliquer ici le ratio N/C>70. La station G3 est située au centre de Bordeaux hors chenaux de navigation ou l'hydrodynamisme est plus faible (vitesse de courant plus faible, sédimentation plus importante). On peut émettre l'hypothèse d'une sédimentation plus importante et d'un temps de résidence des particules plus long et de la création d'une zone localement hypoxique (Etchebert *et al.*, 2011). Il est intéressant de noter que la station G2 située en sortie de station d'épuration a un ratio N/C non pollué. Il n'y aurait pas de pollution organique à proximité de cette station d'épuration. Cet indice nous permet de spécifier que la Garonne se caractérise par des différentes répartitions méiofauniques au sein de ces stations. (Stations G1 et G3 probablement du fait de leur pollution). Pour les stations de la Dordogne cet indice ne nous indique de différence pas de répartition d'abondance particulière. Au vu de nos résultats les stations de la Dordogne sont plus influencées par les cycles de vie des différents taxons que par quelques stations isolées. Néanmoins, l'indice de la station D1 est proche du seuil limite elle est donc à surveiller.

L'indice N/C ci-dessus semble fonctionner pour notre étude, il serait intéressant de le développer et de le tester sur d'autres sites. Cet indice est peu coûteux et demande peu de connaissance taxonomique. Les résultats obtenus lors de cette étude ont été effectués sur une période de 11 mois, il faudrait un suivi à moyen long terme pour avoir une vision plus réaliste de la répartition de la méiofaune. Un des biais qui peut exister dans l'échantillonnage sur une année est d'échantillonner une année atypique.

Conclusion

Cette nouvelle étude apporte des connaissances nouvelles sur la dynamique ainsi que sur la richesse spécifique de la méiofaune très peu connue en système fluvio-estuarien et notamment en Gironde. Nous observons une différence de répartition des organismes au sein de la zone intertidale entre la Garonne et la Dordogne intertidale

Au sein de la zone intertidale, la Garonne est caractérisée principalement par le taxon des nématodes. Il faut également noter les taxons sont différemment répartis en Garonne qu'en Dordogne au vue des pourcentages d'abondance. Cette différence provient en partie de la présence importante des nématodes en Garonne 85% alors qu'ils sont présents à 50% en Dordogne. Nous pouvons alors émettre l'hypothèse que la relative stabilité d'abondance du taxon des nématodes en Garonne serait due à la forte concentration en élément nutritif, deux fois plus abondants qu'en Dordogne. Notre étude a permis de montrer que la méiofaune au sein de la Dordogne varié suivant un cycle saisonnier alors qu'en Garonne la variation des taxons meiofauniques et différente suivant les stations du fait qu'elles soient impactées ou non par des pollutions. La méiofaune semble être un bon indicateur de pollution. La zone subtidale quant à elle possède un faible taux d'élément nutritif de faible abondance d'organismes.

Cette étude a mis en évidence des variations en éléments nutritifs et granulométrie qui semblent expliquer les différentes répartitions de la méiofaune entre la zone intertidale et subtidale et au sein de chaque fleuve. Le rapport N/C nous indique un effet de la CUB sur l'assemblage meiofaunique de la Garonne grâce à la station G3.

Ce travail pourrait par la suite être intéressant à continuer en poussant la détermination taxonomique jusqu'à l'espèce afin d'avoir une meilleure vision de la diversité au sein de la méiofaune et en parallèle l'évolution de la macrofaune. De plus, certains taxons comme les rotifères peuvent être utilisés comme bio-indicateur de pollution organique et de qualité de l'eau du fait de leur écologie (Microscopie). La méiofaune faisant partie des premiers maillons du réseau trophique des expériences pourraient être menées afin de déterminer à quel seuil les impacts de pollution l'atteignent et ainsi simuler les conséquences possibles de ses fluctuations à long terme sur la faune secondaire à l'aide d'un modèle mathématiques

V. Bibliographies

Adao et al. (2008) Spacial distribution of subtidal nematoda communities along gradient in southern European Estuaries. *Continental Shelf Research* 31(2011)S36–S49

Alves, AS (Alves, Ana Sofia)1; Adao, H (Adao, Helena)1; Patricio, J (Patricio, Joana)2; Neto, JM (Magalhaes Neto, Joao)2; Costa, MJ (Costa, Maria Jose)3; Marques, JC (Marques, Joao Carlos)2(2009) Spatial distribution of subtidal meiobenthos along estuarine gradients in two southern European estuaries (Portugal)Source: *JOURNAL OF THE MARINE BIOLOGICAL*

Amjad S, Gray JS (1983) Use of the nematode-copepod ratio as an index of organic pollution. *Marine Pollution Bulletin* 14:178–181

Antajan Elvire (1997) Meiobenthos et épifaune associés aux herbiers de *Zostera noltii* dans la Bassin d’Arcachon : abondance saisonnière, effet du cycle et des courants de marée. Université de bordeaux 1.(Master2).

Australia, Gustavo, Fonseca, Hutchings, Gallucci (2010) Meiobenthic communities of seagrass beds (*Zostera capricorni*) and unvegetated sediments along the coast of New South Wales, a,ba Centro de Biologia Marinha da, Universidade de São Paulo

Blanchet MH (2004) Structure et fonctionnement des peuplements benthiques du Bassin d’Arcachon. Napier University thèse n°ordre : 2939.

Boet Philippe et al. (2009) L’estuaire de la Gironde face au changement global. ; colloque hydroécologie (Bordeaux1).

Bouchet H. (1976) Macrobenthos et meiofaune de l’estuaire de la Gironde. *Marine Pollution Bulletin*,16 :328-333.

Bouet Philippe et Al. (2009).L’estuaire de la Gironde face aux changements climatiques, colloque, Ifremer

Carman Kr et D. tristle (1985) Microbial food partitioning by tree species *Mar. Biol.*, Vol. 88, pp. 143-148., 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, Vol. 199, pp.

Castel Jacques (1985). Diversité spécifique et structure des peuplements meiofauniques d’un système lagunaire.,vol 6 n°4 p395-412,

Castel Jacques (1985) Importance des copépodes meiobenthiques lagunaires dans le régime alimentaire des formes juvéniles de poissons euryhalins., , bultin ecol. P. 169,176.

Castelnaud G, Rochard E, Gat Y Le (2001) Analyse de la tendance de l’abondance de l’alose *alosa alosa* en gironde à partir de l’estimation d’indicateurs halieutiques sur la période 1977-1998. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*:989–1015

Coull BC, Feller RJ (1988) Site-to-site variability in abundance of meiobenthic copepods along a tidal gradient over 24 hours. *Hydrobiologia* 167-168:477–483

Coull & Robert J. FellerBelle W. Baruch(1988) Site-to-site variability in abundance of meiobenthic copepods along atidal gradient over 24 hours’Bruce C Institute for Marine Biology and Coastal Research, Marine Science Program, andDepartment of Biology University of South Carolina Columbia, SC 29208,

David Valérie a,□, Sautour Benoît a, Galois Robert b, Chardy Pierre a(2005)The paradox high zooplankton biomass–low vegetal particulate organic matter in high turbidity zones:What way for energy transfer?a Laboratoire d’Océanographie Biologique, UMR 5805 Université Bordeaux 1–CNRS, 2 rue du Professeur Jolyet, 33120 Arcachon, France Centre de Recherche sur les Ecosystèmes Marins et Aquacoles de l’Houmeau, Place du Séminaire, BP 5, 17137 l’Houmeau, France Received 26 July 2005; received in revised form 15 September 2005; accepted 15 December 2005

Dos Santos P JP. (1995) Contribution a l’écologie du meiobenthos et du microbenthos dans la zone oligo-mésohaline de l’estuaire de la Gironde et dynamique de population et production secondaire du copépoide *Harpacticoides*.Thèse Université de Bordeaux 1.

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* 54:640–645

Elliotta M. and D. S. McLuskyb (2002) The Need for Definitions in Understanding Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (2002) 00, 000–000 doi:10.1006/ecss.2002.1031

Castel Jacques, Labourg Pierre-Jean, Escaravage Vincent, Auby Isabelle, Garcia Maria Elena (1989) Influence of seagrass beds and oyster parks on the abundance and biomass patterns of meio- and macrobenthos in tidal flats*Estuarine, Coastal and Shelf Science* Volume 28, Issue 1, Pages 71–85

Escaravage, V.; Garcia, M.E.; Castel, J. (1989). The distribution of meiofauna and its contribution to detritic pathways in tidal flats (Arcachon Bay, France), in: Ros, J.D. (Ed.) (1989). *Topics in Marine Biology: Proceedings of the 22nd European Marine Biology Symposium, Barcelona, Spain, August 1987*. Scientia Marina (Barcelona), 53(2-3): pp. 551-559

Etcheber Henri et Gonthier Paul Etude intégrée de l’effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE)., **Fonseca G, Hutchings P, Candido Vieira D, Gallucci F (2011)** Meiobenthic community underneath the carcass of a stingray: a snapshot after natural death. *Aquatic Biology* 13:27–33

Gerlach SA (1978) Food-chain relationships in subtidal silty sand marine sediments and the role of meiofauna in stimulating bacterial productivity. *Oecologia* 33:55–69

Germa'n J Rodr'iguez*, Mariano Lastra, Jesu's Lo'pez (2002) Meiofauna distribution along a gradient of sandy beaches in northern Spain Departamento de Ecología e Biología Animal, Facultad de Ciencias, Universidade de Vigo, 36200 Vigo,

Gouletquer (2008) changement climatique en milieu cotier et littoral Ifremer

Guinder, V. A.1*, Popovich, C. A.2 and Perillo, G. M. E.1 (2011) Phytoplankton and Physicochemical Analysis on the Water System of the Temperate Estuary in South America: Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Int. J. Environ. Res.*, 6(2):547-556, Spring 2012 ISSN: 1735-6865.

Hedfi Amor ., Mahmoudi E, Essid N., Beyrem H et. Aïssa P (2003) Distribution quantitative de la meiofaune dans un milieu fortement anthropisé : le vieux port de bizerte (tunisie). *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, Vol. 30, 2003

Hourston, M., Potter, IC ; Warwick, RM ; Valesini, FJ ; (2011) The characteristics of the nematode faunas in subtidal sediments of a large microtidal estuary and nearshore coastal waters differ markedly Author(s) Source: *ESTUARINE COASTAL AND SHELF SCIENCE* Volume: 94 Issue: 1 Pages: 68-76 DOI: 10.1016/j.ecss.2011.05.022

Irigoien X, Castel J (1997) Light Limitation and Distribution of Chlorophyll Pigments in a Highly Turbid Estuary: the Gironde (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44:507–517

Ingels J, Kiriakoulakis K, Wolff GA, Vanreusel A (2009) Nematode diversity and its relation to the quantity and quality of sedimentary organic matter in the deep Nazaré Canyon, Western Iberian Margin. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 56:1521–1539

Katarzyna Grzelak • Lech Kotwicki (2012) Meiofaunal distribution in Hornsund fjord, Spitsbergen. *Polar Biol* (2012) 35:269–280 DOI 10.1007/s00300-011-1071-5

Keller, M(1984) Effects of the Marseilles sewage discharge on meiobenthic populations [effets du deversement en mer du grand collecteur de l'agglomération marseillaise sur les populations meiobenthiques] *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Serie 3 Sciences de la Vie*, ISSN 0249-6313 ;Vol. No.. 299(19) p. 765-768

Lee et Correa J.A., Castilla J.C (2001) An assesment of potential use of the nematode to copepod ratio in the monitoring of metal pollution . *The chamonal case ..marine pollution bulletin vol42, no8, pp696701.*

Mauvais JL et. Guillaud JF (1994) Estuaire de la Gironde, livre blanc (Ifremer)

Maria a,b Tatiana F,*, Vanaverbeke Jan a M. Esteves, André b, De Troch a Marleen, Vanreusel Ann (2012) ScienceDirect.com - Estuarine, Coastal and Shelf Science - The importance of biological interactions for the vertical distribution of nematodes in a temperate ultra-dissipative sandy beach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 97 (2012) 114e126.

McLachlan (1977) Vertical and Horizontal Distribution of Sub-Littoral Meiofauna in Algoa Bay, South Africa, P.E.D. Winter and L. Botha Zoology Department, University of Port Elizabeth; Republic of South Africa 40, 35

McIntyre AD (1969) Ecology of marine meiobenthos- *Biological Reviews* -364 (1Spacial9sdqsdq77) *Biology* 40, 355-364 (1977)

Modéran J, Bouvais P, David V, Noc S Le, Simon-Bouhet B, Niquil N, Miramand P, Fichet D (2010) Zooplankton community structure in a highly turbid environment (Charente estuary, France): Spatio-temporal patterns and environmental control. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88:219–232

Montana A. et Al., (1994) Effet of production and biomass of intertidal microphytobenthos on meiofaunal grazing rates.. *Journal of experimental Marine Biologie and Ecology.*

Ouisse Vincent a,b Riera ,*, Pascal a,b, Migné Aline a,b, Leroux Cédric a,c, Davault Dominique (2011) Freshwater seepages and ephemeral macroalgae proliferation in an intertidal bay: I Effect on benthic community structure and food web. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 91 (2011) 272e281

Pasquaud S, Brind'Amour A, Berthelé O, Girardin M, Elie P, Boët P, Lepage M (2012) Impact of the sampling protocol in assessing ecological trends in an estuarine ecosystem: The empirical example of the Gironde estuary. *Ecological Indicators* 15:18–29

Ristau K, Faupel M, Traunspurger W (2012) The effects of nutrient enrichment on a freshwater meiofaunal assemblage. *Freshwater Biology* 57:824–834

Shiells GM, Anderson KJ (1985) Pollution monitoring using the nematode/copepod ratio A practical application. *Marine Pollution Bulletin* 16:62–68

Sottolichio Aldo, Hurther David , Gratiot Nicolas , Bretel Patrice (2011) Acoustic turbulence measurement so fnear-bed suspended sediment dynamics in highly turbid water so fa macrotidal estuary. *Continental Shelf Research* 31(2011)S36–S49

Watzin MC (1983) The effects of meiofauna on settling macrofauna: meiofauna may structure macrofaunal communities. *Oecologia* 59:163–166

Résumé

L'impact du changement climatique s'observe depuis quelques années par des phénomènes de marinisation des estuaires. C'est dans le cadre de la protection et de la compréhension des changements en cours au sein des estuaires que s'inscrit le programme ETIAGE (**Etude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne**) dans lequel s'inscrit ce stage. Nous allons étudier la répartition de la méiofaune dans l'estuaire fluviale de la Gironde (Garonne et Dordogne). La Dordogne étant considéré comme non impacté tandis que la Garonne est considéré comme potentiellement impactée par la CUB (Communauté Urbaine de Bordeaux). Cette nouvelle étude apporte des connaissances nouvelles sur la dynamique et les abondances des différents de la méiofaune très peu connue en système fluvio-estuarien. Cette étude a mis en évidence des variations en éléments nutritifs et granulométrie qui semblent expliquer les différentes répartitions de la méiofaune entre la zone intertidale et subtidale et au sein de chaque fleuve. Le rapport N/C nous indique un effet de la CUB sur l'assemblage meiofaunique de la Garonne grâce à la station G3.

Abstract

The impact of climate change has occurred in recent years by phenomena of marinization estuaries. In the context of protection and understanding of current changes within estuaries that fits the program ETIAGE (**Etude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne**). In which is part of the training course. We studied the distribution of meiofauna in the estuary of the Gironde river (Garonne and Dordogne). The Dordogne is considered like not impacted by pollutant while the Garonne is considered potentially impacted by the CUB (Urban Community of Bordeaux). This new study provides new knowledge on the dynamics and on species richness of meiofauna little known river-estuarine system. This study revealed variations in nutrients and particle size that seem to explain the different distributions of meiofauna from intertidal and subtidal and within each river. The N / C ratio tells us the effect of the CUB's on the assembly of the Garonne meiofaunique through the station G3..

Annexes

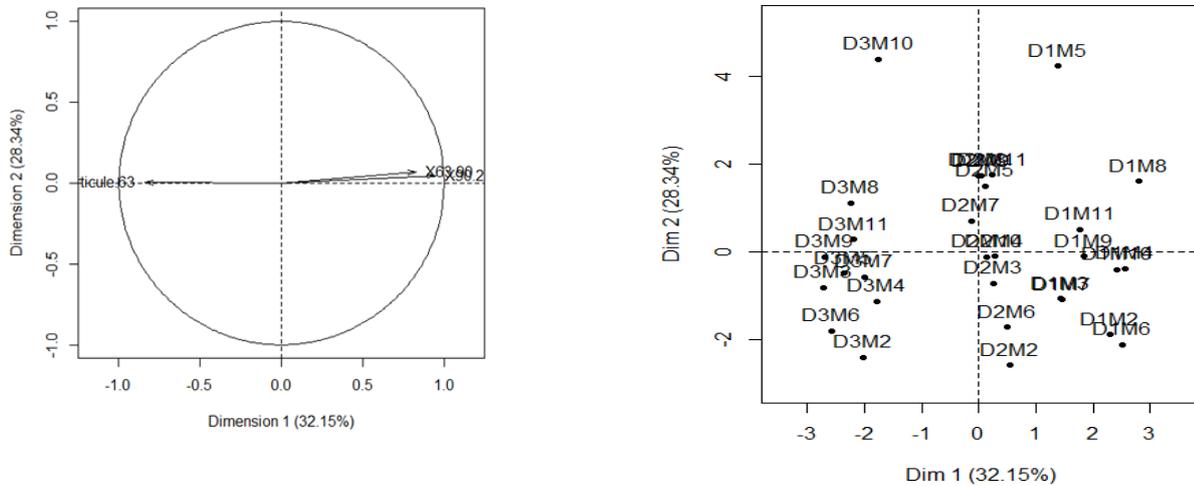


Figure 31: ACP des données faunistiques de la zone Dordogne sans la station D4 durant l'année 2011, A : Cercle de corrélation de l'ACP ; B : plan de l'ACP, copépodes, nauplii, nématodes.

Tableau 1: Amplitude d'abondance des taxons majoritaires Garonne (2011).

Taxons majoritaires	Variations d'abondance/10cm ²
Nématodes	10,5 < X < 683
Foraminifères	3 < X < 27
Nauplii	0 < X < 19
Oligochètes	0 < X < 30
Rotifères	0 < X < 99

Tableau 2: Amplitude d'abondance des taxons majoritaires Garonne (2011).

Figure 32: Evolution temporelle des taxons les moins abondants au sein de la zone intertidale de la Dordogne (2011)

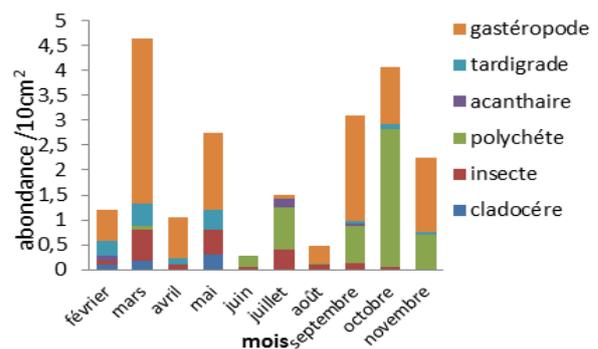


Figure 33: Evolution temporelle de l'abondance des taxons les moins représentés au sein de la zone intertidale de la Garonne (2011).

Taxons majoritaires	Variations d'abondance/10cm ²
Nématodes	12<X<1639
Naupliis	0<X<330
Copépodes	0<X<209
Oligochètes	0,88<X<27
Foraminifères	1,7<X<15
Rotifères	0<X<13

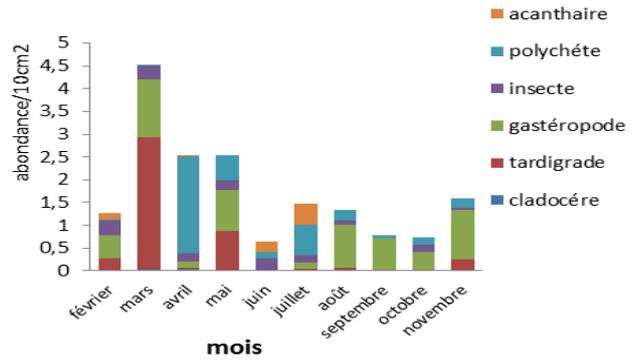
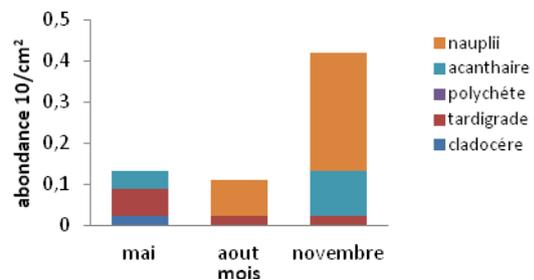


Tableau 3: Amplitude d'abondance des taxons majoritaires Garonne (2011).

Taxons majoritaires	Variations d'abondance/10cm ²
Nématodes	3<X<32
Foraminifères	1,5<X<18
Gastéropodes	0<X<4
Oligochètes	0<X<4
Rotifères	0<X<2
Insectes	0<X<2
Copépodes	0<X<1,6

Figure 34 : Evolution temporelle de l'abondance des taxons les moins représentés au sein de la zone subtidale (2011).



Annexe 12

**Variabilité de la production zooplanctonique en estuaire fluvial :
impact des caractéristiques environnementales.**

Rapport M2, FDEA, Université Bordeaux 1.

Touccoulet M. (2012).

*Mesure de la production somatique
chez Eurytemora affinis (copépode)*

Rapport de stage de master 2 FDEA

TOUCOULLET Matthieu



UMR CNRS 5805 EPOC - OASU
Station Marine d'Arcachon
Université Bordeaux 1
Place du Docteur Bertrand Peyneau
33120 ARCACHON CEDEX
FRANCE

Maître de stage :
Prof. SAUTOUR Benoit
DUCHENE Jean-Claude
DINDINAUD François

Remerciements

Je commencerais par remercier Frédéric Garabetian, pour son accueil au sein de la station marine et donc sans qui rien n'aurait été possible.

Je tiens à remercier particulièrement mes maîtres de stage, le Professeur SAUTOUR Benoit, DUCHENE Jean-Claude et DINDINAUD François, de m'avoir accueillis, aidés et motivés pendant ce stage, ainsi que d'avoir pris de leur temps. Merci pour leur écoute nécessaire pour l'avancement du travail, et leurs précieux conseils qui m'ont permis de m'améliorer dans le domaine du laboratoire.

Je remercie également Gaëlle PAULIAC et Michel PARRA pour l'aide et les conseils qu'ils ont pu m'apporter au cours de mes travaux dans le labo 3, leur disponibilités pour que mon travail s'effectue dans les meilleurs conditions possibles, leurs bonnes humeurs quotidiennes et les moments de franches rigolades.

Enfin, je remercie tout le personnel de la station Marine d'Arcachon pour son accueil, sa sympathie et pour les bons moments passés durant les pauses déjeuner.

De plus, je remercie Emilie (dit mamie), Aurélie (dit oupette nenette) et Ludovic (dit Ludo) et Alexandre (dit Alex), les autres stagiaires du bureau Master, pour les moments passés et pour l'entraide qui a eu lieu durant ces 6 mois et nous a permis de créer de réels liens

Ce fut une expérience professionnelle mais également humaines uniques, et qui restera gravée pendant très longtemps, grâce aux personnes que j'ai pu côtoyer et au travail fourni tout au long de ce stage, et les moments passés tous ensembles.

Comme on dit chez moi au Pays Basque, **Milesker deneri** !! (Merci à tous)

Sommaire

I-	INTRODUCTION.....	1
II-	MATERIEL ET METHODES	3
1)	ZONE D'ETUDE :	3
a)	Estuaire de la Gironde	3
b)	L'estuaire fluvial.....	4
2)	MESURES DE PRODUCTION	4
a)	Principe de la méthode.....	4
b)	Mise en place expérimentale.....	5
•	Echantillonnage :	5
•	Création de deux lots.....	6
•	Incubation.....	6
3)	ANALYSE DES ECHANTILLONS :	7
a)	Mesure taille.....	7
b)	Mesure Poids	9
c)	Calcul des poids individuels moyen à T0 et T1.....	9
d)	Calculs production/productivité	10
4)	ANALYSE STATISTIQUE :	10
III-	RESULTATS.....	10
1)	VALIDITE DES INCUBATIONS SI MISE EN EVIDENCE D'UNE CROISSANCE	10
2)	EVOLUTION TEMPORELLE DE LA TAILLE MOYENNE D' <i>E.AFFINIS</i>	12
3)	EVOLUTION TEMPORELLE DU POIDS SEC MOYEN D' <i>E.AFFINIS</i>	13
4)	RELATIONS TAILLE-POIDS	14
	UNE EQUATION DE LA FORME $\text{LOG}_{10} \text{POIDS} = A * \text{LOG}_{10} \text{LONGUEUR} + B$ PERMET D'OBTENIR LA BIOMASSE INDIVIDUELLE MOYENNE, NECESSAIRE AU CALCUL DE POIDS INDIVIDUELS DES ORGANISMES A PARTIR DES TAILLES MESUREES SUR LES ORGANISMES INCUBES.	14
5)	EVOLUTION TEMPORELLE DU TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE D' <i>E.AFFINIS</i>	15
6)	EVOLUTION TEMPORELLE DE LA PRODUCTION ET DE LA PRODUCTIVITE.....	16
a)	Production	16
b)	Productivité	17
7)	RELATIONS DONNEES BIOLOGIQUES-ENVIRONNEMENTALES	18
IV-	DISCUSSION	19
1)	EVOLUTION TEMPORELLE DE LA TAILLE MOYENNE DU CEPHALOTHORAX D' <i>E.AFFINIS</i>	19
2)	EVOLUTION TEMPORELLE DU POIDS SEC MOYEN D' <i>E.AFFINIS</i>	21
3)	EVOLUTION TEMPORELLE DU TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE D' <i>E.AFFINIS</i>	21
4)	EVOLUTION TEMPORELLE DE LA PRODUCTION D' <i>E.AFFINIS</i>	22
5)	EVOLUTION TEMPORELLE DE LA PRODUCTIVITE D' <i>E.AFFINIS</i>	22
V-	CONCLUSION	23
VI-	BIBLIOGRAPHIE.....	24

Table des illustrations

FIGURE 1 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE : SCHEMA DES DIFFERENTES SUBDIVISIONS EN RELATION AVEC LA SALINITE DES MASSES D'EAU	3
FIGURE 2 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. ESTUAIRE FLUVIAL (ENCADRE) AVEC BACALAN (G2) ET CUBZAC-LES-PONTS (D2) (SOURCE : GOOGLE EARTH)	4
FIGURE 3 : SCHEMA DE L'ETAPE DE COLLECTE ET CREATION DE LOTS DES PRELEVEMENTS ZOOPLANCTONIQUE POUR DETERMINER LA PRODUCTION : <i>EURYTEMORA AFFINIS</i> (E.A)	6
FIGURE 4 : SCHEMA DE L'ETAPE D'INCUBATION (RECTANGLE ROUGE)	7
FIGURE 5 : VUE DU LOGICIEL UTILISE	9
FIGURE 6 : FREQUENCE D' <i>E.AFFINIS</i> EN FONCTION DE LA TAILLE (D2, MJ, MAI 2011, LOT 200-250 μ M).....	11
FIGURE 7 : FREQUENCE D' <i>E.AFFINIS</i> EN FONCTION DE LA TAILLE (G2, PM, JUIN 2011, LOT 200-250 μ M).....	11
FIGURE 8 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA TAILLE MOYENNE DU CEPHALOTHORAX (μ M) CHEZ <i>E.AFFINIS</i> DANS LA DORDOGNE A CUBZAC-LES-PONTS (D2) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	12
FIGURE 9 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA TAILLE MOYENNE DU CEPHALOTHORAX (μ M) CHEZ <i>E.AFFINIS</i> DANS LA GARONNE A BACALAN (G2) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	12
FIGURE 10 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DU POIDS SEC MOYEN (μ GC) D' <i>E.AFFINIS</i> A CUBZAC-LES-PONTS (DORDOGNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	13
FIGURE 11 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DU POIDS SEC MOYEN (μ GC) D' <i>E.AFFINIS</i> A BACALAN (GARONNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM).....	13
FIGURE 12 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : RELATION D'ALLOMETRIE (TAILLE/POIDS) D' <i>E.AFFINIS</i> : LOGARITHME DECIMAL DU POIDS EN FONCTION DU LOGARITHME DECIMAL DE LA TAILLE DU CEPHALOTHORAX (DORDOGNE, T0, MF, MAI 2011, LOT 200-250 μ M).....	14
FIGURE 13 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : RELATION D'ALLOMETRIE (TAILLE/POIDS) CHEZ <i>E.AFFINIS</i> : LOGARITHME DECIMAL DU POIDS EN FONCTION DU LOGARITHME DECIMAL DE LA TAILLE CEPHALOTHORACIQUE (GARONNE, T0, PM, JUIN 2011, LOT 200-250 μ M).....	14
FIGURE 14 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DU TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE (J^{-1}) D' <i>E.AFFINIS</i> A CUBZAC-LES-PONTS (DORDOGNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	15
FIGURE 15 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DU TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE (J^{-1}) D' <i>E.AFFINIS</i> A BACALAN (GARONNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	15
FIGURE 16 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA PRODUCTION (μ GC/M ³ /J) CHEZ <i>E.AFFINIS</i> : CUBZAC-LES-PONTS (DORDOGNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	16
FIGURE 17 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA PRODUCTION (μ GC/M ³ /J) D' <i>E.AFFINIS</i> A BACALAN (GARONNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM).....	16
FIGURE 18 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA PRODUCTIVITE (J^{-1}) D' <i>E.AFFINIS</i> A CUBZAC-LES-PONTS (DORDOGNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM)	17
FIGURE 19 : ESTUAIRE DE LA GIRONDE. <i>E.AFFINIS</i> : EVOLUTION DE LA PRODUCTIVITE (J^{-1}) D' <i>E.AFFINIS</i> A BACALAN (GARONNE) DES MOIS DE MARS A JUILLET 2011 EN MI-FLOT (MF), MI-JUSANT (MJ), PLEINE MER (PM), BASSE MER (BM).....	17
FIGURE 20 : ACP REALISEES SUR LES DONNEES BIOLOGIQUES + ENVIRONNEMENTALES (CERCLE DE CORRELATION (20A) + PLAN (20B)) : LES OBSERVATIONS SONT NOTEES DU TYPE SITE.MOIS.MOMENT DE MAREE. LES VARIABLES SONT : LA TAILLE MOYENNE DU CEPHALOTHORAX (TAILLE), LE POIDS SEC MOYEN (POIDS), LA PRODUCTION ET LA PRODUCTIVITE ; LES MATIERES EN SUSPENSION (MES), LA TEMPERATURE, CHLOROPHYLLE B (CHL) ET PHEOPIGMENT C (PHEC)	18
TABLEAU 1 : TABLEAU RECAPITULATIF DES TAILLES CEPHALOTHORACIQUES MOYENNES ET DES POIDS SEC INDIVIDUELS MOYENS DE MARS A JUILLET 2011 EN DORDOGNE (D2) ET GARONNE (G2) : LES 4 MOMENTS DE MAREES SONT MOYENNES	14
TABLEAU 2 : RECAPITULATIF DE L'ABONDANCE, DU TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE, DE LA PRODUCTION ET DE LA PRODUCTIVITE DE MARS A JUILLET 2011 EN DORDOGNE (D2) ET EN GARONNE (G2) : LES 4 MOMENTS DE MAREES SONT MOYENNES	18
TABLEAU 3 : COMPARAISON DE LA PRODUCTIVITE SELON PLUSIEURS ETUDES	23
TABLEAU 4 : TABLEAU RECAPITULATIF DES A, B ET R ² EN DORDOGNE (D2) ET GARONNE (G2), DE MARS ET JUILLET 2011.....	25 ANNEXE

Abréviations

MES : Matières En Suspension

Chlo a : Chlorophylle a

Chlo b : Chlorophylle b

Chlo c : Chlorophylle c

D2 : Site d'étude de Cubzac-les-ponts

G2 : Site d'étude de Bacalan

ZMT : Zone Maximum de Turbidité

Glossaire

Mésozooplancton : Organismes de plus de 200 μm et de moins de 10 mm, récoltés sur des tissus à maille de 200 μm .

Métazoaire : Terme qui regroupe tous les animaux pluricellulaires, en opposition aux protozoaires (organismes unicellulaires tels que les levures).

Production primaire : Désigne en écologie la production de matière organique végétale (biomasse), issue de la photosynthèse, par des organismes autotrophes, dits producteurs primaires. Elle traduit la vitesse à laquelle se forme, par unité de temps, une quantité donnée de matière organique, à partir de la matière minérale et d'un apport d'énergie.

I- Introduction

Depuis un certain nombre d'années, la connaissance de notre environnement s'est orienté, outre la compréhension de son fonctionnement, vers ses potentiels d'utilisation, ou sa préservation. En effet, les modifications récentes des systèmes littoraux, principalement dues aux activités anthropiques (Costil *et al.*, 1999), montrent que ceux-ci sont notoirement impactés en réponses au changement global dont l'augmentation des températures (Le Treut, 2007 ; Beaugrand and Goberville, 2010). Il est donc nécessaire de pouvoir prédire les possibles avenir des différents milieux pour ainsi pouvoir s'adapter et réaliser les actions essentielles dans le but de les protéger. Parmi ces milieux fortement impactés par les activités anthropiques, le domaine aquatique et entre autre les estuaires (Wilson 2002 ; Goberville et al., 2010), sont une des cibles qu'il est important d'étudier. Les estuaires sont des milieux, écologiquement contrastés, d'une grande importance, tant pour leurs rôles d'interface (Pritchard, 1967 ; Perillo, 1995), que de nourricerie (Beck et al., 2001), ou encore zone d'intérêt commerciale ou patrimoniale. Ce sont des systèmes complexes et sensibles en raison de fortes contraintes physico-chimiques (e.g. concentrations en contaminants et aménagements importants : Heip, 1995 ; Costil *et al.*, 1999). Ils sont souvent le siège d'une forte production biologique soutenue par un secteur zooplanctonique bien développé.

Dans l'estuaire de la Gironde, la production primaire* est très réduite en raison de la faible pénétration de la lumière car les teneurs en MES* sont importantes (Irigoiien and Castel, 1997). Concernant les espèces planctoniques, 5 espèces sont dominantes (Sautour and Castel, 1995 ; David *et al.*, 2005) :

- les copépodes : *Eurytemora affinis*, *Acartia bifilosa* et *Acartia tonsa*
- les mysidacés : *Neomysis integer* et *Mesopodopsis slabberi*

Localisée au niveau de la zone de maximum de turbidité (ZMT : Peitsch, 1995 ; Sautour and Castel, 1995 ; Mouny and Dauvin, 2002), *E. affinis* est l'espèce dominante.

Elle peut tolérer une salinité allant de 0 à 40 ‰ ; elle domine généralement en zone mésohaline (Feurtet and Castel, 1988 ; Costil and Dauvin, 1999). Son optimum de température se situe aux alentours de 15°C (Poli, 1981 ; David *et al.*, 2006). Cette espèce se nourrit principalement d'algues, de bactéries et de débris organique (Roman *et al.*, 2001). Elle est donc un maillon et un représentant essentiel à ce milieu via le fonctionnement du réseau trophique (Mouny, 1998). Son cycle de vie, court, la rend sensible aux changements rapides de l'environnement, et en fait un bon bio-indicateur (Soussi *et al.*, 2005). Récemment il a été observé que dans la partie oligo-mésohaline

des estuaires, le copépode *E. affinis* domine fortement la communauté zooplanctonique, pouvant représenter plus de 90% de densité (Mouny and Dauvin, 2002).

Dans l'estuaire Girondin, son maximum de production s'effectue au printemps (Feurtet, 1989). Or, dans cet estuaire, *E. affinis* fait face à des conditions de vie très défavorables pour de nombreux organismes (du fait de la très forte variation de la concentration en matière en suspension (MES), salinité, température etc...), l'obligeant notamment à des adaptations de ses dépenses énergétiques en relation avec les processus métaboliques (augmentation de la température, osmorégulation : Feurtet and Castel, 1988). Outre des conséquences d'ordre métabolique, les effets de ces modifications peuvent aussi être d'ordre morphométrique reflétant l'influence de facteurs externes tels que la température ou la nourriture (Crawford et Daborn, 1986).

A ces différentes contraintes naturelles se superposent celles associées aux changements globaux notamment l'augmentation de températures, la baisse des débits etc,... (Le Treut, 2007 ; Beaugrand and Goberville, 2010), impactant les systèmes littoraux. Du fait de ces changements climatiques, il tend à coloniser la partie amont de l'estuaire (David *et al.*, 2005) suivant la ZMT ajoutant de nouvelles difficultés. En période estivale dans la partie amont de la Gironde, ces problèmes sont notamment une augmentation des températures, une diminution des débits, une remontée vers l'amont du bouchon vaseux et une sous-oxygénation locale des eaux dans la partie fluviale de l'estuaire, pouvant engendrer des phénomènes épisodiques d'anoxie et de blocages migratoires des communautés biologiques (Etcheber *et al.*, 2011).

Afin d'établir un état des lieux des conditions environnementales dans cette zone affectée par l'essor démographique de la zone du Bassin Adour-Garonne, et d'avoir un référentiel écologique permettant d'identifier ultérieurement une possible évolution du milieu, un programme nommé **ETude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne (ETIAGE)** se déroulant sur 4 années (2010-2013) a été lancé. Dans ce programme, quatre axes de recherches sont abordés (I : rôle des apports organiques ; II : contaminants organiques ; III : métaux ; IV : cortèges biologiques).

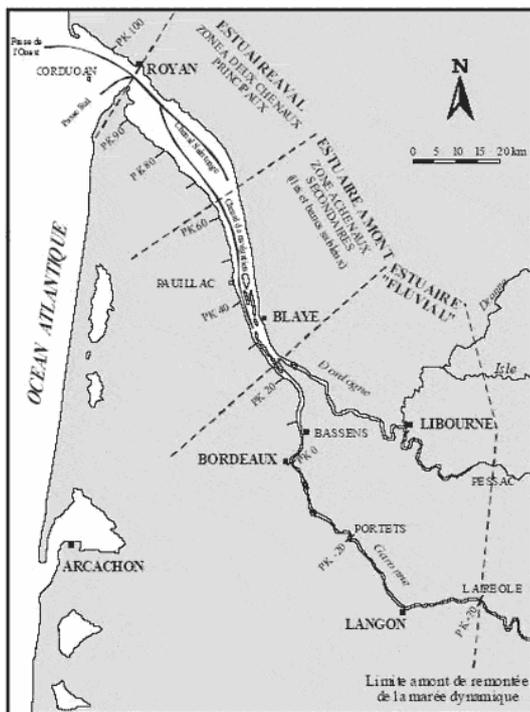
Dans notre étude un focus est fait sur l'axe 4 concernant l'impact des conditions physico-chimiques affectant la masse d'eau estuarienne garonnaise sur les cortèges biologiques. L'objectif spécifique est d'identifier les caractéristiques actuelles des communautés et leurs éventuelles réponses aux perturbations.

Ce stage a été réalisé dans ce contexte, avec pour objectif la caractérisation de la production somatique de l'espèce *E. affinis*. La production est utilisée ici comme un indicateur de la qualité du développement de l'espèce dans le milieu et donc indirectement un indicateur de la qualité du milieu. Cette production a été caractérisée dans 2 milieux différents, notamment concernant les apports et impacts anthropiques (Garonne et Dordogne, cette dernière étant utilisée ici comme témoin d'un milieu subissant peu l'influence urbaine en comparaison de la Garonne). L'objectif spécifique consiste à caractériser la variabilité saisonnière de la production et à définir les conditions environnementales influant celle-ci.

II- Matériel et Méthodes

1) Zone d'étude :

a) *Estuaire de la Gironde*



- **Figure 1 : Estuaire de la Gironde :**
Schéma des différentes subdivisions en relation avec la salinité des masses d'eau

L'estuaire de la Gironde, avec ses 625 km² de superficie et une influence marine qui s'exerce à plus de 150 km en amont de l'embouchure, est l'estuaire macrotidal le plus grand d'Europe (Perillo, 1995, Salomon, 2002 ; Pasquaud, 2006). Deux fleuves se rencontrent au niveau de l'estuaire de la Gironde, la Dordogne et la Garonne, se rejoignant au niveau du bec d'Ambés.

Il peut être fractionné en 3 parties distinctes (figure 1). L'estuaire aval situé de l'embouchure jusqu'au niveau de Saint-Christoly ; l'estuaire amont, situé de Saint-Christoly au bec d'Ambés est la limite de « l'estuaire marin » (intrusion haline). La troisième section, appelée estuaire fluvial, est la partie dessalée de l'estuaire ou l'effet de la marée dynamique est encore perceptible ; les limites amont correspondent aux villes de Castillon-la-Bataille (Dordogne) et Casseuil (Garonne) (Pasquaud, 2006).

b) L'estuaire fluvial



Figure 2 : Estuaire de la Gironde. Estuaire fluvial (encadré) avec Bacalan (G2) et Cubzac-les-pons (D2) (source : Google earth)

D2 : 44°57'55.75"N, 0°27'39.82"O) et un sur la Garonne (Bacalan, point G2 : 44°51'51.31"N, 0°32'45.62"O).

2) Mesures de production

L'objectif de ce stage est de caractériser la production chez l'espèce *Eurytemora affinis* et sa variabilité durant l'année, tout en définissant les conditions environnementales qui peuvent influencer cette production. Les 2 sites d'étude, à Bacalan sur la Garonne et à Cubzac-les-pons sur la Dordogne, ont été échantillonnés suivant un protocole permettant d'obtenir les mesures de production souhaitées pendant un cycle annuel (périodicité : 1 mois). La période traitée durant ce stage correspond à la période de production d'*E.affinis* : les mois de mars, avril, mai, juin et juillet 2011.

a) *Principe de la méthode*

La méthode de production consiste à mesurer une quantité de matière produite (gain de poids pour une espèce donnée) dans un volume d'eau donné par unité de temps. Elle est le reflet, dans un laps de temps court, de ce qui se déroule dans le milieu. Les expérimentations ont été mises en place, *in situ*.

En comparaison avec un travail fait il y a une vingtaine d'années situé plus en aval sur l'estuaire (Castel and Feurtet, 1989), mais également avec une étude réalisée récemment dans l'estuaire de la Seine (Mouny, 1998), ce stage consiste en un travail sur la production somatique chez ce copépode et non sur la production gonadique de l'espèce du fait des problèmes actuels liés au taux de fécondité de l'espèce (David *et al.*, 2006).

b) Mise en place expérimentale

Afin d'avoir une estimation de la quantité de matière produite par *E.affinis*, à partir d'une quantification de la production somatique, différentes étapes doivent être respectées : **(i) Echantillonnage** d'*E.affinis* ; **(ii) Création de lots** d'organismes afin d'homogénéiser en gamme de taille nos prélèvements pour établir des relations d'allométrie (ici, taille/poids) ; **(iii) Incubation** afin de pouvoir mesurer une quantité de matière produite dans un volume d'eau du milieu par unité de temps ; **(iv) Analyse** des échantillons pour mesurer l'évolution de la taille et de la biomasse entre TO et T1 ; **(v) intégration** des résultats aux données de terrain pour évaluer la production *in-situ*.

- *Echantillonnage :*

N'ayant pas participé à l'échantillonnage, je présente succinctement ici la stratégie ayant permis l'acquisition des échantillons ou des données terrain et je développerai de manière plus précise les méthodes d'analyse des échantillons zooplanctoniques (je développe néanmoins la partie concernant la mise en place des incubations de production indispensable à la compréhension des analyses et calculs que j'ai réalisés).

L'échantillonnage permettant d'estimer la production a été effectué de mars à juillet 2011 (thèse François DINDINAUD). Chaque mois, il a été réalisé sur les 2 sites (D2 et G2), sur 4 masses d'eaux distinctes (cycle tidaux : mi-flot (MF), pleine-mer (PM), mi-jusant (MJ), basse-mer (BM)), permettant d'avoir une estimation relativement intégrée de la production et des conditions environnementales.

Lors de chaque échantillonnage, 2 prélèvements zooplanctoniques ont été réalisés :

- l'un pour déterminer les abondances de la communauté zooplanctonique (prélèvement à la moto-pompe, filet de 63 μm) ; ces échantillons ont été formolés en attente de leur traitement au laboratoire ;

- l'autre pour déterminer les taux de production instantanés (filet WP2 de 200 μm de vide de maille, 0,25m² d'ouverture, 2,32 m de long : Figure 3 ; échantillon ①) ; les échantillons ainsi prélevés ont été traités sur place pour mettre en place les incubations ; ils ont été filtrés sur tamis de 500 μm pour éliminer les débris, les prédateurs. [Échantillon ②].

En parallèle, la température, la conductivité, le COP et NOP, la concentration des matières en suspension (MES), et la concentration en chlorophylles *a*, *b* et *c* ainsi que phéopigments ont été mesurés afin d'avoir un lot de paramètres descripteurs de la qualité du milieu.

- *Création de deux lots*

Pour chaque échantillonnage (i.e. pour chaque masse d'eau échantillonnée), à partir de l'échantillon ②, 2 gammes de tailles ont été séparées afin d'obtenir un lot contenant les plus petits individus (représentatif des jeunes stades copépodites), et le second lot comprenant les plus grands individus (représentatif des stades les plus avancés). Pour ce faire, les prélèvements ont été passés à travers d'une succession de 3 tamis :

- 315 μm , supprimant les plus petits prédateurs d'*E.affinis* pouvant être présents. ③
- 250 μm , permettant d'obtenir ainsi un premier lot avec les copépodes de tailles les plus grandes (lot nommé 250-315 μm). ④
- 200 μm , permettant d'obtenir ainsi un second lot avec les copépodes de tailles les plus petites (lot nommé 200-250 μm). ⑤

Cette opération a été faite en prenant soin de maintenir en permanence les organismes sous l'eau afin d'éviter de les endommager.

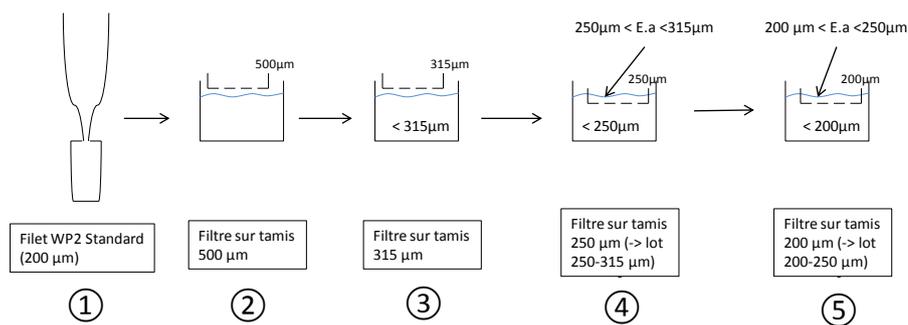


Figure 3 : Schéma de l'étape de collecte et création de lots des prélèvements zooplanctonique pour déterminer la production : *Eurytemora affinis* (E.a)

- *Incubation*

Après avoir séparé les prélèvements en 2 lots de tailles, une partie aliquote de chacun des lots a été formolée avant-incubation afin d'obtenir un T0 (tailles et poids). Une autre partie aliquote a été incubée. Pour ce faire, de l'eau du milieu préalablement filtrée avec un tamis de 63 μm (permettant d'éliminer l'ensemble des métazoaires (e.g. *E. affinis*, ou prédateurs ; ainsi que les plus « gros » débris), comportant toujours la communauté de micro-organismes constituant le pool nutritif d'*E. affinis*, a été utilisée dans des incubateurs (bouteilles Nalgène translucides de 2 L). Après avoir placé une quantité de copépodes dans les incubateurs représentative de ce qui est trouvé dans le milieu, ceux-ci ont été mis en incubation pendant 24 heures *in-situ*.. A T=24h (T1), le contenu de l'ensemble des incubateurs a été tamisé sur un vide de maille de 200 μm pour récupérer les organismes. Ces organismes représentant T1 ont été formolés dans des flacons pour leur analyse

ultérieure en laboratoire. Pour chaque masse d'eau caractérisée, et pour chaque gamme de taille, 3 réplicats d'incubation ont été réalisés aux deux sites étudiés (Figure 4).

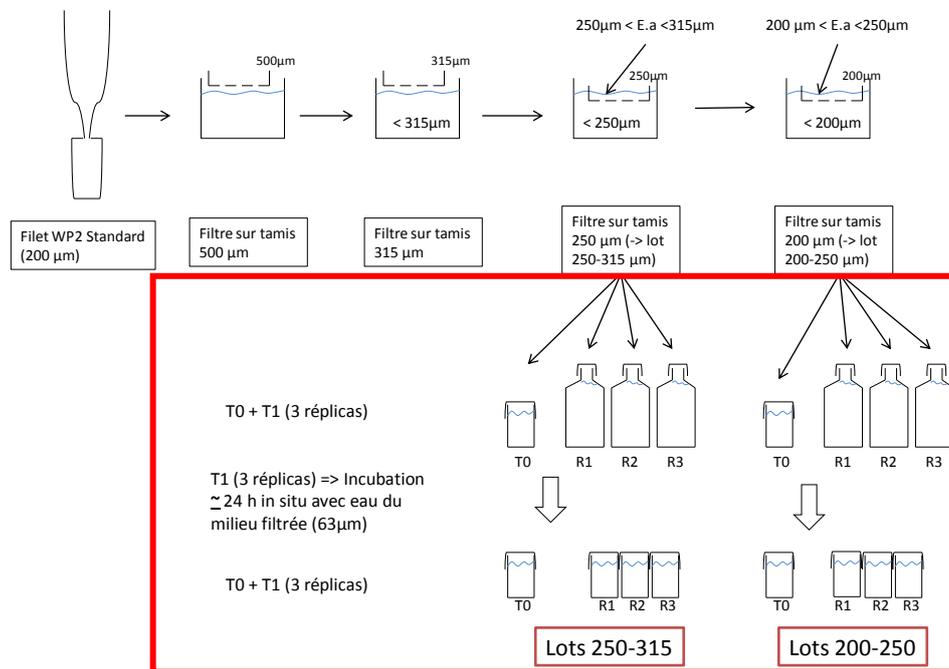


Figure 4 : schéma de l'étape d'incubation (Rectangle rouge)

3) Analyse des échantillons :

a) *Mesure taille*

Dans le cadre de mon travail, deux approches différentes ont été utilisées : une approche « manuelle » et une approche automatisée. L'approche consiste en une mesure du céphalothorax. En effet, la mesure de la taille céphalothoracique chez l'espèce *E.affinis*, nécessaire au calcul de production, est habituellement réalisée de cette manière (Burkill et Kendall, 1982 ; Feurtet, 1989). Les échantillons du mois de Mai ont été traités à l'aide d'un micromètre oculaire (période de mise au point de la méthode automatisée). Les échantillons du mois de Mai ont été traités de cette manière, accompagnée d'une analyse automatisée, basée sur des techniques d'analyse d'image. Une comparaison a ensuite été faite entre les 2 approches nécessaire à l'intercalibration des méthodes (erreur maximale entre les 2 méthodes= 1%). Les mois de Mars, Avril, Mai, Juin et Juillet ont été traités par analyse d'image.

Principe de l'approche automatisée

L'approche automatisée est basée sur l'acquisition d'images et leur traitement. Le matériel utilisé est une caméra couleur (sony modèle Exwave HAD) montée sur une loupe binoculaire (Leica modèle MZ6, grossissement 10*1,6). Un outil logiciel a été développé dans le cadre de ce travail,

par Jean-Claude DUCHENE (Station Marine d'Arcachon), de manière à automatiser et optimiser les mesures. Ce logiciel permet d'extraire et de séparer les individus *E. affinis* présents sur les images parmi un lot d'objets divers (autres organismes, détritiques, etc...). La mesure de taille a été faite ensuite automatiquement sur les « objets » *E. affinis*, chaque image en comportant une vingtaine (=gain de temps pour les mesures). La mesure de taille se fait sur les images archivées. La prise d'une dizaine d'images par échantillon a été faite pour obtenir un total de cent individus photographiés.

L'acquisition des données de taille se fait en 2 étapes :

1 – **l'acquisition d'images** sur binoculaire et leur stockage dans une base de données (cette base de données est compatible avec le logiciel Access, de la suite Microsoft Office). La prise de photos se fait sur une fenêtre de visualisation temps réel, permettant ainsi un travail en direct (position des organismes, luminosité,...). Une fiche d'information est créée pour chaque image et stockée sur la base avec un identifiant Station, date, localisation, taille réelle des images sources.

2 - **L'analyse et le traitement** des photos ainsi prises se font dans un second temps. La détection par le logiciel des objets à analyser (*E.affinis*) nécessite un apprentissage du logiciel. En effet, grâce à divers paramètres et codes informatiques, ainsi qu'une différence de contraste entre les objets à analyser et le fond de l'image, les objets *E.affinis* sont différenciés par le logiciel des autres objets présents. Grâce à cette détection, le traitement de l'objet est alors possible. Chaque mesure de taille (longueur céphalothoracique) est faite et accessible indépendamment puis stockée sur la base en temps réel. Grâce à une calibration préalable réalisée pour chaque lot d'images (micromètre objectif), ces mesures sont converties en millimètres.

Pour chaque *E.affinis* mesuré, les identifiants (Station, date, localisation, taille réelle des images sources) sont indiqués dans la base de données, permettant ainsi une éventuelle re-analyse des objets.

Pour chaque échantillon (i.e. chaque réplique, de chaque incubation traitée) la mesure céphalothoracique de 100 individus a ainsi pu être réalisée.

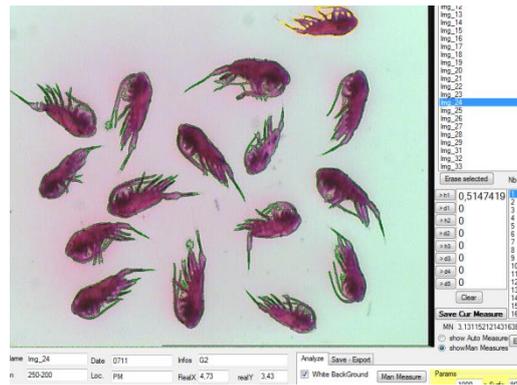


Figure 5 : Vue du logiciel utilisé

b) Mesure Poids

Tout comme la mesure de taille céphalothoracique, la mesure du poids individuel est nécessaire afin d'établir une relation d'allométrie taille-poids permettant ultérieurement de passer d'une taille mesurée à un poids. Pour ce faire, les copépodes sont placés dans une étuve à 60°C pendant 24h ; puis pesés avec une microbalance (Mettler Toledo modèle UMX5) (ne rentrant pas dans le temps imparti du stage, les pesées ont été réalisées par F.DINDINAUD), et cela pour chaque lot de taille, mois, fleuves, moments de marées, T0 et 3 réplicats. Il a été alors calculé le poids sec individuel moyen (T0 et les 3 réplicats ensemble représentant le T1)

1 - Une mesure allométrique relie le logarithme décimal du poids individuel (μg) à la longueur céphalothoracique (μm). Elle est obtenue au moyen d'une régression linéaire, de la forme $\text{Log}_{10} \text{Poids} = a * \text{Log}_{10} \text{Longueur} + b$, (Mouny, 1998). Seules les régressions à T0 sont utilisées car ces équations sont sensées restées les mêmes après incubations.

c) Calcul des poids individuels moyen à T0 et T1

A partir des paramètres de cette régression (valeurs a et b), et en utilisant la taille céphalothoracique moyenne, calculée sur l'ensemble des mesures d'un échantillon (soit une centaine de mesures), il est possible d'obtenir la Biomasse individuelle moyenne B_i d'un individu de cet échantillon, exprimée en microgramme grâce à la transformation : $B_i (\mu\text{g}) = 10^{B_i}$

Cette biomasse individuelle est alors multipliée par le facteur 0.45 (Tackx et al., (1990) montrant que le zooplancton contient 45% de carbone de leur poids sec) pour obtenir la biomasse individuelle en microgramme de Carbone de Poids Sec ($\mu\text{gC PS}$).

d) *Calculs production/productivité*

Les informations concernant la taille et le poids obtenus précédemment peuvent être utilisées pour obtenir la production de l'espèce *E.affinis* pour les mois de mars à juillet à l'aide de différentes étapes de calculs :

1- Le taux de croissance instantané g (en jours^{-1}) est calculé de la manière suivante : $g (\text{j}^{-1}) = (1 / \text{temps d'incubation}) * (Bi_{T1} / Bi_{T0})$. La moyenne des croissances instantanées pour les 2 lots est alors réalisée (approximation faite en faisant l'hypothèse que le nombre d'individus de chaque lot est équitablement réparti et représentatif de la distribution de taille dans le milieu).

2- La production est alors calculée $P (\text{mgC}/\text{m}^{-3}/\text{j}^{-1}) = g * B$ avec g = taux de croissance instantané et B étant la biomasse de l'espèce dans le milieu en début d'incubation ($T0$); ($bi * l'$ abondance d'*E.affinis* dans le milieu)).

3- La productivité (en jour^{-1}) est le rapport Production / Biomasse

4) Analyse statistique :

Les 3 réplicats sont traités ensemble et représentent ainsi le T1

- Evolution de la taille durant l'incubation : des histogrammes ont été construits dans le but de montrer la différence de la taille céphalothoracique entre le T0 et le T1 évolution de la distribution du spectre de taille.
- Différence des moyennes de tailles, poids, taux croissance instantané, production et productivité : Un test de Kruskal-Wallis a été fait dans le but de montrer une différence significative ou non pour chaque variable biologique.
- Lien avec les variables environnementales : une ACP a été faite dans le but d'expliquer la distribution de nos échantillons (grâce aux données biologiques trouvées) suivant les variables environnementales expliquant la distribution du zooplancton. Les variables ainsi utilisées seront la taille moyenne du céphalothorax, la production, le poids sec moyen, la productivité, la température, la conductivité, les MES, la chlorophylle et les phéopigments.

III- Résultats

1) Validité des incubations si mise en évidence d'une croissance

La première démarche a été de vérifier si une production doit effectivement être attendue en fin d'incubation (mise en évidence d'une croissance en taille pour chaque incubation (de mars à juillet), chaque moment de marée (BM, MF, PM, MJ) et chaque lot de tailles (lots 200-250 et 250-

315). Dans le but de ne pas surcharger ce rapport, seulement 2 histogrammes sont présentés à titre d'exemple :

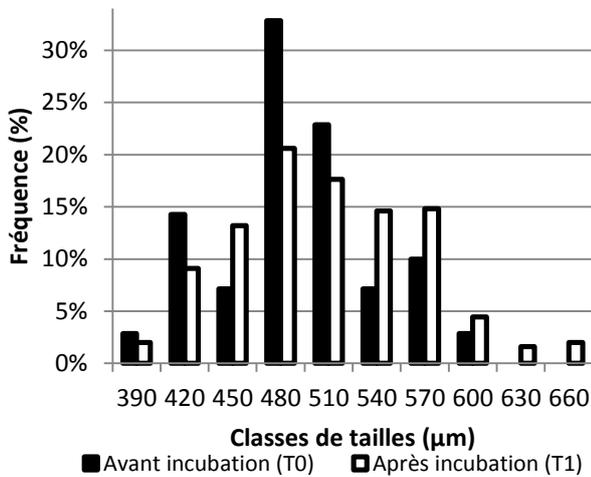


Figure 6 : Fréquence d'*E.affinis* en fonction de la taille (D2, MJ, Mai 2011, lot 200-250µm)

Les organismes avant incubation (T0) ont des tailles céphalothoraciques comprises entre 390µm et 630µm (moyenne de $505 \pm 48\mu\text{m}$) ; après incubation (T1), des tailles comprises entre 390µm et 690µm (moyenne de $522 \pm 60\mu\text{m}$), (Figure 6). Les tailles dominantes sont situées dans la catégorie de tailles de 480-510µm et de 510-540µm (respectivement 33% et 23%) avant incubation ; après incubation de 480-510µm et 510-540µm (respectivement 21% et 18%). Une évolution des classes de tailles vers les plus grandes tailles est notable entre le T0 (taille maximale = 600µm) et le T1 (taille maximale = 660 µm).

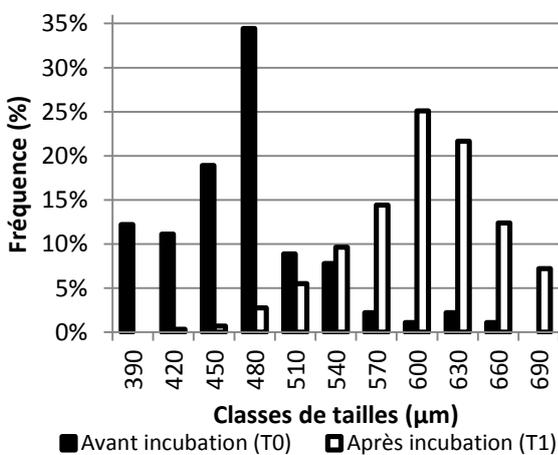


Figure 7 : Fréquence d'*E.affinis* en fonction de la taille (G2, PM, Juin 2011, lot 200-250µm)

Les individus représentant T0 ont des tailles comprises entre 390µm et 690µm (avec un maximum la gamme 660µm) : (Figure 7). Ceux caractérisant T1 ont des tailles comprises entre 420µm et 720µm (maximum à la gamme 690µm). La gamme de taille dominante est 480-510µm (34%) au T0 et un maximum à 600-630µm (25%) à T1.

En prenant l'ensemble des histogrammes réalisés pour toutes les incubations (2 lots de taille * 4 moments de marées * 5 mois * 2 sites = 80 histogrammes), il est noté un décalage systématique vers les grandes tailles entre le T0 et le T1, indiquant une croissance des organismes.

2) Evolution temporelle de la taille moyenne d'*E.affinis*

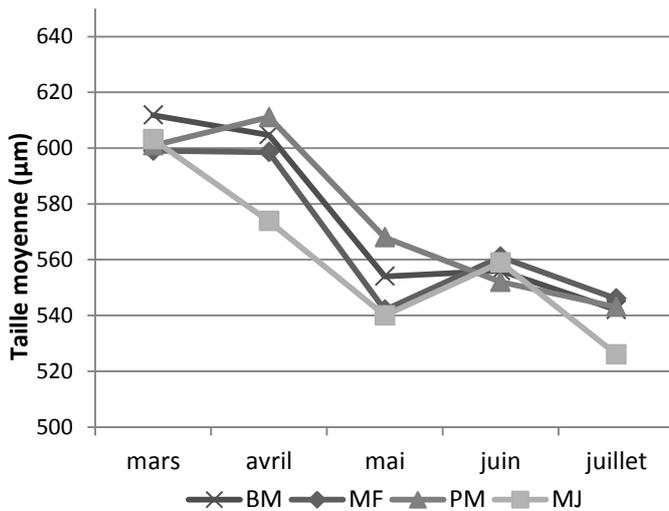


Figure 8 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la taille moyenne du céphalothorax (µm) chez *E.affinis* dans la Dordogne à Cubzac-les-ponts (D2) des mois de mars à juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Dordogne, quelque soit le moment de marée, une diminution de la taille moyenne est observée du mois de mars jusqu'à juillet (Figure 8). Elle est montrée par une différence significative entre les moyennes des tailles sur la période étudiée (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05). Elle varie de $612 \pm 75\mu\text{m}$ (basse mer en mars) à $526 \pm 50\mu\text{m}$ (mi-jusant en juillet).

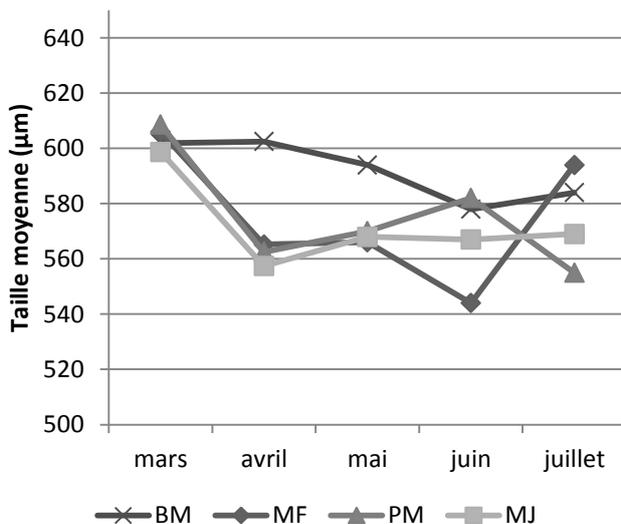


Figure 9 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la taille moyenne du céphalothorax (µm) chez *E.affinis* dans la Garonne à Bacalan (G2) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Garonne, aucune évolution significative de la taille moyenne du mois de mars jusqu'au mois d'avril n'est remarquée (Figure 9). Ceci est valable quelque soit le moment de marée rencontré (test de Kruskal-Wallis : p -value > 0,05). La taille moyenne varie de $609 \pm 66\mu\text{m}$ (en pleine mer en mars) à $555 \pm 50\mu\text{m}$ et $594 \pm 32\mu\text{m}$ (en pleine mer et mi-flot en juillet).

3) Evolution temporelle du poids sec moyen d'*E.affinis*

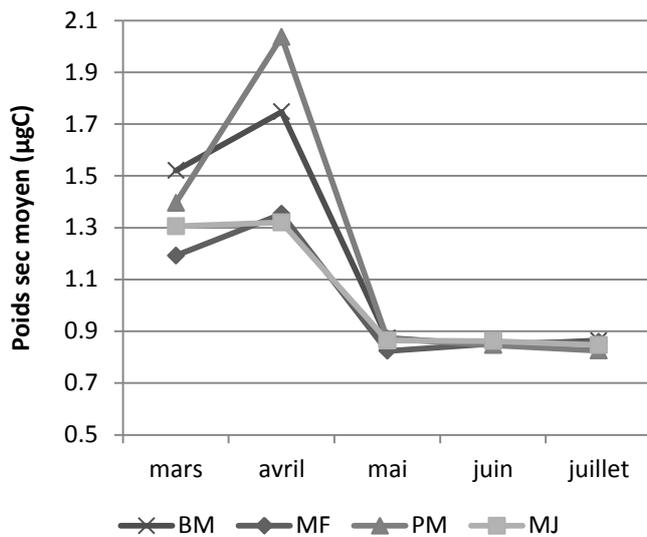


Figure 10 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution du poids sec moyen (µgC) d'*E.affinis* à Cubzac-les-ponts (Dordogne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Dordogne, une augmentation du poids sec moyen entre les mois de mars et avril (1,19 µgC en mi-flot jusqu'à 2,04 µgC en pleine mer) est remarquée, avec des valeurs légèrement plus importantes pour la pleine mer et la basse mer en mars et avril (Figure 10). Une diminution de ce poids sec moyen entre avril et mai (passant de 2.04 µgC maximum à 0.824 µgC au minimum). Enfin, une stabilisation à un niveau significativement plus faible de ce poids est remarqué jusqu'au mois de juillet. (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05).

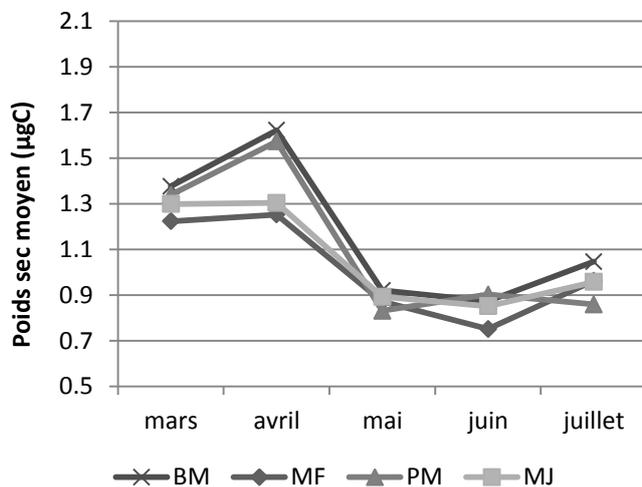


Figure 11 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution du poids sec moyen (µgC) d'*E.affinis* à Bacalan (Garonne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Garonne, une augmentation de poids est remarquée entre les mois de mars et avril à Basse et Pleine mer, et une stabilité à Mi-flot et Mi-jusant (Figure 11). Elle est suivie par une diminution du poids sec moyen jusqu'au mois de juin pour toutes les situations de marées (chutant jusqu'à 0,751 µgC en mi-flot), (test de comparaison de moyenne de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05)).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des tailles céphalothoraciques moyennes et des poids sec individuels moyens de mars à juillet 2011 en Dordogne (D2) et Garonne (G2) : les 4 moments de marées sont moyennés

	Mars		Avril		Mai		Juin		Juillet	
	D2	G2	D2	G2	D2	G2	D2	G2	D2	G2
Taille céphalothoracique moyenne (en μm)	604	604	597	572	551	575	557	568	539	576
Poids sec individuel moyen (en μgC)	1,353	1,309	1,614	1,437	0,859	0,879	0,852	0,844	0,849	0,956

4) Relations taille-poids

Une équation de la forme $\text{Log}_{10} \text{ Poids} = a * \text{Log}_{10} \text{ Longueur} + b$ permet d'obtenir la biomasse individuelle moyenne, nécessaire au calcul de poids individuels des organismes à partir des tailles mesurées sur les organismes incubés.

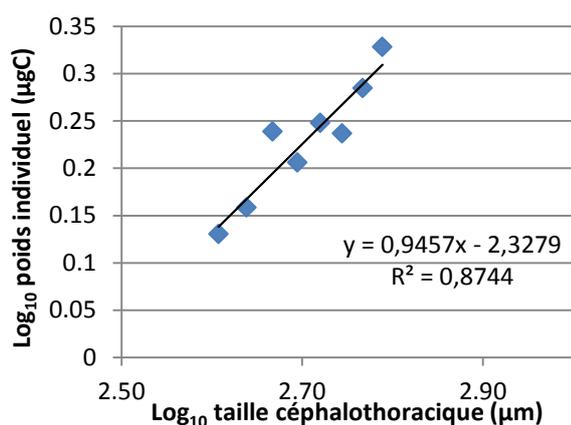


Figure 12 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* :

Relation d'allométrie (taille/poids) d'*E.affinis* :

Logarithme décimal du poids en fonction du logarithme décimal de la taille du céphalothorax (Dordogne, T0, MF, Mai 2011, lot 200-250 μm)

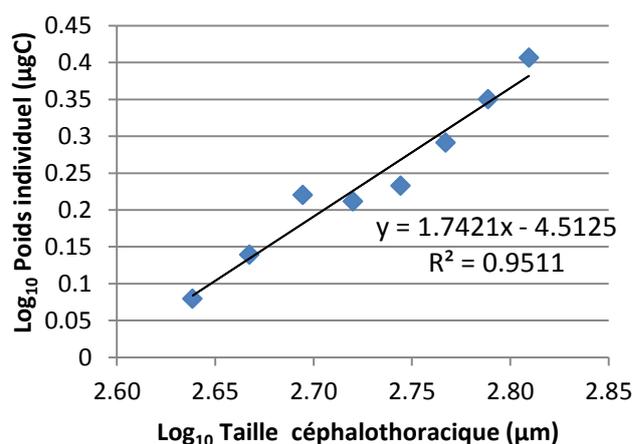


Figure 13 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Relation

d'allométrie (taille/poids) chez *E.affinis* : Logarithme

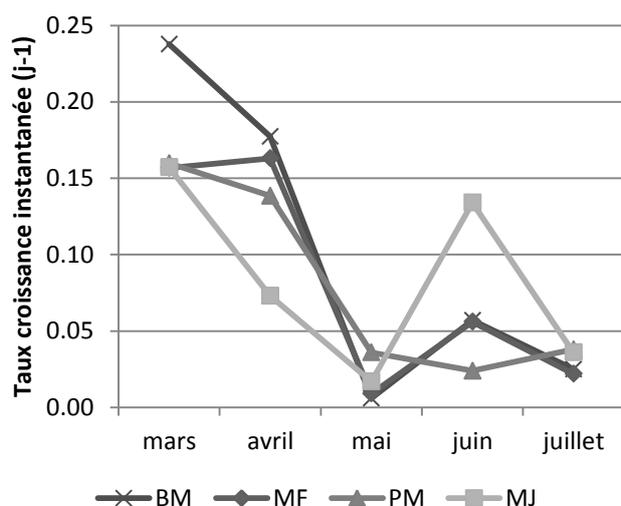
décimal du poids en fonction du logarithme décimal de la taille céphalothoracique (Garonne, T0, PM, Juin 2011, lot 200-250 μm)

Les figures 12 et 13 présentent 2 exemples de relations d'allométrie taille-poids obtenues et les équations qui en découlent (respectivement $y=0,9457x - 2,3279$ et $y=1,7421x-4,5125$).

Ces relations ont été déterminées pour toutes les situations prises en compte pour les incubations.

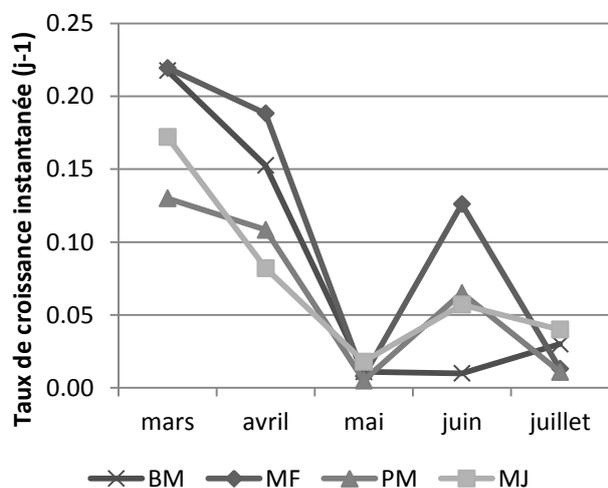
Les valeurs des constantes a et b ainsi que les R^2 sont données en annexes (Tableau 4)

5) Evolution temporelle du taux de croissance instantané d'*E.affinis*



En Garonne, une diminution significative du taux de croissance instantané est remarquée (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05) (Figure 14). Les taux de croissance instantanés maximums sont effectifs pour les mois de mars, avril et juin 2011. Les taux de croissance minimums sont valables pour les mois de mai et juillet (excepté pour la pleine mer où le taux de croissance minimal est en juin).

Figure 14 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution du taux de croissance instantané (j^{-1}) d'*E.affinis* à Cubzac-les-ponts (Dordogne) des mois de Mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)



En Dordogne, une diminution significative du taux de croissance instantané est remarquée (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05) (Figure 15). Les taux de croissance instantanés maximums sont effectifs pour les mois de mars, avril et juin 2011. Les taux de croissance minimums sont valables pour les mois de mai et juillet (excepté pour la basse mer où le taux de croissance minimal est en juin).

Figure 15 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution du taux de croissance instantané (j^{-1}) d'*E.affinis* à Bacalan (Garonne) des mois de Mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

6) Evolution temporelle de la Production et de la Productivité

a) Production

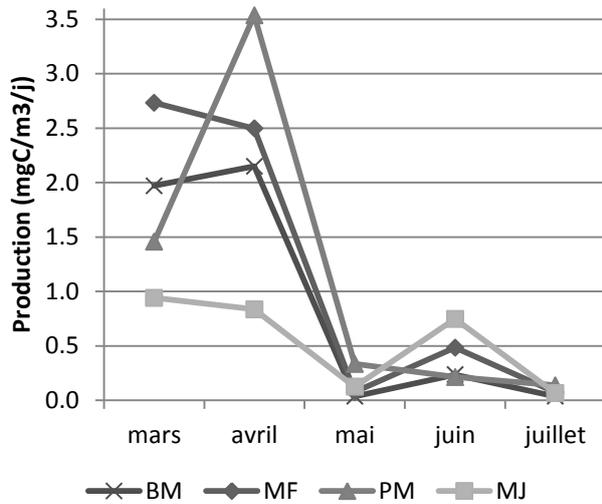


Figure 16 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la production ($\mu\text{gC}/\text{m}^3/\text{j}$) chez *E.affinis* : Cubzac-les-ponts (Dordogne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Dordogne, une diminution significative de la production d'*E.affinis* est remarquée de mars à juillet 2011 (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05). Elle est nettement visible entre avril et mai quelque soit le moment de marée (passant de 3,536 à 0,334 à PM et de 2,149 à 0,036 $\text{mgC}/\text{m}^3/\text{j}$ à BM) (Figure 16). Une augmentation de la production entre les mois de mai et juin est notée et est significativement différente (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05) (exceptée pour la pleine mer, caractérisée par une diminution) avec un pic à $0,748\mu\text{gC}/\text{m}^3/\text{j}$ en mi-jusant. Enfin, une diminution significative entre juin et juillet peut être repérée (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05).

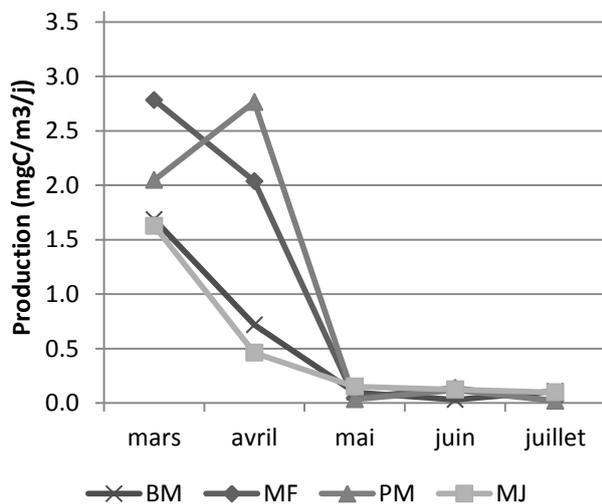


Figure 17 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la production ($\mu\text{gC}/\text{m}^3/\text{j}$) d'*E.affinis* à Bacalan (Garonne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Garonne, une diminution significative de la production d'*E.affinis* est remarquée du mois de mars au mois de juillet 2011 (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05). (Figure 17). Enfin, il n'a pas de différence significative entre les mois de très faible production (mars, juin, juillet ; test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05)

b) Productivité

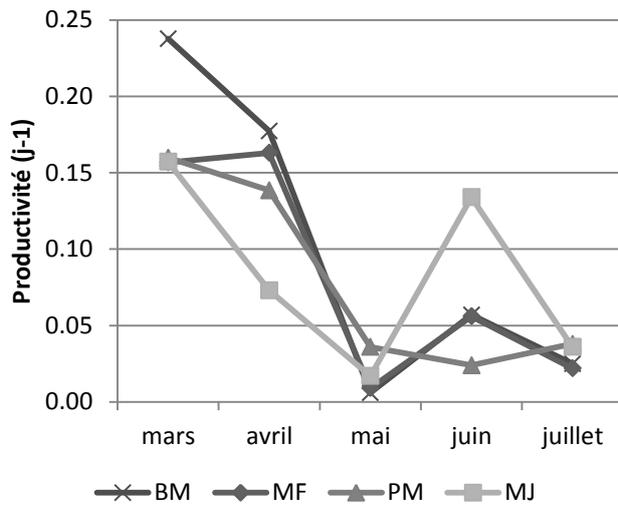


Figure 18 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la productivité (j^{-1}) d'*E.affinis* à Cubzac-les-ponts (Dordogne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Dordogne, une diminution significative de la productivité est remarquée entre les mois de mars et juillet (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05) (Figure 18). Cette diminution est marquée entre mars et mai (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05). Il est constaté une augmentation significative entre mai et juin suivie d'une diminution entre juin et juillet (BM, MF, MJ) (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05).

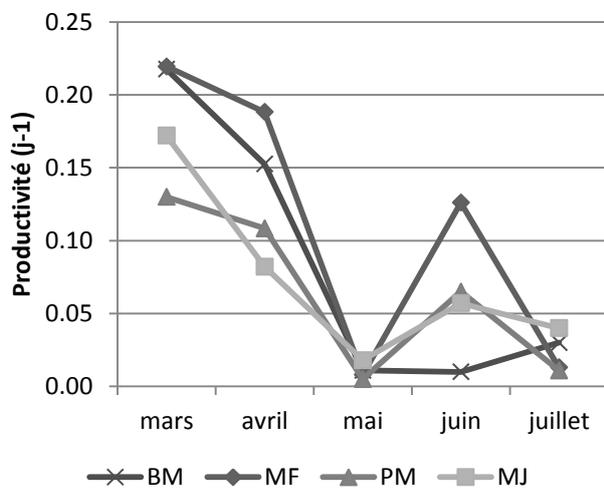


Figure 19 : Estuaire de la Gironde. *E.affinis* : Evolution de la productivité (j^{-1}) d'*E.affinis* à Bacalan (Garonne) des mois de mars à Juillet 2011 en mi-flot (MF), mi-jusant (MJ), pleine mer (PM), basse mer (BM)

En Garonne, une diminution significative de la productivité est remarquée entre les mois de mars et juillet (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05) (Figure 18). Cette diminution est marquée entre mars et mai (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05). Il est constaté une augmentation significative entre mai et juin suivie d'une diminution entre juin et juillet (BM, MF, MJ) (test de Kruskal-Wallis : p -value < 0,05).

Tableau 2: Récapitulatif de l'Abondance, du taux de croissance instantané, de la Production et de la Productivité de mars à juillet 2011 en Dordogne (D2) et en Garonne (G2) : les 4 moments de marées sont moyennés

Mois	Mars		Avril		Mai		Juin		Juillet	
Sites	D2	G2	D2	G2	D2	G2	D2	G2	D2	G2
Abondance	8589	9648	10690	8598	9022	8381	8273	2441	3106	2441
Taux de croissance instantané (j-1)	0,178	0,185	0,138	0,133	0,017	0,011	0,068	0,065	0,030	0,024
Production (mgC/m3/j)	1,775	2,036	2,254	1,495	0,143	0,082	0,420	0,103	0,079	0,061
Productivité (j-1)	0,178	0,185	0,138	0,133	0,017	0,011	0,068	0,065	0,030	0,024

7) Relations données biologiques-environnementales

Pour rendre plus lisible la représentation des variables sur le plan, seules celles ayant un $\cos^2 > 0,18$ sont présentées (Figure 20).

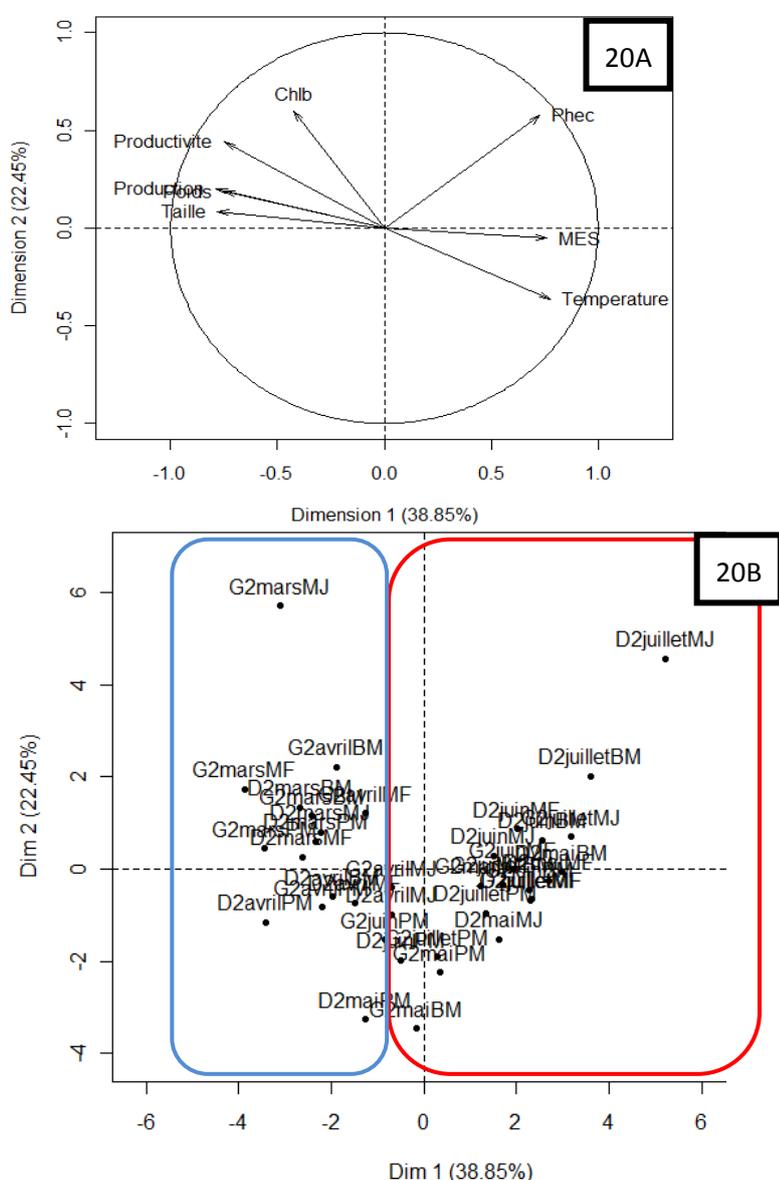


Figure 20 : ACP réalisées sur les données biologiques + environnementales (cercle de corrélation (20A) + plan (20B)) : les observations sont notées du type Site.Mois.Moment de marée. Les variables sont : la taille moyenne du céphalothorax (Taille), le poids sec moyen (Poids), la production et la productivité ; les matières en suspension (MES), la température, chlorophylle b (Chl) et phéopigment c (phec)

L'axe 1 (CP1), qui représente 39% de la variance totale, est principalement expliqué négativement par la taille, le poids, la production, la productivité et positivement par les MES et la température ($\cos^2 > 0,64$) (Figure 20A). La taille, le poids, la production et la productivité sont corrélés ; la température et les MES de même et les pheopigments-c à un degré moindre avec ces 2 dernières variables corrélés positivement ensemble, ces variables étant expliquées à 38%. L'axe 2 (CP2) est expliqué par la chlorophylle-b ($\cos^2 = 0,6$) et représentée à 22 % de l'inertie du plan.

Il apparaît deux groupes de stations sur le plan de l'ACP (Figure 20B). Il s'agit des

représentants des mois de mars et avril d'une part (encadré en bleu), et ceux des mois de mai, juin et juillet d'autre part (encadré en rouge). Le groupe encadré en bleu (mars-avril) est expliqué par les variables de taille, poids, production, productivité et chlorophylle-*b*. Le groupe encadré en rouge (mai-juin-juillet) est quant à lui expliqué par les variables MES, phéopigment-*c*, et température. De plus, il apparaît une continuité temporelle via les résultats des mesures effectuées. En effet, au vu de la dispersion des points sur le plan de l'ACP, il est possible de remarquer une continuité dans cette dispersion, avec situé dans le quart supérieur gauche, les points du mois de mars, une évolution vers la partie négative de l'axe 2 puis une continuité jusqu'aux points du mois de juillet situés dans la partie positive des 2 axes à droite.

IV- Discussion

Les manipulations de production a été faite sur des échantillons du copépode *E.affinis* de mars à juillet 2011, en *in situ* simulé à Cubzac-les-ponts (Dordogne) et Bacalan (Garonne). Il a été possible de caractériser la production du copépode *E.affinis* en fonction de l'influence des conditions du milieu.

En effet, son cycle de vie court en fait un bon bio-indicateur puisque cette espèce se trouve sensible aux changements rapides de l'environnement (Souissi *et al.*, 2005). De plus l'estuaire est soumis à de fortes contraintes physico-chimique et *E.affinis* est l'une des seules espèces à s'être adaptée (Crawford et Daborn, 1986 ; Feurtet and Castel, 1988) et fait de cette espèce, l'espèce dominante en zone oligohaline (Peitsch, 1995 ; Sautour and Castel, 1995 ; Mouny and Dauvin, 2002). *E.affinis* est utilisée comme espèce modèle en milieu aquatique littoral pour la mesure de production, qu'elle soit somatique ou gonadique (Burkill and Kendall, 1982 ; Castel and Feurtet, 1989 ; Peitsch, 1995 ; Gasparini, 1997 ; Mouny, 1998 ; Gaspirini *et al.*, 1999 ; Souissi, 2006).

La mesure de production mise en place a été utilisée pour caractériser deux sites distincts durant l'année 2011.

1) Evolution temporelle de la taille moyenne du céphalothorax d'*E.affinis*

L'évolution de la taille moyenne du céphalothorax ainsi que le poids sec individuel moyen, trouvée pour les mois de mars à juillet 2011, a été étudiée sur les deux sites d'études.

La diminution significative de taille en Dordogne de mars à juillet 2011 et l'absence d'évolution marquée de la taille en Garonne peuvent être mise en liaisons avec les variabilités environnementales rencontrées pour l'année 2011. Pas de différences significatives dans les tailles du céphalothorax sont à noter entre les deux sites d'études. Les conditions de développement rencontrées en Garonne et en Dordogne amène donc pour l'année 2011 à des poids en début de

printemps similaires puis qui diffèrent par la suite. En effet, les paramètres abiotiques mesurés en Garonne et Dordogne ne montrent pas de différences significatives entre les deux sites.

La taille et la température sont anti-corrélées. L'évolution de la taille et de la température sont faible au cours de la période mars-juillet 2011. Les tailles les plus grandes sont retrouvées pour des températures basses. Ceci est en correspondance avec la température optimale renseignée dans différents articles montrant que pour de telles températures, *E.affinis* est au maximum de son développement (Poli, 1981 ; David *et al.*, 2006). Crawford and Daborn (1986) ont mis en évidence un lien entre la température du milieu avec la taille de l'organisme et ont montré que cette relation est négative (maximum de taille avant le printemps). Ban (1994) montre que lorsque la température augmente de 10 à 20 °C, 10% de la taille est réduite. Concernant la tendance générale de la taille du céphalothorax chez *E. affinis*, Peitsch (1995) a montré dans l'estuaire de l'Elbe des adultes présentant également une chute de taille au cours de l'année. Mais l'évolution de la taille peut également être mise en parallèle avec les autres variables environnementales (MES, Chlorophylles).

Ici, la concentration en MES est faible en mars et avril, correspondant au maximum de taille céphalothoracique. Il est possible que la taille soit maximale lorsque les concentrations en MES sont faible dans le milieu qui empêcherait le développement de ce copépode, l'obligeant à sélectionner sa nourriture comme le montre Tackx *et al.*, (2003).

S'agissant de la chlorophylle, le maximum de chlorophylle ne correspond pas au maximum de taille. On peut penser que ces deux paramètres ne sont alors pas corrélés. Contrairement avec Peitsch (1995) et Ban (1994) qui montrent une corrélation positive entre la chlorophylle-*a* et la taille impliquant ici une autre source de nourriture pour *E.affinis*. Il semblerait alors que dans notre cas la chlorophylle ne soit pas le facteur dominant de l'évolution de la taille par rapport à la température, les MES ou encore une autre source de nourriture, comme les bactéries (Roman *et al.*, 2001).

Les résultats se trouvent être plus importants que ceux trouvés dans le Bristol Channel (Burkill and Kendall, 1982), mais plus faibles par rapport à ceux qui ont pu être rencontrés dans l'estuaire de la Seine (Mouny, 1998). Il est supposé que les conditions du milieu sont différentes. Dans l'étude de Burkill and Kendall (1982), les paramètres (températures, salinité, chlorophylle-*a*, phéopigments) sont bien moindres que celles de l'estuaire de la Gironde. Concernant l'estuaire de la Seine, Mouny (1998) nous apprend que les individus sont moins grands dans les estuaires turbides (comme l'estuaire de la Gironde) par rapport aux estuaires moins turbides comme celui de la Seine.

2) Evolution temporelle du poids sec moyen d'*E.affinis*

Le poids sec moyen est corrélé négativement avec la variable température. Escaravage and Stoetaert, (1993) ont montré une relation négative entre le poids sec et la température, valable quelque soit le stade. En effet, plus la température augmente (de 8 à 20 °C), plus le poids sec moyen diminue.

Le poids et la concentration en MES sont anti-corrélés. Il est alors possible de se demander que quand la concentration en MES est trop importante, *E.affinis* ne se nourrit plus comme il faut. Tackx *et al.*, (2003) ont montré lorsque la concentration en MES est trop élevée, *E.affinis* va sélectionner sa nourriture. De ce fait, les organismes seront plus légers. Ceci est mis en parallèle avec la concentration en chlorophylles qui est aussi anti-corrélées avec le poids. Cette étude prouve que ce n'est pas la quantité de nourriture qui est importante mais bien la qualité.

L'évolution du poids sur le début d'année 2011 montre une croissance (mars-avril) suivie d'une chute brutale de ce poids sec (avril-mai). Cette allure a déjà été remarquée dans l'estuaire de la Gironde par l'étude de Castel and Feurtet (1989). Les mesures de poids notées par ces auteurs sont légèrement supérieures aux mesures trouvées durant ce stage et la chute trouvée est un mois après par rapport à ce stage. Mais leur lieu d'étude est situé plus en aval par rapport à ce qu'il a été réalisé ici, induisant une différence dans les conditions environnementales.

La chute brutale de poids peut provenir de deux explications. La première cause est la ponte qui a lieu entre les prélèvements d'avril et mai causant une perte de poids chez les femelles très importante. La production d'œufs peut être importante en présence de faible salinité (Devreker *et al.*, 2009) La seconde cause peut venir du fait qu'une mortalité a également lieu, caractérisant des organismes plus petits pour la suite de la manipulation et par conséquent des organismes plus légers.

Il est retrouvé des poids sec individuels légèrement inférieurs pour le Bristol Channel (Burkill and Kendall, 1982). Il peut être expliqué par la différence des conditions environnementales qui sont moindre (température, chlorophylle-*a*, etc...) impliquant que les conditions retrouvés dans le milieu ont une influence sur le développement de l'organisme et donc sur son poids.

Après avoir obtenu et analysé toutes les données de taille céphalothoracique ainsi que du poids sec individuel, la production et la productivité ont été calculées sur la période mars-juillet 2011 à Cubzac-les-ponts et Bacalan.

3) Evolution temporelle du taux de croissance instantané d'*E.affinis*

Le taux de croissance instantané est anti-corrélé avec la température. Evolution de celui-ci en fonction de T° + ref Elle est fonction de la biomasse,. Pour de faibles températures (températures optimales),

le taux de croissance instantané est au maximum (rencontré pour de faibles concentrations de MES et chlorophylle). Mais ce taux de croissance instantané diminue, puis rencontre une augmentation au mois de juin, correspondant avec le maximum de température. On peut donc supposer que la croissance instantanée est fortement liée avec la température, du moins lorsque des températures importantes sont rencontrées. Vidal (1980) conclut que la concentration en nourriture requis pour le maximum de croissance des copépodes est liée à la température.

4) Evolution temporelle de la production d'*E.affinis*

Les mois où sont rencontrés les maximums de productions et de productivités sont les mois printaniers. Passé le mois d'avril, la production et la productivité ont tendance à diminuer de manière plus ou moins importante.

La production est notamment anti-corrélée avec la température. La température a une influence sur la production Escaravage and Soetaert, (1993). Ils ont montré que la production augmente lorsque de faibles températures augmentent (maximum à 17°C) puis diminue lorsque la température devient trop importante.

Ce maximum de production au printemps est retrouvé dans de nombreuses publications, que se soit en Gironde ou dans d'autres estuaires. Il peut être rencontré dans l'étude de Castel and Feurtet (1989), étude faite plus en aval par rapport à notre travail. Ce maximum présente des valeurs qui se trouvent supérieures. Cette différence peut être expliquée par des conditions environnementales différentes dues à ce lieu d'étude qui diffère.

De plus, l'abondance peut avoir un rôle dans les différences de production qui sont rencontrées, notamment avec l'estuaire de la Seine (Mouny, 1998) où il est trouvé des valeurs de productions plus importantes. En regardant cette différence, on peut noter des abondances pouvant être jusqu'à 10 fois plus importante que par rapport à celles rencontrées dans l'estuaire de la Gironde. Impactant la mesure de production, les abondances qui diffèrent entre ces deux estuaires peuvent donc expliquer les productions inégales.

Enfin la prédation peut avoir un rôle sur la production de ce copépode. En effet, si elle est trop importante, alors les organismes utiliseront leur énergie dans la survie plutôt que pour se développer.

5) Evolution temporelle de la productivité d'*E.affinis*

La productivité est anti-corrélée avec la température. Elle est fonction de la production et de la biomasse, et s'en trouve ainsi variable au même titre. Castel and Feurtet (1989) ont retrouvé une tendance similaire avec celle trouvée lors de ce stage avec un décalage dans le temps expliqué par le

lieu d'étude différent du notre. Ainsi la productivité trouvée durant de stage est similaire avec ce qui a déjà été vu lors de précédents travaux.

Tableau 3 : Comparaison de la productivité selon plusieurs études

Site	Auteur	Productivité (en j^{-1})
Gironde	Castel and Feurtet (1989)	0 (été) à 0,2 (juin)
Gironde	Stage	0,0105 à 0,19
Elbe	Peitsch (1995)	0,11
Bristol Channel	Burkill and Kendall (1982)	0,09 (mai)
Seine	Mouny (1998)	0,1 à 0,25 (mars à juin)

La mesure de production est difficile à réaliser dans son ensemble : un échantillonnage compliqué, des mesures longues et qui demande de la maîtrise technique. Des erreurs auraient pu apparaître tout au long de ces traitements malgré tout le soin apporté à faire cela.

Des approximations ont été faites dans l'obtention des résultats. Concernant le calcul de la production, la moyenne des taux de croissance instantané a été faite (lot de taille 200-250 μ m et 250-315 μ m), considérant qu'il y a le même nombre d'individus dans chaque classe de tailles.

La double mesure du mois de mai (logiciel + micromètre oculaire) s'est trouvée être très longue, mais nécessaire à la validation du fonctionnement du logiciel.

Si la mesure de production avait été effectuée pour les mois d'Aout et Septembre, période où les débits d'eau sont au plus bas (étiage), alors les résultats auraient pu être différents dû aux conditions environnementales totalement différentes par rapport au reste de l'année (Romaña, 1994), particulièrement marqué en Garonne. Cela aurait pu montrer une différence entre les 2 sites (variabilité spatiale).

V- Conclusion

Le but du stage était de caractériser la production du copépode *E.affinis* dans deux environnements. L'un situé à Cubzac-les-ponts (Dordogne), l'autre à Bacalan (Garonne), pour la période de mars et juillet 2011. Cette mesure de production se trouve être le reflet indirect des variabilités environnementales.

Lors de faibles températures et de MES, la taille mesurée, le poids et le taux de croissance se trouvent à leurs maximums.

De fortes concentrations en matières en suspension aura pour conséquence une sélectivité dans la nourriture et donc sur la physiologie de l'organisme. L'évolution de la taille est en adéquation avec

celle de la taille mesurée, retrouvé dans de précédentes études. Le taux de croissance et la température sont liés.

La production et la productivité sont à leur maximum lorsque les niveaux de températures sont à leur minimum. Les mesures obtenues sont en accord avec les autres études, bien que plus faibles, expliquées par le lieu d'études, les faibles abondances de cette espèce et une possible prédation.

La différence de site ne s'en trouve pas marquée. Cependant il est montré une variabilité temporelle, influencée par les conditions environnementales. La caractérisation de la production d'*E.affinis* est donc le reflet des variabilités du milieu, principalement de la température et de la concentration en MES.

Parmi le travail novateur, le développement et l'utilisation d'un logiciel de détection, reconnaissance et mesure. Ce logiciel a l'avantage de stocker et de retravailler les données à souhait. Il pourra être généralisé et ainsi être développé sur d'autres organismes que cette espèce. La mesure via le logiciel a permis un gain de temps par rapport à une mesure au micromètre oculaire, classiquement utilisée.

Il faudrait effectuer par la suite les mesures faites sur les mois d'Aout et Septembre 2011, pour voir peut être apparaitre une variabilité spatiale.

VI- Bibliographie

Ban S (1994) Effect of temperature and food concentration on post-embryonic development, egg production and adult body size of calanoid copepod *Eurytemora affinis*. *Journal of plankton research*:721–735

Beaugrand G, Goberville E (2010) Conséquences des changements climatiques en milieu océanique. *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*

Beck MW, Heck Jr KL, Able KW, Childers DL, Eggleston DB, Gillanders BM, Halpern B, Hays CG, Hoshino K, Minello TJ, others (2001) The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. *BioScience* 51:633–641

Burkill PH, Kendall TF (1982) Production of the copepod *Eurytemora affinis* in the Bristol Channel. *Mar Ecol Prog Ser* 7:1–3

Castel J, Feurtet A (1989) Dynamics of the copepod *Eurytemora affinis* hirundoides in the Gironde estuary: origin and fate of its production. *Scientia Marina* (Barcelona) 53

Costil K, Dauvin J-C, Duhamel S, Hocdé R, Mouny P, Roton G De (1999) Patrimoine biologique et chaînes alimentaires.

Crawford P, Daborn G. (1986) Seasonal Variations in Body Size and Fecundity in a Copepod of Turbid Estuaries. *Estuaries* Vol 9:133–141

David V, Chardy P, Sautour B (2006) Fitting a predator-prey model to zooplankton time-series data in the

Gironde estuary (France): ecological significance of the parameters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 67:605–617

- David V, Sautour B, Chardy P, Leconte M** (2005) Long-term changes of the zooplankton variability in a turbid environment: the Gironde estuary (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64:171–184
- Devreker D, Souissi S, Winkler G, Forget-Leray J, Leboulenger F** (2009) Effects of salinity, temperature and individual variability on the reproduction of *Eurytemora affinis* (Copepoda; Calanoida) from the Seine estuary: a laboratory study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 368:113–123
- Escaravage V, Soetaert K, others** (1993) Estimating secondary production for the brackish Westerschelde copepod population *Eurytemora affinis* (Poppe) combining experimental data and field observations. *Cahiers de Biologie Marine* 34
- Etcheber H, Schmidt S, Sottolichio A, Maneux E, Chabaux G, Escalier JM, Wennekes H, Derriennic H, Schmeltz M, Quemener L, others** (2011) Monitoring water quality in estuarine environments: lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system. *Hydrology and Earth System Sciences* 15:831–840
- Feurtet A** (1989) Dynamique de population, caractérisation morphologique et production secondaire d'*Eurytemora affinis* hirundoides, Copépode calanoïde dans l'estuaire de la Gironde. Bordeaux 1
- Feurtet A, Castel J** (1987) Biologie du copépode *Eurytemora affinis* hirundoides dans la Gironde: données morphométriques. In: *Aspects récents de la biologie des crustacés*. Concarneau (France), 6 Jun 1987.
- Gasparini S** (1997) Fécondité, régime alimentaire et production des principaux copépodes planctoniques de quatre estuaires européens. Bordeaux 1
- Gasparini S, Castel J, Irigoien X** (1999) Impact of suspended particulate matter on egg production of the estuarine copepod, *Eurytemora affinis*. *Journal of marine systems* 22:195–205
- Goberville E, Beaugrand G, Sautour B, Trguer P, Team S** (2010) Climate-driven changes in coastal marine systems of western Europe. *Mar Ecol Prog Ser* 408:129–148
- Heip C** (1995) The CEC-MAST JEEP-92 project: Major biological processes in European tidal estuaries. *Hydrobiologia* 311:vii–vii
- Irigoien X, Castel J** (1997) Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44:507–517
- Mouny P** (1998) Structure spatio-temporelle du zooplancton et du suprabenthos de l'estuaire de la Seine. Dynamique et rôle, des principales espèces dans la chaîne trophique pélagique
- Mouny P, Dauvin J-C** (2002) Environmental control of mesozooplankton community structure in the Seine estuary (English Channel). :13–22
- Pasquaud S** (2006) Les relations trophiques : Elements de structuration des peuplements ichtyologiques en milieu estuarien. Université de Bordeaux 1
- Peitsch A** (1995) Production rates of *Eurytemora affinis* in the Elbe estuary, comparison of field and enclosure production estimates. *Hydrobiologia* 311:127–137
- Perillo GM.** (1995) Definitions and Geomorphologic classifications of estuaries.
- Poli J-M** (1981) Contribution à l'étude de la dynamique et de l'adaptation physiologique du copépode *Eurytemora hirundoides*.

- Pritchard DW** (1967) What is an Estuary : Physical Viewpoint.
- Roman MR, Holliday DV, Sanford LP, others** (2001) Temporal and spatial patterns of zooplankton in the Chesapeake Bay turbidity maximum. *Marine Ecology Progress Series* 213:215–227
- Romaña LA** (1994) Les grands estuaires français. *Equinoxe, spécial environnement littoral*:47–48
- Salomon JN** (2002) L'inondation dans la basse vallée de la Garonne et de l'estuaire de la Gironde lors de la "tempête du siècle. *Géomorphologie : relief, processus, environnement*:775–791
- Sautour B, Castel J** (1995) Comparative spring distribution of zooplankton in three macrotidal European estuaries. *Hydrobiologia* 311:139–151
- Souissi S, Devreker D, Cailleaud K, Dur G, Bonnard A, Forget-Leray J, Budzinski** (2005) HAL :: [hal-00081340, version 1] Life cycle strategies and physiological adaptation of the copepod *Eurytemora affinis* : a candidate for developing a bioindicator of water quality. *Plankton symposium. Igueira da Foz : Portugal* (2005)
- Tackx MLM, Bakker C, Rijswijk P Van** (1990) Zooplankton Grazing Pressure in the Oosterschelde (The Netherlands). *Netherlands Journal of Sea Research*:405–415
- Tackx MLM, Herman PJM, Gasparini S, Irigoien X, Billiones R, Daro MH** (2003) Selective feeding of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in temperate estuaries: model and field observations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56:305–311
- Treut H Le** (2007) Changements climatiques : perspectives et implications pour le XXIème siècle.
- Vidal J** (1980) Physioecology of zooplankton. I. Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the growth rate of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. *Marine Biology* 56:111–134
- Wilson JG** (2002) Productivity, Fisheries and Aquaculture in Temperate Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*:953–967

Résumé

Ce stage a pour objectif la caractérisation de la production somatique de l'espèce *Eurytemora affinis*. La production est utilisée ici comme un indicateur de la qualité du développement de l'espèce dans le milieu et donc indirectement un indicateur de la qualité du milieu. Cette production a été caractérisée dans 2 milieux différents notamment concernant les apports et impacts anthropiques (Garonne et Dordogne, cette dernière étant utilisée ici comme témoin d'un milieu subissant peu l'influence urbaine en comparaison de la Garonne). L'objectif spécifique consiste à caractériser la variabilité saisonnière de la production et à définir les conditions environnementales influant sur la production de l'espèce. La période concernée est de mars à juillet 2011.

Il est montré une variabilité temporelle, suivant la variable température principalement. Deux groupes de stations apparaissent avec d'un côté les échantillons des mois de mars et avril et de l'autre les mois de mai, juin et juillet ; Le tout est anti-corrélée avec la température.

Annexes

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des a, b et R² en Dordogne (D2) et Garonne (G2), de mars et juillet 2011

Stations		D2											
		mars				avril				mai			
dates	Etat marée	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM
a		1,1239	1,2319	1,2832	1,8816	1,2251	0,7009	1,0928	1,4261	0,9457 / 1,4755	0,7639 / 0,4914	0,9967 / 0,9872	0,8924 / 0,6875
b		-2,6988	-2,9633	-3,0753	-4,7186	-2,9251	-1,4658	-2,4663	-3,3789	-2,3279 / -3,7774	-1,8022 / -1,0555	-2,438 / -2,4506	-2,1427 / -1,6099
R ²		0,8446	0,9077	0,9034	0,8323	0,9224	0,4825	0,7915	0,5978	0,8744 / 0,8632	0,769 / 0,7444	0,9 / 0,7902	0,8923 / 0,9834
Stations		G2											
		mars				avril				mai			
dates	Etat marée	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM	MJ	PM	BM
a		1,2868	1,2087	1,2275	1,2808	1,2195	0,874	1,844	1,1074	0,9967 / 0,9872	0,8924 / 0,6875	1,9633 / 1,1584	0,7639 / 0,4914
b		-3,147	-2,8973	-2,9449	-3,0756	-2,9123	-1,938	-4,5317	-2,5222	-2,438 / -2,4506	-2,1427 / -1,6099	-5,4932 / -2,8756	-1,8022 / -1,0555
R ²		0,8724	0,8766	0,8163	0,8926	0,9528	0,7667	0,8781	0,7017	0,9 / 0,7902	0,8923 / 0,9834	0,8411 / 0,8846	0,769 / 0,7444

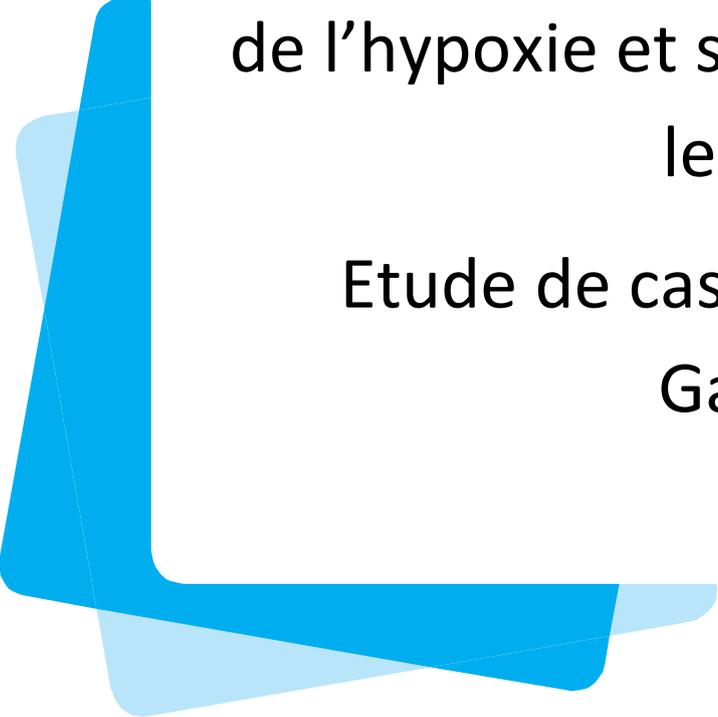
D2													
Stations	juin						juillet						
dates	MF	MJ	PM	BM	MF	PM	MJ	PM	BM	MF	MJ	PM	BM
a	1,1458 / 1,2548	2,2358 / 1,5976	1,3943 / 0,6518	1,3483 / 1,6816	1,0543 / 1,6956	0,7673 / 2,2707	1,2602 / 2,0337	0,7295 / 2,1574					
b	-2,8704 / -3,1765	-5,8389 / 4,1139	-3,5314 / -1,5097	-3,4167 / -4,3591	-2,6222 / -4,3686	-1,8183 / -5,9494	-3,2188 / -5,2991	-1,7173 / -5,6431					
R²	0,972 / 0,9181	0,9181 / 0,9003	0,8022 / 0,6551	0,5022 / 0,9306	0,8593 / 0,9134	0,7196 / 0,864	0,9019 / 0,9509	0,7199 / 0,8757					
G2													
Stations	juin						juillet						
dates	MF	MJ	PM	BM	MF	PM	MJ	PM	BM	MF	MJ	PM	BM
a	1,5799 / 1,4856	1,2691 / 1,3634	1,7421 / 1,0193	1,1957 / 1,0193	1,5838 / 1,7391	1,3312 / 0,9201	0,6256 / 2,3214	0,673 / 1,969					
b	-4,0904 / 3,8484	-3,2248 / -3,4753	-4,5125 / -2,5314	-3,0041 / -2,5314	-4,0704 / -4,4909	-3,3464 / -2,1936	-1,4575 / -6,1247	-1,5575 / -5,0537					
R²	0,9256 / 0,9847	0,9354 / 0,8231	0,9511 / 0,7259	0,8446 / 0,7259	0,8824 / 0,7521	0,9313 / 0,2493	0,6736 / 0,878	0,8455 / 0,9626					

Annexe 13

Etude bibliographique sur les causes de l'hypoxie et ses conséquences sur le vivant. Etude de cas : L'estuaire de la Garonne.

Rapport action 4.3 ETIAGE Année 3, IRSTEA Centre de Bordeaux, 58p.

De Watteville J. et Lepage M. (2013).



Etude bibliographique sur les causes
de l'hypoxie et ses conséquences sur
le vivant
Etude de cas : L'estuaire de la
Garonne

AOUT 2013
JEROME DE WATTEVILLE
MARIO LEPAGE

Sommaire

1	Introduction	1
2	Matériel et méthodes	3
2.1	Etude bibliographique	3
2.2	Les crises hypoxiques en estuaire	3
2.2.1	Site d'étude.....	3
2.2.2	Données physico-chimiques	4
2.2.3	Impact potentiel des crises hypoxiques sur la transparence migratoire	5
2.2.4	Analyse statistique.....	5
3	L'hypoxie dans le monde	7
4	Causes de l'hypoxie	8
4.1	Facteurs physiques	8
4.1.1	Dissolution O ₂	8
4.1.2	Débit et temps de résidence.....	9
4.1.3	Stratification de la colonne d'eau.....	9
4.1.4	Réaération et turbidité	9
4.2	Facteurs biochimiques.....	10
4.2.1	Respiration.....	10
4.2.2	Dégradation de la matière organique et dénitrification	10
4.2.3	Photosynthèse	11
4.3	Facteurs anthropiques.....	11
4.3.1	Eutrophisation	11
4.3.2	Réduction des débits (irrigation, barrages...)	11
4.4	Hypoxie et résilience	12
4.5	Schéma bilan	12
5	Effets de l'hypoxie sur la biocénose.....	12
5.1	Effet de l'hypoxie au niveau moléculaire	14
5.2	Effet de l'hypoxie au niveau physiologique.....	16
5.3	Effet de l'hypoxie au niveau comportementale.....	18
5.4	Effet de l'hypoxie au niveau écosystémique.....	22

6	Les problèmes d'hypoxie à Bordeaux	23
6.1	Les crises hypoxiques en Loire et en Garonne	24
6.2	Hierarchisation des facteurs physico-chimiques influant sur l'oxygène.....	25
6.3	Identification des seuils propices aux hypoxies : modèle linéaire généralisé mixte ..	26
6.4	Analyse rétrospective des crises hypoxiques à Bordeaux.....	28
6.5	Comparaison Garonne/Loire	28
6.6	Etude bibliographique sur les espèces de l'estuaire	30
6.7	Effets sur la transparence migratoire.....	32
7	Perspectives	44
7.1	Réhabilitation des écosystèmes touchés par l'hypoxie	44
7.2	Recommandations.....	45
7.2.1	Débit.....	46
7.2.2	Effluents.....	46
7.3	Hypoxie et réchauffement climatique	47
8	Références.....	48

1 Introduction

L'oxygène est un élément indispensable à la vie, qu'elle soit terrestre ou aquatique. Dans l'eau il se trouve sous forme dissoute et la solubilité maximale de l'oxygène (saturation) dans l'eau dépend de deux facteurs : la température et la salinité. Typiquement une eau chaude à saturation contient moins d'oxygène qu'une eau qui serait plus froide (Carpenter, 1966). De même pour la salinité, plus l'eau est saline moins il y a d'oxygène à saturation. Plusieurs phénomènes bio-géo-chimiques, d'origine naturelle ou anthropique, font varier les taux d'oxygénation en dessous et au dessus du seuil de saturation (Eldridge and Roelke, 2010), certains ont tendance à augmenter les quantités d'oxygène, ceci est le cas pour la photosynthèse. Au contraire certains phénomènes font varier l'oxygène en dessous du taux de saturation, c'est le cas pour la respiration, la dégradation organique et la dénitrification de rejets urbains par exemple (Nishio et al., 1982; Bianchi et al., 1994; Abril et al., 2010). Ces processus provoquent des baisses d'oxygénation des eaux, entraînant ainsi, dans les cas les plus sévères, une carence en oxygène dans l'eau, aussi appelée hypoxie. Les eaux sont communément considérées comme hypoxiques lorsque le taux d'oxygène dissous chute en dessous de $3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Diaz, 2001). On parle d'anoxie (absence ou quasi-absence d'oxygène) lorsque les concentrations en oxygène chutent en dessous de $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Rosenberg et al., 1991). A titre informatif une eau douce à 20°C contient $8,84\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ à saturation.

Les phénomènes hypoxiques observés en estuaire et en zone côtières peuvent avoir des origines anthropiques ou naturelles (Diaz and Rosenberg, 2008). La plupart des zones hypoxiques sont situées dans des zones fortement habitées ou dans des zones où les apports en nutriments sont importants (Diaz and Rosenberg, 2008). Depuis quelques décennies une augmentation des apports en nutriments a lieu dans un grand nombre de zones côtières et estuariennes habitées. Cette augmentation est premièrement imputable à l'agriculture intensive, à l'utilisation de fertilisants, à la déforestation et aux rejets d'effluents domestiques (Wu, 2002). L'augmentation des populations humaines engendre une intensification de l'agriculture, de l'urbanisation et de l'industrialisation (Verdonschot et al., 2013). Cette intensification engendre une multitude de stress environnementaux dont l'augmentation des quantités de nutriments dans l'eau, aussi appelée eutrophisation (Nixon, 1995). La menace majeure découlant de l'eutrophisation est la chute des concentrations en oxygène (Breitburg, 2002). L'hypoxie a été observée dans plus de 400 systèmes différents sur la planète soit une surface hypoxique totale de 245000km^2 (Diaz, 2001). Du fait du changement climatique et de l'augmentation de température qui en découle les phénomènes d'hypoxie ont tendance à se répandre, s'intensifier et s'allonger dans les décennies à venir (Diaz and Rosenberg, 2008).

Ces hypoxies ont un impact sur la biocénose, visible par des diminutions d'abondance et de biomasse des organismes observés dans les zones hypoxiques (Diaz and Rosenberg, 1995; Gray et al., 2002; Wu, 2002). Lorsque l'hypoxie est sévère, prolongée ou récurrente certaines

espèces peuvent disparaître de la zone hypoxique, entraînant ainsi une chute de biodiversité dans les systèmes touchés (Breitburg, 2002). L'impact de l'hypoxie dépend de la durée, de l'étendue et de la sévérité des événements hypoxiques (concentration en oxygène) (Gray et al., 2002; Wu, 2002; Levin et al., 2009). Tous les compartiments biologiques sont touchés par les événements hypoxiques (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008), mais des réponses différentes sont observées entre taxons, groupes fonctionnels, entre espèces d'un même taxon ou même entre différents stades de développement d'une même espèce (Wannamaker and Rice, 2000; Gray et al., 2002; Liu et al., 2011). Il existe des seuils d'oxygène à partir desquels les organismes souffrent du manque d'oxygène. On différencie les seuils létaux (causant la mort) des seuils sublétaux, c'est-à-dire les seuils à partir desquels les organismes subissent des effets délétères sans pour autant mourir. Les effets sublétaux de l'hypoxie sont assez bien documentés et très nombreux (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008). Ces effets se font ressentir à différentes échelles allant du moléculaire à l'écosystémique (Wu, 2002). En effet l'hypoxie entraîne des modifications au niveau de l'expression de certains gènes (Lai et al., 2006). De ces expressions découlent des cascades biochimiques impactant la physiologie des organismes (Val et al., 1995). On peut citer par exemple un passage à un métabolisme anaérobie (Dalla Via et al., 1998), ou encore une réduction de l'activité locomotrice liée à une protéine se fixant sur l'ADN régulant les gènes inductibles par l'hypoxie (Wang and Semenza, 1993). Les effets de l'hypoxie se font aussi ressentir au niveau comportemental, la réponse la plus commune étant une augmentation du rythme ventilatoire (Kramer, 1987). La totalité des réponses des organismes à l'hypoxie, se traduit au niveau écosystémique avec la disparition temporaire ou définitive des espèces les plus sensibles (Utne-Palm et al., 2010), entraînant des altérations des réseaux trophiques (Breitburg et al., 1997) et des cycles bio-géo-chimiques (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2010). La quasi-totalité des organismes marins sont poïkilothermes et la régulation de leur métabolisme dépend directement de la température du milieu. Ainsi une augmentation des températures entraîne une augmentation des métabolismes et donc des besoins en oxygène. Dans le contexte actuel de réchauffement climatique, les seuils létaux et sublétaux de l'hypoxie seront atteints plus fréquemment dans les années à venir (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011).

Le tronçon fluvial de la Garonne au niveau de la communauté urbaine de Bordeaux présente occasionnellement de faibles valeurs d'oxygénation des eaux (Etcheber, Schmidt et al. 2011). Dans le contexte actuel de croissance démographique et de changement climatique, un système de mesures haute fréquence appelé MAGEST (MArel Gironde ESTuaire) a été mis au place afin de répondre aux besoins actuels et futurs en terme de données de surveillance de la qualité de l'eau. Les séries temporelles haute-fréquence enregistrées par les 4 stations MAGEST permettent d'étudier le fonctionnement de l'estuaire sur des échelles de temps allant de quelques heures à plusieurs années. De même qu'en Gironde, l'estuaire de la Loire est soumis à des crises hypoxiques épisodiques au niveau de Cordemais et de la zone urbaine du Pellerin (Chaudon 2005), un système de surveillance similaire au réseau MAGEST a été mis en place, il se nomme SYVEL (**SY**stème de **Veille** dans l'**Estuaire** de la **Loire**).

Ce rapport s'articule en deux parties ; une première sous forme d'étude bibliographique traitant des facteurs influençant l'hypoxie et les conséquences de ces événements sur les organismes vivants. Les réponses biologiques aux phénomènes hypoxiques sont décrites à quatre échelles spatiales : l'échelle moléculaire, l'échelle physiologique, les réponses au niveau comportemental et enfin les effets de l'hypoxie au niveau écosystémique. La deuxième partie est centrée sur la Garonne et plus particulièrement sur Bordeaux. Cette deuxième partie présente les conditions favorisant l'hypoxie en Garonne et les effets potentiels des hypoxies sur les espèces locales.

2 Matériel et méthodes

2.1 Etude bibliographique

Notre étude bibliographique est basée sur un total de 245 articles dont 132 sont cités dans le texte. La totalité des articles proviennent du Web of Knowledge v5.10 (<http://apps.webofknowledge.com/>), les autres documents de type rapport d'étude nous ont été fournis par des tiers.

Pour cette étude nous avons recherché dans la littérature les mentions d'hypoxie en milieu aquatique et les différentes causes naturelles et anthropiques de ces hypoxies. Nous avons ensuite cherché à identifier les organismes les plus touchés par les crises hypoxiques ainsi que les niveaux d'effets physiologiques. Enfin, les effets sur l'écosystème ont également été recherchés. Cette étude bibliographique propose une synthèse des connaissances sur les phénomènes hypoxiques en milieu aquatique.

2.2 Les crises hypoxiques en estuaire

2.2.1 Site d'étude

L'estuaire de la Gironde se forme à partir de la confluence de la Garonne et de la Dordogne. D'une superficie de plus de 625 km² à marée haute, la Gironde est le plus grand estuaire macrotidal d'Europe occidentale (Etcheber et al., 2011). Il est caractérisé par deux chenaux, séparés par une succession d'îles : un chenal de navigation, plus profond, longeant la rive Médoc (rive gauche) et le chenal de Saintonge, plus large, se situant sur la rive droite. Avec un cycle de marée de type semi-diurne qui dure 12h25, et un coefficient d'amplitude oscillatoire (14 jours). La communauté urbaine de Bordeaux se situe sur la Garonne à 25 km de la confluence avec la Dordogne. Le marnage de la Garonne à Bordeaux atteint 6m pour des marées de vives eaux de coefficients supérieurs à 110. On trouve régulièrement à Bordeaux une zone de turbidité maximum aussi appelée « bouchon vaseux ». La turbidité du bouchon vaseux peut atteindre de valeurs dépassant 10000 NTU pour des taux de matières en suspension supérieurs à 80g.L⁻¹.

2.2.2 Données physico-chimiques

L'étude des paramètres physico-chimiques en Garonne et en Loire est basée sur des jeux de données hautes fréquences provenant des réseaux MAGEST et SYVEL.

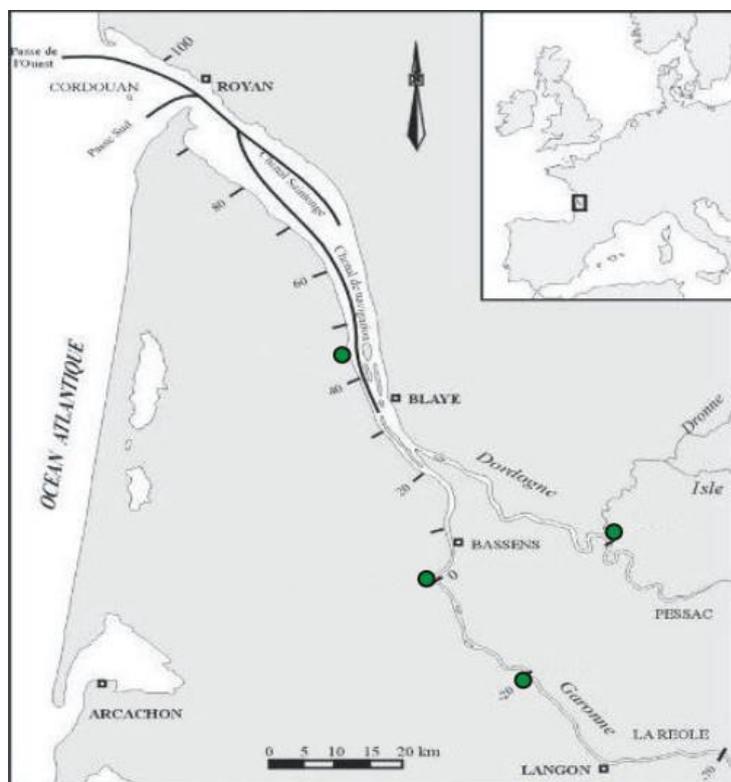


Figure 1 : Réseau de mesure haute fréquence MAGEST dans le système Gironde-Garonne-Dordogne

Les quatre sites du réseau MAGEST (Figure 1) sont instrumentés avec un système de mesure en temps réel de quatre paramètres physico-chimiques : température, turbidité, salinité et oxygène dissous. Le pas de temps entre les mesures est de 10 minutes soit 144 valeurs par jour. Les prélèvements sont effectués en sub-surface, l'eau est pompée à 1m de profondeur et circule dans une cellule de mesure où les 4 paramètres sont mesurés.

Les données physico-chimiques de la Loire sont fournies par le réseau d'observation SYVEL qui contient 6 stations de prélèvements le long de l'estuaire de la Loire (Figure 2). Les mesures sont réalisées en sub-surface (de quelques dizaines de cm à 1 m de profondeur suivant les stations) et le pas de temps est de 30 minutes.

Pour les deux réseaux d'observation de la Loire et de la Garonne les paramètres mesurés sont exprimés en NTU pour la turbidité, en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pour l'oxygène, en PSU pour la salinité et en $^{\circ}\text{C}$ pour la température.



Figure 2 : Réseau de mesure haute fréquence SYVEL sur l'estuaire de la Loire

2.2.3 Impact potentiel des crises hypoxiques sur la transparence migratoire

Parmi les espèces les plus sensibles à l'hypoxie en estuaire, on trouve la grande alose (*Alosa alosa*) et notamment son stade juvénile (aloseon) pour lequel nous notons une fragilité marquée lors de la migration de dévalaison. De façon à estimer les impacts potentiels des crises hypoxiques sur la transparence migratoire, des calendriers de degré de favorabilité à la migration des aloseons ont été réalisés avec le logiciel Excel du package Microsoft Office. Les données physico-chimiques proviennent du réseau MAGEST, des moyennes à l'heure ont été calculées pour la température et l'oxygène.

2.2.4 Analyse statistique

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé avec les logiciels R (<http://cran.r-project.org/>) et Excel du package Microsoft Office.

2.2.4.1 Modélisation de l'oxygène

Un modèle statistique de type GLS (Generalized Least Square, package nlme, fonction gls) a été employé pour modéliser les relations entre la teneur en oxygène dans l'eau et les paramètres physico-chimiques. Ce modèle permet de s'affranchir de l'hypothèse d'indépendance des résidus en entrant dans le modèle un paramètre d'autocorrélation. L'analyse des autocorrélogrammes réalisés sur la variable expliquée a conduit à utiliser une autocorrélation d'ordre 1. D'autre part les données de débits fluviaux ne sont disponibles qu'à un pas de temps journalier, de ce fait des moyennes journalières ont été calculées pour chacun des paramètres mesurés par les stations MAGEST. Ainsi le modèle a été réalisé sur les moyennes journalières des paramètres mesurés par les stations MAGEST, le modèle s'écrit :

Oxygène $\sim X_1 + X_2 + X_3 + X_i$, autocorrelation = corAR1(form = ~t), family = Gaussian

avec $X_{1...i}$ représentant les paramètres physico-chimiques et t un vecteur numérique correspondant à l'ordre d'autocorrélation de chacune des observations.

Les analyses de déviations ont été réalisées via une ANOVA avec un test F afin de calculer les contributions de chacun des facteurs à la variabilité de l'oxygène. Le pourcentage de variabilité expliqué a été calculé grâce à la formule suivante :

$$R^2 = 1 - \frac{\text{Ecart} - \text{type}(\text{résidus du modèle})}{\text{Ecart} - \text{type}(\text{résidus du modèle null})}$$

Deux modèles ont été réalisés sur deux années différentes : 2006 et 2009. Ces années ont été choisies car les séries chronologiques sont complètes pour la période estivale et parce que 2006 est l'année où l'oxygène était le plus bas et 2009 est une année relativement moyenne.

2.2.4.2 Etablissement des seuils propices aux crises hypoxiques

Un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM, package `ade4`, fonction `lmer`) a été utilisée afin de calculer les probabilités d'avoir un phénomène d'hypoxie ($O_2 < 3 \text{mg.l}^{-1}$). En effet cet outil statistique permet d'avoir comme variable expliquée une variable autocorrélée suivant une loi binomial. L'effet de différents facteurs physico-chimiques ont été ainsi testés : le Débit, la température et le coefficient de marée. Le modèle s'écrit :

$(O_2 < 3 \text{mg/L}) \sim X_1 + X_2 + X_3 + X_i$, autocorrelation=`corAR1(form=~t)`,family=binomial

avec $X_{1...i}$ représentant les facteurs physico-chimiques influant sur la teneur en oxygène et ($O_2 < 3 \text{mg.l}^{-1}$) la variable binomiale expliquée et t un vecteur numérique correspondant à l'ordre d'autocorrélation de chacune des observations.

Les données ajustées par le modèle sont comprises entre 0 et 1 et correspondent aux probabilités d'avoir un phénomène d'hypoxie, soit une concentration en oxygène inférieure à 3mg.L^{-1} . On peut alors obtenir un graphique pour chaque variable explicative avec en ordonnée les valeurs ajustées par le modèle et en abscisse les valeurs que prennent les variables explicatives.

Une ANOVA avec un test du χ^2 a été menée afin d'analyser la déviance et la significativité de chacun des paramètres du modèle.

2.2.4.3 Analyse rétrospective des potentielles crises hypoxiques

Les données de température de l'eau et de débit fluviaux à la Réole sont connues depuis 1983 en Garonne et sont fournies par le Grand Port Maritime de Bordeaux, ainsi nous avons pu recenser le nombre de jours où des problèmes d'hypoxie ont pu survenir à partir des seuils calculés grâce au GLMM.

Etude bibliographique

3 L'hypoxie dans le monde

Aujourd'hui plus de 245 000 km² provenant d'au moins 400 zones différentes du monde sont affectés par des problèmes d'hypoxie voire d'anoxie (Steckbauer et al., 2011) (Figure 3). Dans la plupart des eaux côtières et estuariennes les valeurs moyennes d'oxygénation des eaux sont en déclin (Diaz, 2001; Diaz and Rosenberg, 2008). Ce déclin est plus rapide et prononcé dans les zones dites eutrophisées où les apports en nutriments sont excédentaires. La Mer Baltique est un bon exemple de large zone touchée par des événements hypoxiques, avec environ 20% de sa surface considérée comme hypoxique depuis au moins 50 ans (Conley et al., 2007). Des phénomènes hypoxiques sont observés aux quatre coins du globe : le Kattegat, le golfe du Mexique, la Mer Noire, la Mer de Chine ainsi qu'un grand nombre d'estuaires européens régulièrement touchés par ces sous-oxygénation des eaux (Diaz and Rosenberg, 2008). Par exemple, on recensait 9000km² de zone hypoxique dans le Golfe du Mexique entre 1985 et 1992. Entre 1993 et 1999 cette zone s'est étendue pour atteindre 16000 à 20000 km² ; de la même façon la mer de Chine contenait une zone hypoxique d'environ 1000km² en 1980 et en 1999 elle était de 13700km² (Wu, 2002). Ces phénomènes tendent à se répandre et à s'intensifier du fait de l'action combinée de l'eutrophisation et de l'augmentation des températures (Diaz, 2001; Gray et al., 2002; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011).

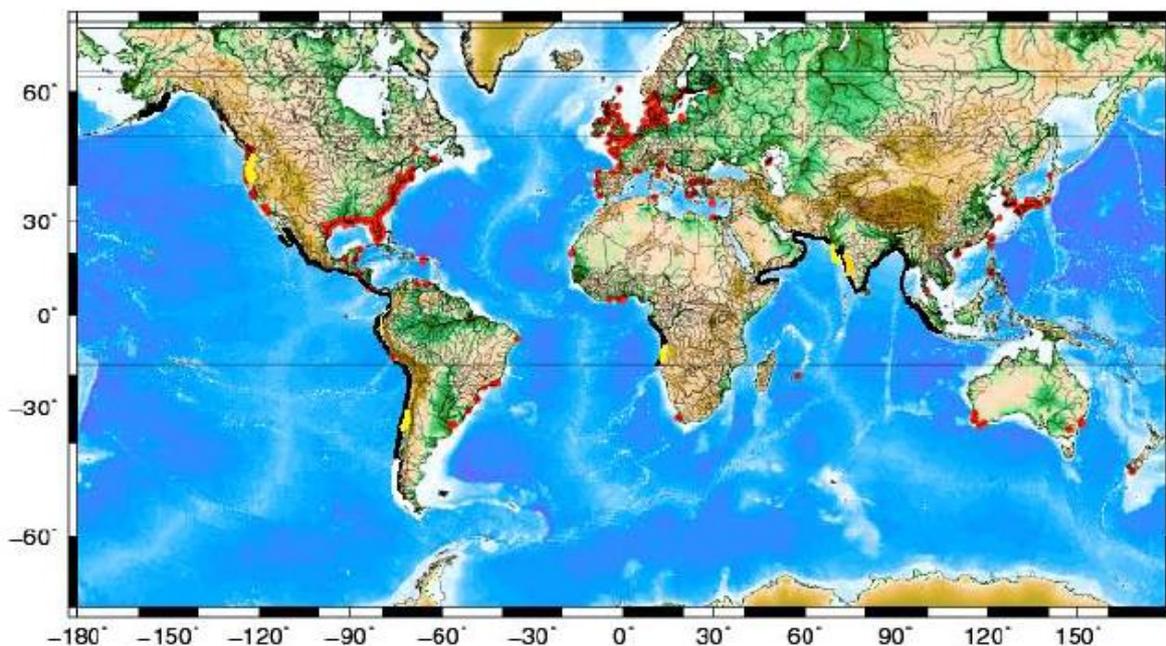


Figure 3 : Distribution mondiale des zones hypoxiques ; en rouge : hypoxie causée par l'eutrophisation ; en jaune : hypoxie naturelle peu profonde (<200m) ; en noire : hypoxie naturelle profonde (>200m).

4 Causes de l'hypoxie

Plusieurs phénomènes conduisent à l'hypoxie, certains facteurs ont une cause humaine (eutrophisation) mais un certain nombre de conditions physiques sont aussi requises pour l'apparition de ces événements (temps de résidence des eaux long, forte température, stratification de la colonne d'eau). Les zones hypoxiques sont de plus en plus observées et répandues sur la planète. Diaz et Rosenberg (2008) recensaient plus de 400 systèmes estuariens touchés depuis les années 60, soit une surface hypoxique d'environ 245000 km². La plupart des zones hypoxiques sont liées à des zones fortement habitées ou à des zones où l'apport en nutriment est excédentaire. Les phénomènes d'hypoxie provoqués par l'activité humaine sont chroniques, contrairement aux zones naturellement hypoxiques qui sont ponctuellement mal oxygénée, ces dernières sont le plus souvent observées dans les zones d'upwelling (Hernandez-Miranda et al., 2012) (Figure 3).

4.1 Facteurs physiques

Les principaux facteurs physiques influençant l'oxygène dissous sont la diffusion entre l'eau et l'air et la dispersion horizontale nette. La diffusion est fonction du vent, des vagues, de la saturation en oxygène de l'eau et de la diffusion verticale de l'oxygène (Kemp and Boynton, 1980). La dispersion horizontale nette est très difficile à évaluer en estuaire du fait des orientations changeantes du courant et de la différence d'oxygénation observable entre l'eau de mer et l'eau du fleuve (Irigoien et al., 1999).

4.1.1 Dissolution O₂

La température influe sur l'affinité de la molécule de dioxygène O₂ avec celle de l'eau H₂O, à saturation une eau chaude est moins oxygénée qu'une eau froide (Carpenter, 1966) (Figure 4). De même que pour la température, la salinité influe sur la dissolution de l'oxygène ; typiquement plus l'eau est salée, moins il y a d'oxygène à saturation.

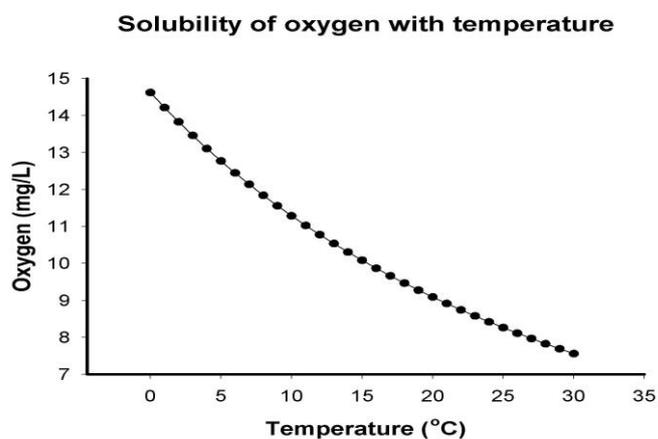


Figure 4 : Solubilité de la molécule d'oxygène dans l'eau en fonction de la température (tiré de Kimberly, 2006)

4.1.2 Débit et temps de résidence

Le débit fluvial affecte à la fois la physique, la chimie et la biologie des estuaires. Le débit influence directement le temps de résidence de la masse d'eau qui lui-même est considéré comme un paramètre important quant à la qualité des eaux estuariennes. Globalement, plus le débit fluvial est fort, plus les temps de résidence de la masse d'eau sont courts, limitant ainsi la stagnation des eaux et donc les risques d'hypoxie. Lorsque le débit du fleuve est bas pendant une période prolongée (étiage), la santé écologique et biologique de l'estuaire peut-être affectée (Huang et al., 2011).

Dans un estuaire macrotidal, le temps de résidence de la masse d'eau est affecté par les courants tidaux, le débit fluvial et la pente, et est intimement relié aux courants résiduels de marée ou courant résiduel eulérien (Yuan et al., 2007). Il a été prouvé dans la baie de Chesapeake, qu'un temps de résidence de la masse d'eau long est responsable des phénomènes d'hypoxie observés (Whitall et al., 2007).

Ainsi les processus hydrodynamiques jouent un rôle clé dans l'apparition ou non des phénomènes d'hypoxie ; un temps de résidence long est un facteur facilitant l'eutrophisation dans les écosystèmes estuariens (Chai et al., 2006) et donc la déplétion en oxygène. L'augmentation du temps de résidence joue aussi indirectement sur l'augmentation des effluents reçus et donc sur l'effet de dilution des effluents dans la masse d'eau.

4.1.3 Stratification de la colonne d'eau

Les eaux stratifiées sont généralement sensibles aux problèmes d'oxygène en raison du faible mélange s'opérant entre les couches supérieures d'eau et les couches inférieures. Les couches d'eaux les plus profondes ne reçoivent que peu d'oxygène de l'atmosphère et ont donc tendance à s'appauvrir en oxygène au fil du temps. La stratification de la colonne d'eau est facilitée lorsque la température augmente (Geyer, 1993). La stratification en estuaire est parfois partielle car elle survient uniquement pendant un laps de temps limité au moment de la renverse de la marée. Il arrive cependant qu'en période de crue, une stratification se mette en place avec une couche de surface correspondant à l'écoulement fluvial continu vers la mer alors que le jeu des marées se fait sentir au fond avec une pénétration de l'eau salée vers l'amont à la marée montante et un retrait de cette couche plus salée au jusant.

4.1.4 Réaération et turbidité

En estuaire les échanges gazeux entre l'eau et l'atmosphère sont très variables et dépendent d'un certain nombre de facteurs comme le vent, le courant, et la surface de l'estuaire (Jahne et al., 1987). Plus la surface de l'eau est agitée (clapot) et plus on augmente la surface de contact air/eau, favorisant la diffusion de l'oxygène vers les couches inférieures. De manière générale une grande surface d'échange entre l'eau et l'atmosphère, des vents forts et un hydrodynamisme important améliorent les échanges gazeux. Cependant une récente étude réalisée sur l'estuaire de la Gironde a montré que le taux de matières en suspension pouvait

avoir un effet négatif sur la réaération atmosphérique de l'eau (Abril et al., 2009). En effet la sédimentation des matières en suspension observées dans l'estuaire crée un gradient de densité dans la colonne d'eau, et donc une stratification (Geyer, 1993). Cette stratification affecte l'énergie cinétique turbulente en la réduisant. Les fortes teneurs en matières en suspension ont tendance à accroître la viscosité de l'eau et donc à réduire les turbulences dans la colonne d'eau (Dyer et al., 2004). Ces deux phénomènes se conjuguent dans le bouchon vaseux et tendent à réduire la turbulence et donc les échanges gazeux. Dans les estuaires, la réaération est donc fonction du vent, des courants, de la surface de l'estuaire et de la turbidité (Abril et al., 2009). Les zones de turbidité maximum ou bouchons vaseux sont souvent sujette à des manques d'oxygénation des eaux (Uncles et al., 1998).

4.2 Facteurs biochimiques

Les facteurs biochimiques affectant l'oxygène sont nombreux et font varier les teneurs en oxygènes, au dessus (photosynthèse) et en dessous (respiration, dénitrification, dégradation de la matière organique) du seuil de saturation de la molécule d'oxygène dans l'eau.

4.2.1 Respiration

La respiration des organismes aquatiques consomme de l'oxygène et plus la température augmente, plus les demandes en oxygène augmentent, et plus les quantités d'oxygène consommées sont importantes (Levin et al., 2009; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011).

4.2.2 Dégradation de la matière organique et dénitrification

Les réactions de décomposition et d'oxydation de la matière organique nécessitent la présence d'oxygène, des quantités très importantes d'oxygène sont consommées lors de ces réactions (Chaudon, 2005). Dans les estuaires macrotidaux d'énormes quantités de matières organiques sont dégradées. Ces estuaires sont souvent reconnus pour leur rôle d'épurateur physico-chimique et biologique vis-à-vis des matières organiques (Even et al., 2006).

La dénitrification des composés azotés entraîne une forte demande en oxygène (Garnier et al., 2001), elle est très localisée au niveau du bouchon vaseux qui agit comme un réacteur physico-chimique dans les estuaires turbides (Chaudon, 2005). Il a été démontré qu'il existe dans certains milieux à dominance hétérotrophe, une relation linéaire entre la dénitrification et la consommation d'oxygène (Seitzinger and Giblin, 1996). Des processus de dénitrification et de nitrification bactérienne ont été observés dans plusieurs estuaires français comme la Loire (Chaudon, 2005), la Seine (Even et al., 2007), le Rhône (Bianchi et al., 1994) et la Garonne (Lanoux et al., 2013). Ces phénomènes consomment une grande quantité d'oxygène et tendent donc à provoquer des événements hypoxiques.

4.2.3 Photosynthèse

Les espèces végétales aquatiques utilisent la photosynthèse pour produire de la matière organique à partir de gaz carbonique, d'eau et de lumière. La photosynthèse produit de l'oxygène, dans les couches supérieures de la colonne d'eau où la lumière filtre (zone euphotique). Le niveau d'oxygénation des eaux est notamment maintenu par cette photosynthèse et par les échanges entre l'eau et l'air. Dans certains cas, les réactions photosynthétiques sont tellement abondantes que l'on peut observer une sursaturation d'oxygène dans l'eau avec des valeurs de saturation de la molécule d'oxygène dépassant les 120%.

4.3 Facteurs anthropiques

4.3.1 Eutrophisation

Différentes définitions ont été proposées pour le terme d'eutrophisation, nous utiliserons ici la définition donnée par Nixon, (1995) selon laquelle l'eutrophisation est un surplus de matière organique dans un écosystème. Cette définition inclut une augmentation de la production de matière organique due à la production primaire benthique et pélagique, et due aux apports de nutriments provenant des eaux adjacentes ou des rives via les cours d'eau, les sources ponctuelles et diffuses (Andersen et al., 2006). Les apports en nutriments, particulièrement en phosphore et azote, sont les principales causes de l'eutrophisation (Andersen et al., 2006).

Ces augmentations des apports en nutriments peuvent être directement reliées aux denses populations humaines et à l'augmentation du niveau de vie standard qui entraîne une augmentation de la population dans les zones côtières et un accroissement des activités agricoles et industrielles (Steckbauer et al., 2011). L'augmentation de l'utilisation des fertilisants dans l'agriculture et la déforestation sont largement responsables de l'augmentation des apports en nutriments (Nixon, 1990; Diaz, 2001; Gray et al., 2002). L'effet de l'eutrophisation le plus délétère pour la biocénose est l'hypoxie. En effet, les apports en nutriments entraînent une augmentation des quantités de matière organique qui est dégradée. Cette dégradation entraîne des chutes d'oxygénation des eaux et donc des phénomènes hypoxiques (Chaudon, 2005).

4.3.2 Réduction des débits (irrigation, barrages...)

Le débit fluvial est directement relié au temps de résidence de la masse d'eau (Yuan et al., 2007). Or le temps de résidence de la masse d'eau est un facteur prépondérant quant à la qualité écologique des écosystèmes. En outre, les différents ouvrages hydrauliques et les pratiques d'irrigation tendent à réduire les débits fluviaux, augmentant ainsi les temps de résidence de la masse d'eau, sa stagnation et donc les risques d'apparition d'épisodes hypoxiques.

Eby et al., 2005; Long and Seitz, 2008; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008; Froeschke and Stunz, 2012). Les réponses biologiques aux problèmes d'hypoxie dépendent de la durée, de la sévérité et de l'étendue des événements hypoxiques (Levin et al., 2009) ainsi que des stades de développement et des espèces considérées (Wang and Widdows, 1991; Baker and Mann, 1994; Wannamaker and Rice, 2000; Levin et al., 2009).

Les premiers taxons faunistiques à être touchés par l'hypoxie sont les poissons et les crustacés ; viennent ensuite les bivalves, les gastéropodes, les annélides et les nématodes, les cnidaires étant les moins sensibles (Wu, 2002; Bell and Eggleston, 2005; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008; Steckbauer et al., 2011). La méiofaune est assez tolérante aux problèmes d'hypoxie, et souvent plus tolérante que la macrofaune benthique (Wu, 2002; Levin et al., 2009). Les nématodes (dominant en terme d'abondance dans les zones hypoxiques) sont les plus résistants aux phénomènes hypoxiques (Cook et al., 2000; Neira et al., 2001) et peuvent supporter des conditions quasi-anoxiques ($O_2 < 1 \text{ mg.L}^{-1}$) pendant plusieurs heures voire plusieurs jours. Contrairement aux nématodes, les copépodes et autres crustacés sont parmi les plus sensibles à l'hypoxie et subissent des effets délétères dès 3 à 4 mg.L^{-1} (Moodley et al., 1997; Alves et al., 2013).

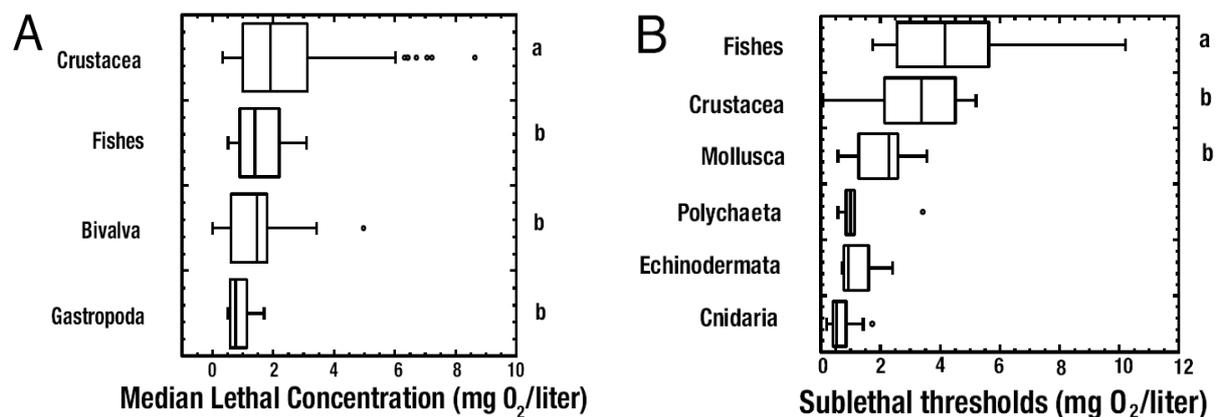


Figure 6 : Valeur médiane des concentrations létales en oxygène dissous (A) et seuils sublétaux (B) des principaux taxons rencontrés dans les zones hypoxiques (tiré de Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008).

Les seuils d'oxygène à partir desquels les organismes subissent un stress, dépendent grandement des organismes considérés, de leur stade de développement et des conditions locales (Wannamaker and Rice, 2000; Gray et al., 2002; Levin et al., 2009; Eerkes-Medrano et al., 2013). Ainsi une seule définition de l'hypoxie ne permet pas d'englober les sensibilités de la totalité des espèces d'un système. Le seuil de 2 mg.L^{-1} a été largement utilisé pour qualifier les eaux d'hypoxiques dans la littérature alors qu'une méta-analyse a montré que de nombreuses espèces subissent des mortalités significatives à des concentrations supérieures à ce seuil. La moitié des espèces testées dans cette analyse est sujette à des mortalités pour des concentrations inférieures à $2,45 \text{ mg.L}^{-1}$ (valeur médiane des seuils létaux pour les espèces testées) (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008). Un seuil plus conservatif permettant de préserver la majeure partie des espèces a été proposé à $4,6 \text{ mg.L}^{-1}$ et correspond au percentile 90 des seuils létaux pour la totalité des groupes étudiés (Figure 6).

Exception faite des mammifères, les organismes marins sont poïkilothermes, ainsi leur métabolisme dépend de la température du milieu. Les seuils d'oxygène à partir desquels on observe un effet délétère sont beaucoup plus hauts que ce que l'on pensait dans les années 90 (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008) particulièrement pour les eaux chaudes (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011). Les temps de survie aux conditions hypoxiques sont réduits et les seuils d'hypoxies augmentent lorsque la température de l'eau augmente (Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011).

Les réponses biologiques à l'hypoxie sont observables à différents niveaux allant de l'échelle moléculaire à l'échelle de l'écosystème en passant par l'individu et la population, tant au niveau physiologique que comportementale.

5.1 Effet de l'hypoxie au niveau moléculaire

La présence de récepteurs moléculaires à l'oxygène a été démontrée chez les levures, les bactéries, les crustacés, les insectes, les poissons, et les mammifères, ce qui indirectement suggère la présence de capteurs oxygéniques dans toutes les cellules du vivant (Bunn et al., 1998). Chez les organismes marins la présence de ces récepteurs moléculaires a été démontrée chez une espèce de crevette *Artemia franciscana* (Kwast and Hand, 1996). De ces capteurs oxygéniques découlent indirectement des messages transductifs. Ces derniers régulent les demandes d'énergie et les voies d'approvisionnement en énergie (anabolisme et catabolisme protéique, glycogénèse et maintien des gradients électrochimiques) dans le but de maintenir l'équilibre énergétique cellulaire dans des conditions de faible renouvellement de l'ATP (Wu, 2002).

Des études *in vitro* réalisées sur des mammifères ont montré que les gènes inductibles par l'hypoxie sont régulés par une protéine ubiquitaire se fixant sur l'ADN et connue sous le nom de Hypoxia Inducible Factor 1 (HIF-1) (Wang and Semenza, 1993; Guillemin and Krasnow, 1997). HIF-1 a notamment été caractérisé chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Soitamo et al., 2001) et chez une espèce de sciaenidé *Leiostomus xanthurus* (Smith et al., 2012).

HIF-1 reçoit des signaux biochimiques par des capteurs moléculaires d'oxygène au travers de réactions d'oxydoréduction et/ou de phosphorylation (Bunn et al., 1998). HIF-1 active la transcription de certains gènes comme : (i) VEGF (Vascular Endothelial Growth factor) afin d'augmenter la prolifération des vaisseaux sanguins et d'augmenter l'approvisionnement en oxygène (Arany et al., 1996), (ii) les transporteurs de glucose (Ebert et al., 1995), (iii) l'énolase pour augmenter la glycogénèse, (iv) les gènes responsables de l'absorption de glucose (Semenza et al., 1994; Semenza et al., 1996) et (vi) une variété de gènes codant pour des enzymes glycolytiques (Wu, 2002) (Figure 7). Chez les poissons, HIF-1 est responsable de l'activation du gène de l'érythropoïétine (EPO) ce qui augmente la production d'érythrocytes et donc la disponibilité en oxygène dans l'organisme (Guillemin and Krasnow, 1997). Il a été

démonstré que ces gènes s'activent en réponse à l'hypoxie en conditions *in vitro* et *in vivo* (Law et al., 2006).

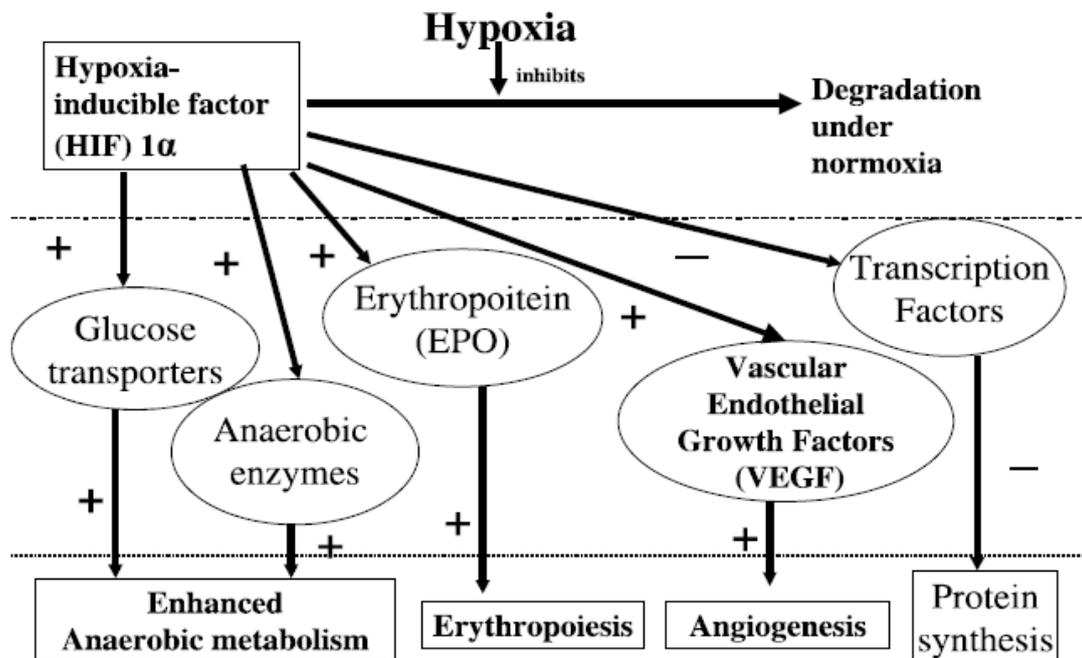


Figure 7 : Principales réponses moléculaires à l'hypoxie et expression génique relative (tiré de (Wu, 2002)).

Des études réalisées *in vitro* ont montré que les gènes activés par HIF-1 peuvent être regroupés en quatre catégories : (1) les gènes liés à la locomotion et à la contraction musculaire, (2) les gènes liés au métabolisme des acides aminés, (3) les gènes liés au métabolisme de l'ATP et (4) les gènes liés à la limitation de la croissance cellulaire (Wang and Semenza, 1993; Semenza et al., 1994; Guillemin and Krasnow, 1997).

Il a été démontré chez le gobie *Gillichthys mirabili* que les processus déclenchés par l'hypoxie peuvent être rassemblés en trois catégories : (1) une régulation négative des gènes de la synthèse protéique et de la locomotion pour réduire les dépenses énergétiques, (2) une régulation positive des gènes codant pour la synthèse anaérobie d'ATP et la néoglucogénèse et (3) la suppression de la croissance cellulaire et une canalisation énergétique vers les processus métaboliques essentiels (Gracey et al., 2001). Les expressions observées lors de cette étude étaient spécifiques à certains tissus, reflétant des rôles métaboliques différents selon les tissus durant l'hypoxie. Il a été prouvé chez certains crustacés que les stades planctoniques (zoé, mysis, mégalo) sont très sensibles aux phénomènes d'hypoxie, l'assimilation azotée et donc la production de protéines est grandement altérée chez les larves planctoniques de crustacés (Yannicelli et al., 2013). Chez les crabes il a été montré que les stades larvaires étaient plus sensibles que les stades post-larvaires (Miller et al., 2002). Les crevettes ovigères soumises à des conditions hypoxiques

subissent des altérations de l'expression de certains gènes dont quelques uns sont relatifs à la reproduction, réduisant au final les capacités reproductives de ces crevettes (Brown-Peterson et al., 2011). De même certains gènes codant pour le métabolisme lipidique, la synthèse et la dégradation protéique sont affectés chez les crevettes ovigères. Une étude menée sur des saumons a mis en exergue une diminution et un retardement de l'expression de certains gènes relatifs aux réponses immunitaires lors d'une exposition à une hypoxie chronique (Kvamme et al., 2013). De ce fait l'hypoxie peut aussi entraîner des altérations du système immunitaires chez les poissons. Tous ces processus moléculaires débouchent sur des cascades biochimiques qui à leur tour ont un effet sur la physiologie des organismes (Wu, 2002).

5.2 Effet de l'hypoxie au niveau physiologique

De manière générale les animaux aquatiques répondent à l'hypoxie en tentant premièrement de maintenir l'approvisionnement en oxygène, puis en conservant autant que possible le budget énergétique de l'organisme et finalement en augmentant l'utilisation des processus métaboliques dérivant d'énergie produite de manière anaérobie (Randall et al., 1992; Dalla Via et al., 1994; Hochachka, 1997; Wu, 2002; Stierhoff et al., 2006).

L'approvisionnement en oxygène se fait principalement par l'augmentation de la quantité d'eau passant dans les branchies et l'augmentation de la capacité de diffusion des branchies par l'augmentation du nombre de lamelles branchiales (Wu, 2002). Les poissons peuvent augmenter leur capacité de transport de l'oxygène en augmentant le nombre de cellules sanguines (Randall et al., 1992; Soldatov, 1996) et/ou en augmentant la capacité de fixation de l'oxygène par l'hémoglobine (Randall et al., 1992; Val et al., 1995). Par exemple les niveaux d'érythropoïétine (EPO) sont augmentés chez le truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* en conditions hypoxiques (Lai et al., 2006).

La seconde stratégie de survie à l'hypoxie est de contrôler les dépenses énergétiques via une dépression métabolique (Wu, 2002). Ceci se traduit notamment par un ralentissement général du métabolisme, une régulation négative de la synthèse protéique et une modification de certaines enzymes régulatrices agissant dans les voies métaboliques aérobie (Dalla Via et al., 1994; Hochachka, 1997). Par exemple le taux de renouvellement de l'ATP peut-être réduit de cinq à vingt fois en périodes d'hypoxie (Hochachka, 1997). D'autre part il a été observé chez la sole *Solea solea* que les métabolismes anaérobies étaient activés lorsque la saturation en oxygène descendait en dessous de 20% de saturation, ceci a été mis en évidence par la présence de lactate (Figure 8), métabolite provenant de réactions anaérobies (Dalla Via et al., 1994).

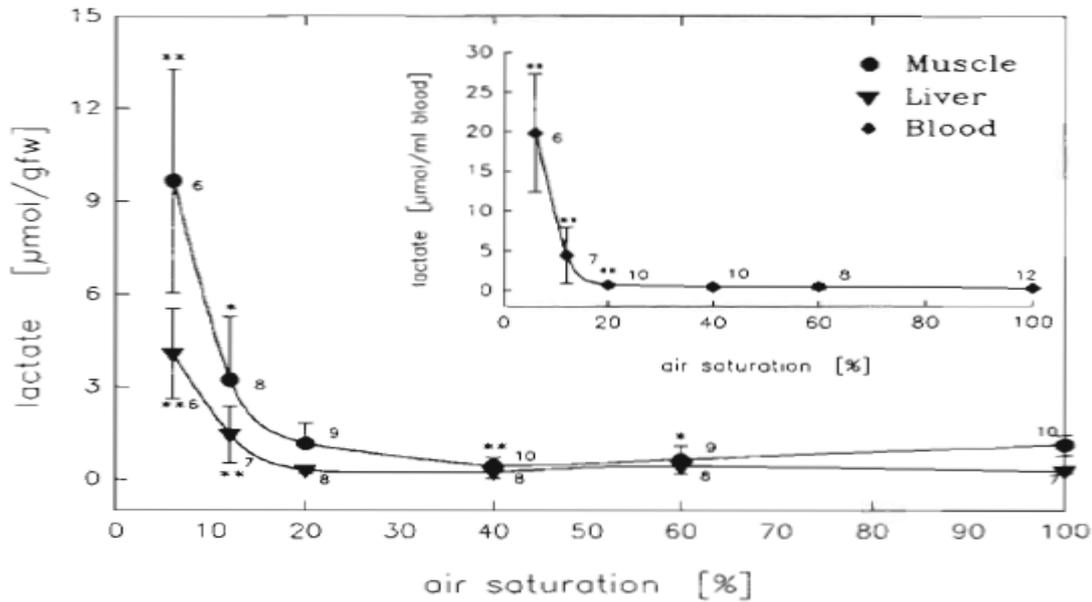


Figure 8 : *Solea solea*. Concentration en lactate dans les muscles, le foie et le sang après 12h d'exposition à l'hypoxie (6, 12, 20, 40, 60 et 100% de saturation). Les poissons ont été préacclimatés pendant deux jours à 80% de saturation (ou 100% pour le contrôle). Une différence significative par rapport au contrôle est indiquée par un astérisque. La moyenne, l'écart-type et le nombre d'observations sont indiqués pour chaque condition. (tiré de Dalla Via et al. 1994)

Des réductions d'activité locomotrice sont observées et correspondent à des économies d'énergie en conditions hypoxiques. Par exemple l'activité nataoire de la morue *Gadus morhua* est réduite de 60% lorsque l'oxygène descend en dessous de 3mg.L^{-1} (Schurmann and Steffensen, 1994). Chez la loquette d'europe *Zoarces viviparus* on observe une immobilisation de l'animal lorsque les concentrations en oxygène dissous chutent en dessous de 2.9mg.L^{-1} (Fischer, 1992). De même pour la sole qui s'immobilise lorsque la concentration en oxygène dissous chute en dessous de 2mg.L^{-1} (Dalla Via et al., 1998). Les phénomènes hypoxiques altèrent à la fois la croissance, le taux d'alimentation, le taux métabolique et la survie des larves de mollusques, affectant ainsi le recrutement et la structure des populations adultes (Wang and Widdows, 1991; Powers et al., 2001). Il a aussi été montré chez des larves de gastéropodes que l'hypoxie entraînait une réduction des taux de respiration et de l'activité nataoire, mais que ces réductions intervenait a des seuils différents selon les espèces considérés, impactant la distribution et l'abondance des espèces de gastéropodes adultes observés dans ce milieu (Liu et al., 2011). Les réponses physiologiques dépendent fortement de la durée d'exposition des organismes aux conditions hypoxiques et du stade de développement (Wang and Widdows, 1991; Dalla Via et al., 1994).

Ces modifications physiologiques peuvent notamment se manifester par des réductions de croissance. Des diminutions de croissance ont été observées chez une espèce d'échinoderme *Amphiura filiformis* (entre $2,7\text{mg.L}^{-1}$ et $1,8\text{mg.L}^{-1}$), chez la moule *Mytilus edulis* (entre $1,5\text{mg.L}^{-1}$ et 0.6mg.L^{-1}) et chez l'huître *Crassostrea virginica* (Diaz and Rosenberg, 1995). L'hypoxie provoque des augmentations du rythme ventilatoire entraînant

un coup énergétique accru affectant l'allocation énergétique dédiée à d'autres voies métaboliques et réduisant la fitness de ces organismes (Kramer, 1987; Pihl et al., 1991; Breitburg et al., 1994). De ce fait une moindre partie du budget énergétique est consacré à la croissance, induisant des réductions du taux de croissance (Petersen and Pihl, 1995).

Les capacités reproductrices des organismes sont elles aussi affectées par les phénomènes hypoxiques. Des augmentations de mortalité larvaire et des diminutions du taux d'éclosion ont été observés chez le hotu (*Chondrostoma nasus*) dans des conditions hypoxiques (Keckeis et al., 1996). Chez certaines espèces de poissons plats, des retards d'éclosion voire des mortalités embryonnaires ont été observés (Mejri et al., 2012). Il a été observé chez certaines espèces une réduction des taux métaboliques entraînant une réduction de croissance et des dérèglements endocriniens touchant les hormones sexuelles, altérant *in fine* les capacités reproductives des poissons (Thomas et al., 2008).

Ces réponses métaboliques et physiologiques entraînent des altérations de la fitness des individus pouvant au final impacter la structure des populations.

5.3 Effet de l'hypoxie au niveau comportementale

Des expériences en laboratoire et sur le terrain ont montré qu'un grand nombre d'organismes aquatiques peuvent détecter et éviter les zones hypoxiques en migrant vers des zones mieux oxygénées (Pihl et al., 1991). Une étude menée sur six espèces de poissons et une espèce de crevette a montré que la totalité de ces organismes pouvaient détecter et éviter les zones hypoxiques mais que les réactions comportementales dépendaient des espèces et des stades de développement considérés (Wannamaker and Rice, 2000). La réponse comportementale la plus courante chez les organismes aquatiques est l'augmentation du rythme ventilatoire (Figure 9) (Kramer, 1987; Pihl et al., 1991; Breitburg et al., 1994; Tallqvist et al., 1999; Wannamaker and Rice, 2000; Taylor and Miller, 2001; Wu, 2002; Decker et al., 2003).

Chez les espèces mobiles le comportement le plus observé est un comportement d'évitement des zones hypoxiques (Wannamaker and Rice, 2000; Eby and Crowder, 2002; Decker et al., 2003; Bell and Eggleston, 2005; Craig and Crowder, 2005; Eby et al., 2005; Domenici et al., 2007). Ces comportements d'évitement augmentent les dépenses énergétiques et donc les risques d'épuisement (Lefrancois et al., 2009). Une réduction de l'activité natatoire pourrait être un avantage du point de vue énergétique car elle entraînerait une consommation d'oxygène moindre, mais une telle réduction de l'activité réduit aussi les chances qu'a le poisson de rencontrer de meilleures conditions d'oxygénation des eaux (Schurmann and Steffensen, 1994). De ce fait les problèmes d'hypoxie altèrent la disponibilité en habitat des poissons et tend à concentrer les poissons dans des zones restreintes et mieux oxygénées (Gray et al., 2002; Switzer et al., 2009).

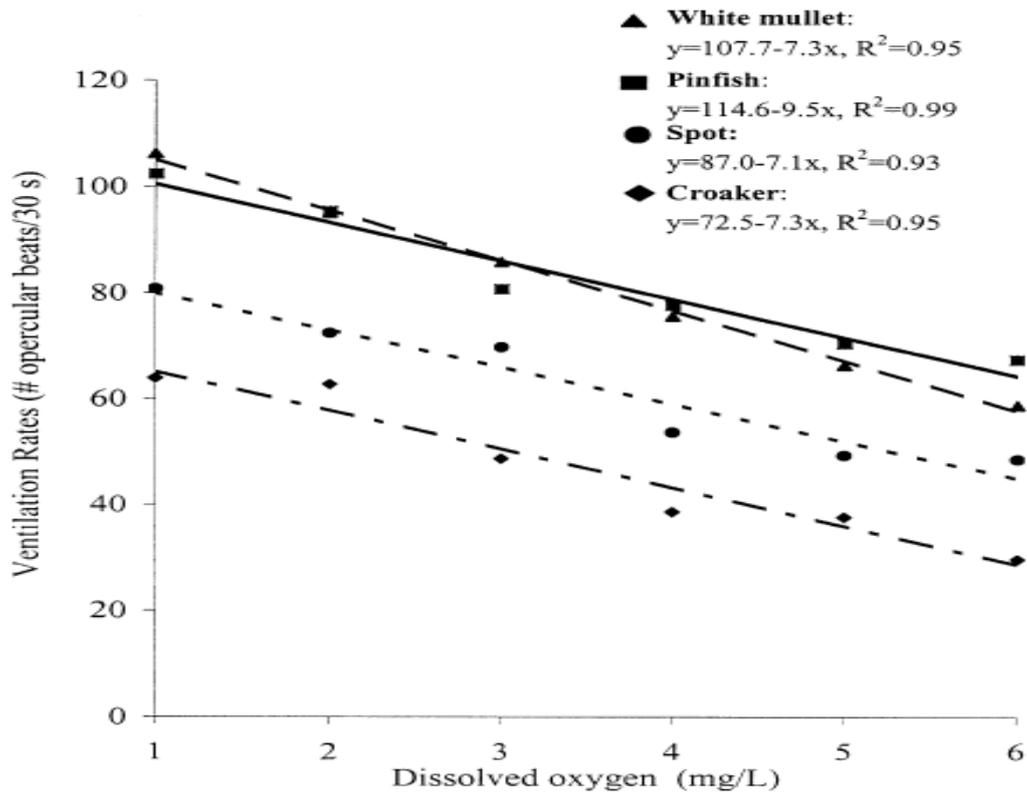


Figure 9 : Rythme ventilatoire en fonction du taux d'oxygène chez *Mugil cephalus* (white mullet, triangle), *Lagodon rhomboides* (Pinfish, carré), *Leiostomus xanthurus* (Spot, cercle) et *Micropogonias undulatus* (Croaker, losange). Les équations et les p-values des régressions linéaires sont données en légende (tiré de Wannamaker et Rice 2000).

Les épisodes hypoxiques entraînent des baisses d'abondance et de biodiversité (Eby and Crowder, 2002), reflétant le comportement d'évitement généralement observé chez les espèces mobiles (Bell and Eggleston, 2005; Utne-Palm et al., 2010). Chez certains poissons plats un autre comportement est observé. Une expérience menée sur des juvéniles de sole a montré que ces derniers réduisaient leur activité lorsque l'oxygène chutait en dessous de 5mg.L^{-1} . L'animal s'immobilise lorsque la concentration en oxygène dissous chute en dessous de 2mg.L^{-1} et un comportement de panique et une nage saccadée vers la surface puis la mort sont observés en dessous de 1mg.L^{-1} (Dalla Via et al., 1998). Cette réduction d'activité a pour but de réduire la demande en oxygène de l'organisme et de maintenir un équilibre énergétique.

Chez une espèce de scianidé *Cynoscion regalis* un comportement d'évitement est observé pour des valeurs d'oxygène inférieures à 2mg.L^{-1} . Chez le gobie *Pomatoschistus microps*, l'exposition à l'hypoxie altère les chances de reproduction. En effet les nids confectionnés par les mâles ont des entrées plus larges, rendant ainsi les œufs plus exposés à la prédation (Jones and Reynolds, 1999).

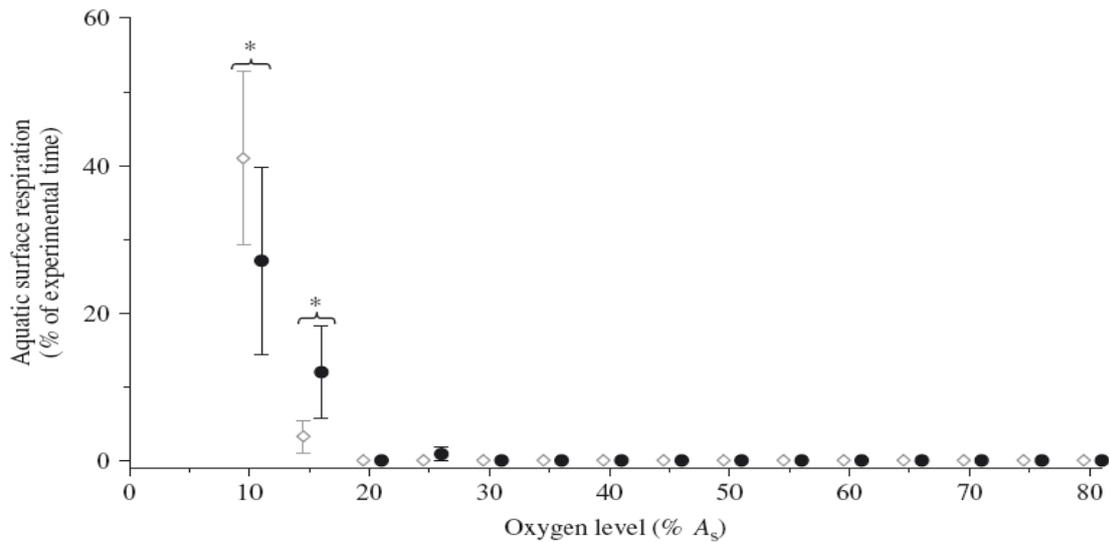


Figure 10 : Proportion de temps dépensé à effectuer une respiration aérienne chez le mullet doré *Liza aurata* (moyenne et écarts-types) à différents niveaux d'oxygénation. * : différence significative entre poisson solitaire (losange blanc) et poissons en banc (rond noir).

Il existe quatre grandes catégories de réponse comportementale à l'hypoxie chez les poissons : (1) changement au niveau de l'activité, (2) augmentation de la respiration aérienne, (3) Augmentation de la respiration proche de la surface et (4) migration verticale ou horizontale et donc changement d'habitats (Kramer, 1987). La respiration aérienne a été observée chez le mullet doré *Liza aurata* (Figure 10) (Lefrancois et al., 2009) et chez le gobie *Pomatoschistus microps* (Petersen and Petersen, 1990). Ces réponses comportementales peuvent aussi dépendre de la proximité avec d'autres poissons de la même espèce, en effet chez le mullet doré une augmentation de l'activité natatoire et une respiration aérienne est observée chez les poissons se déplaçant en banc, alors que ce comportement n'est pas observé chez les individus nageant seuls. Ceci peut être dû à une exposition accrue à la prédation chez les individus se déplaçant seul (Lefrancois et al., 2009). Comme pour les adultes et les juvéniles un comportement d'évitement des zones hypoxiques est observées chez les larves de poissons (Abe and Sakamoto, 2011). Peu après l'éclosion les larves se dirigent vers la surface où l'eau est mieux oxygénée lorsque les eaux du fond sont mal oxygénées.

Les comportements d'évitement n'altèrent en général pas les relations trophiques au sein d'un même taxon étant donné que les prédateurs ont des sensibilités à l'hypoxie similaires à leurs proies. Cependant les capacités locomotrices des poissons sont altérées dans les zones hypoxiques, les rendant plus vulnérables à la prédation par d'autres taxons moins sensibles comme les méduses ou encore des prédateurs aériens comme les oiseaux. Des diminutions de l'activité alimentaire sont aussi observées chez de nombreuses espèces (McNatt and Rice, 2004) comme chez le turbot (Pichavant et al., 2000), le flet américain (Stierhoff et al., 2006), le bar (Thetmeyer et al., 1999) ou encore les larves de moules (Wang and Widdows, 1991).

Durant l'hypoxie beaucoup d'organismes benthiques quittent leur terriers et se déplacent vers la surface du sédiment, ceci est notamment observé chez les annélides, les crustacés et mollusques enfouies dans le sédiment, chez les bivalves on observe une extension des siphons respiratoires, ces réponses comportementales permettent à ces organismes d'atteindre des eaux plus oxygénées (Rosenberg et al., 1991; Moodley et al., 1997; Villnas et al., 2012). Ces altérations du comportement peuvent rendre les organismes plus susceptibles à la prédation (Breitburg et al., 1997; Breitburg et al., 2001; Levin et al., 2009; Utne-Palm et al., 2010). Par exemple les poissons démersaux peuvent changer leurs habitudes alimentaires en conditions hypoxiques et s'orienter vers le macrobenthos désormais vulnérable à la surface du sédiment (Pihl, 1994). A contrario les espèces benthiques peuvent voir leur prédation diminuer du fait de leur plus grande résistance aux phénomènes hypoxiques par rapport à leurs prédateurs (Breitburg et al., 1994; Altieri, 2008; Levin et al., 2009; Essington and Paulsen, 2010). La prédation chez les larves et les juvéniles de poissons peut aussi être augmentée lors des périodes hypoxiques (Breitburg et al., 1997; Tallqvist et al., 1999; Breitburg et al., 2001; Breitburg et al., 2009). Il a été montré dans les eaux du Japon que la prédation des larves de poissons par les méduses était plus importante dans des conditions hypoxiques (Shoji et al., 2005). Les phénomènes hypoxiques altèrent à la fois la croissance, le taux d'alimentation, le taux métabolique et la survie des larves de mollusques, affectant ainsi le recrutement et la structure des populations adultes (Wang and Widdows, 1991; Powers et al., 2001). Alors que la plupart des espèces augmentent leur débit ventilatoire, certaines comme les larves de gastéropodes réduisent leur débit ventilatoire (Figure 11) et leur l'activité natatoire, ces réductions interviennent a des seuils différents selon les espèces considérés, impactant la distribution et l'abondance des espèces de gastéropodes adultes observés dans ce milieu (Liu et al., 2011).

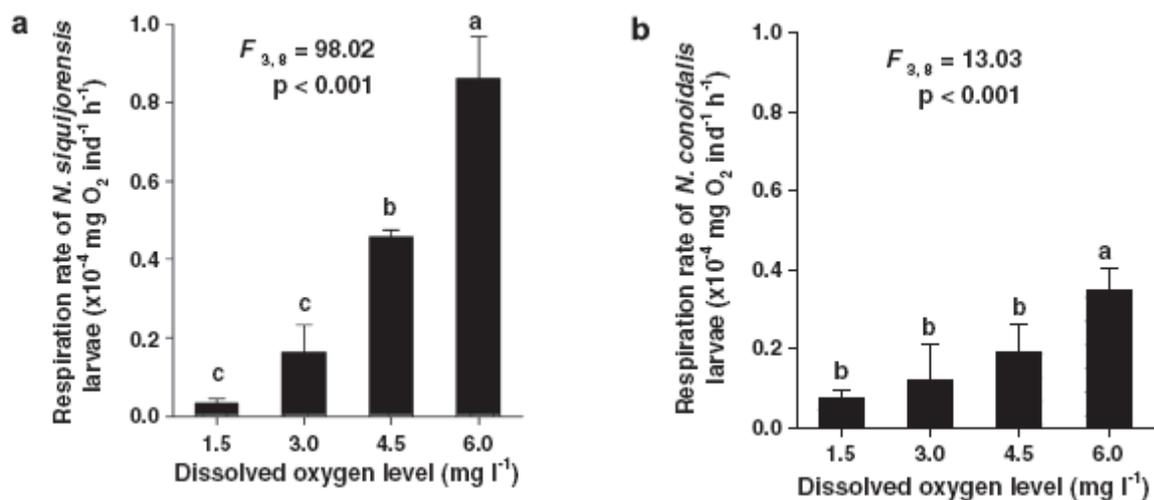


Figure 11: Taux de respiration de larves âgées de 3 jours de (a) *Nassarius siquijorensis* et (b) *Nassarius conoidalis* exposées à différentes concentrations en oxygène. Ces larves ont été acclimatées à 6mg.L⁻¹ juste après leur éclosion. Les moyennes significativement différentes (test de Tukey) sont représentées par des lettres différentes (tiré de Lui et al. 2011).

Les phénomènes hypoxiques entraînent des altérations des réseaux trophiques et de la disponibilité en habitats. Ces phénomènes hypoxiques entraînent une cascade de réponses

biochimiques, physiologiques et comportementales qui se traduit par des modifications des populations au niveau écosystémique.

5.4 Effet de l'hypoxie au niveau écosystémique

Des mortalités massives de benthos et de poissons sont relatés dans de nombreux estuaires et écosystèmes côtiers partout dans le monde, les espèces les plus sensibles ont périodiquement ou définitivement disparues de ces zones (Gray et al., 2002; Wu, 2002; Eby et al., 2005; Diaz and Rosenberg, 2008; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008). Les tolérances et les seuils à partir desquels les organismes subissent un effet délétères sont assez bien documentés (Diaz, 2001; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008; Conley et al., 2009; Steckbauer et al., 2011; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011). Les polychètes par exemple sont parmi les plus résistantes à l'hypoxie et sont de ce fait des bons indicateurs des zones hypoxiques et de pollution organique (Levin et al., 2009). L'hypoxie altère les compositions spécifiques des communautés en éliminant les espèces ou taxons les plus sensibles et en favorisant la prolifération des espèces les plus tolérantes (Wu, 2002). Par exemple en Suède dans le Kattegat, l'hypoxie a entraîné des modifications majeures dans la composition spécifique du macrobenthos ce qui à long terme a modifié les habitudes alimentaires des poissons se nourrissant de macrobenthos (Pihl, 1994). En comparaison les espèces de l'épifaune de la baie de Chesapeake peuvent résister à des événements hypoxiques avec seulement de petits changements au niveau de l'abondance et de la composition spécifique (Sagasti et al., 2000).

Comme les autres facteurs de stress environnementaux, l'hypoxie altère la structure des communautés benthiques et diminue à la fois la composition et la richesse spécifique des poissons et des communautés benthiques (Gray et al., 2002; Wu, 2002; Diaz and Rosenberg, 2008; Levin et al., 2009). D'autre part l'hypoxie modifie aussi les groupes fonctionnels : dans les communautés benthiques les suspensivores et le macrobenthos sont respectivement remplacés par des détritivores et de la méiofaune. Concernant les communautés phytoplanctoniques on observe une dominance des dinoflagellés et du nanoplancton (Diaz and Rosenberg, 1995).

Les espèces mobiles évitent les zones hypoxiques pour rejoindre des zones mieux oxygénées, s'en traduit une réduction en taille des habitats adaptés à la biocénose en normoxie (Kramer, 1987; Wannamaker and Rice, 2000; Eby and Crowder, 2002; Craig and Crowder, 2005; Turnpenny et al., 2006; Switzer et al., 2009). Ces changements d'habitat peuvent entraîner des changements des relations prédateurs-proies, une augmentation des risques de prédation ou une diminution de ces risques, notamment pour les organismes benthiques les plus résistants à l'hypoxie (Breitburg, 1992; Breitburg et al., 1994; Breitburg et al., 1997; Altieri, 2008; Froeschke and Stunz, 2012; Pothoven et al., 2012). Ces modifications de distribution peuvent notamment causer une compétition accrue (Pihl et al., 1991; Pihl et al., 1992; Petersen and Pihl, 1995) et des réductions de l'activité d'alimentation (Pihl, 1994). De ce fait les problèmes d'hypoxie altèrent la disponibilité en habitat des organismes mobiles et tend à concentrer ces organismes dans des zones restreintes et

mieux oxygénées (Switzer et al., 2009). Du fait de cette concentration dans les zones mieux oxygénées des diminutions de croissance densité-dépendante pourraient être observées, impactant au final le taux de croissance globale des populations de poissons (Craig and Crowder, 2005). De plus les poissons rencontrés dans les zones hypoxiques sont des sous-groupes de la faune observée en normoxie, indiquant ainsi que seules les espèces tolérantes subsistent aux conditions hypoxiques (Utne-Palm et al., 2010).

Les pertes de biodiversité dues à l'hypoxie ont des conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes comme par exemple des changements dans la structure trophique, dans les flux de matière organique, dans l'activité de bioturbation ou encore des pertes d'habitats dus à la disparition d'espèces ingénieurs comme les moules, les huîtres ou encore les herbiers (Coleman and Williams, 2002; Levin et al., 2009).

Etude de cas : l'estuaire de la Garonne

6 Les problèmes d'hypoxie à Bordeaux

Diaz et Rosenberg propose un classement des zones hypoxiques selon la durée et la sévérité des phénomènes d'hypoxie. 50 % de ces zones sont hypoxiques suite aux blooms printaniers et le sont pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois dans l'année, 25% de ces zones ne sont hypoxiques que quelques jours dans l'année, 8% de ces zones sont hypoxiques toute l'année et 17% de ces zones sont atteintes d'hypoxies apériodiques : on y observe moins d'un phénomène d'hypoxie par an, ceci correspond à un état écologique préoccupant, indiquant que ce système a atteint un point critique d'eutrophisation (Diaz and Rosenberg, 2008). Bordeaux fait partie de cette dernière catégorie et il est de ce fait logique de se préoccuper dès maintenant des problèmes d'oxygène à Bordeaux.

Contrairement à beaucoup d'autres estuaires où la production primaire tend à maintenir l'oxygène dissous à des concentrations élevées l'estuaire de la Garonne est lui dominé par les processus physiques (Irigoien et al., 1999). Dans un système détritus/minéralisation dominant la dynamique de l'oxygène et des nutriments est rapide (Duarte et al., 2001), ainsi au niveau de Bordeaux les effluents des stations d'épuration sont potentiellement rapidement dégradés. Ceci est dû aux valeurs extrêmes de turbidité observées dans le bouchon vaseux qui en été remonte au niveau de Bordeaux du fait des faibles débits d'étiage (Lanoux et al., 2013). Les variations d'oxygène dans le bouchon vaseux s'expliquent par les concentrations en carbone organique dissous, en ammonium et par l'activité bactérienne qui en découle (Goosen et al., 1995). De faibles concentrations d'oxygène sont souvent rencontrées dans les estuaires à l'abord des grandes villes (Irigoien and Castel, 1997) à cause des effluents rejetés par ces villes dans le fleuve. Ainsi la ville de Bordeaux et ses effluents ont un impact sur les quantités de nutriments et de carbone organique dans l'estuaire de la Garonne, impactant les concentrations en oxygène dissous (Lanoux et al., 2013).

6.1 Les crises hypoxiques en Loire et en Garonne

Tableau 1 : Récapitulatif des crises hypoxiques en Gironde ; min O² : moyenne journalière d'oxygénation des eaux minimale, Nbr.jour O²<5 : nombre de jours par année ou la moyenne journalière d'oxygène était inférieure à 5mg.L⁻¹, Nbr.jour O²<3 : nombre de jours par année ou la moyenne journalière d'oxygène était inférieure à 3mg.L⁻¹; Bor. : Bordeaux ; Pau : Pauillac ; Lib. : Libourne ; Port. : Portets

Année	Min O ²				Nbr. jour O ² <5				Nbr. jour O ² <3			
	Bor.	Pau.	Lib.	Port.	Bor.	Pau.	Lib.	Port.	Bor.	Pau.	Lib.	Port.
2005	3,1	6,4	5,0	3,1	70	0	2	35	0	0	0	0
2006	1,9	4,7	4,3	3,3	94	5	13	62	22	0	0	0
2007	3,8	6,4	6,4	4,9	19	0	0	2	0	0	0	0
2008	3,1	7,0	5,9	4,3	38	0	0	7	0	0	0	0
2009	3,5	6,5	5,5	4,0	49	0	0	16	0	0	0	0
2010	4,3	6,2	6,2	6,5	21	0	0	0	0	0	0	0
2011	3,8	6,2	5,4	5,2	39	0	0	0	0	0	0	0
2012	3,2	5,8	5,8	NA	17	0	0	NA	0	0	0	NA

En Gironde seule la station de Bordeaux est affectée par les crises hypoxiques avec 22 jours d'hypoxie observés en 2006 (Tableau 1). Les autres années ne présentent pas de jour où la moyenne des 143 valeurs mesurées chaque jour est inférieure à 3mg.L⁻¹. A la station de Bordeaux on retrouve chaque année des moyennes journalières inférieures à 5mg.L⁻¹ caractérisant une eau pauvre en oxygène. La seconde station la plus touchée par les faibles valeurs d'oxygène est la station de Portets située en amont de Bordeaux avec 62 jours en 2006 où l'oxygène était inférieur à 5mg.L⁻¹. 2006 est l'année où l'oxygène était le plus bas pour la totalité des stations. 2007 et 2010 sont les années où l'oxygénation était la meilleure dans l'estuaire avec respectivement 19 et 21 jours où l'oxygène était inférieur à 5mg.L⁻¹. Concernant les minimums de concentration en oxygène observée on remarque une fois de plus que 2006 est la pire année avec une concentration journalière de 1.9 mg.L⁻¹. A Pauillac aucune valeur d'oxygène n'est inquiétante, la valeur minimale est observée en 2006 avec 4.7mg.L⁻¹. Toutes les autres années les minimas observés sont supérieurs à 6.2mg.L⁻¹. Il en va de même pour la station de Libourne sur la Dordogne avec un minimum de 4.3mg.L⁻¹ observé en 2006, les autres années l'oxygénation des eaux n'est pas descendue au dessous de 5mg.L⁻¹. Les problèmes d'oxygénation des eaux sont donc concentrés autour de la communauté urbaine de Bordeaux, et ne reste qu'exceptionnels dans les stations de Pauillac et Libourne. La station de Portets présente quelques problèmes d'oxygénation des eaux, notamment en 2005, 2006 avec 35 et 62 jours où l'oxygène était inférieur à 5mg.L⁻¹. Ces faibles valeurs peuvent être expliquées par la proximité de Portets avec la communauté urbaine de Bordeaux et par le déplacement de la masse d'eaux entre ces deux stations.

En Loire, les stations de Paimboeuf et Cordemais sont les plus touchées par les phénomènes hypoxiques, vient ensuite la station de Trentemoult puis celle du Pellerin, enfin la station de Bellevue située en aval de Nantes n'a subi aucune période d'hypoxie sur la période étudiée (Tableau 2). Concernant le nombre de jours d'hypoxie les années 2011 et 2012 sont les plus touchées avec jusqu'à 48 jours d'hypoxie sévère ($<3\text{mg.L}^{-1}$) observés à la station de Cordemais. Quant aux valeurs minimales d'oxygénation des eaux elles ont été observées en 2012 avec des valeurs d'oxygénation très proche de l'anoxie ($0,08\text{ mg.L}^{-1}$ en 2012 à Paimboeuf et Cordemais).

Tableau 2 : Récapitulatif des crises hypoxiques en Loire ; min O² : moyenne journalière d'oxygénation des eaux minimale, Nbr.jour O²<5 : nombre de jours par année ou la moyenne journalière d'oxygène était inférieure à 5mg.L^{-1} , Nbr.jour O²<3 : nombre de jours par année ou la moyenne journalière d'oxygène était inférieure à 3mg.L^{-1} ; Pai. : Paimboeuf, Cor. : Cordemais, Pel. : Le Pellerin, Tre. : Trentemoult, Bel. : Bellevue

Année	Min O ²					Nbr. jour O ² <5					Nbr. jour O ² <3				
	Pai.	Cor.	Pel.	Tre.	Bel.	Pai.	Cor.	Pel.	Tre.	Bel.	Pai.	Cor.	Pel.	Tre.	Bel.
2007	2,1	1,7	5,7	8,2	8,2	54	27	0	0	0	9	4	0	0	0
2008	2,1	1,8	3,5	5,8	6,7	42	59	21	0	0	6	25	0	0	0
2009	2,0	1,1	5,7	5,4	5,9	37	102	0	0	0	10	19	0	0	0
2010	1,4	0,3	0,7	3,7	6,7	54	68	52	13	0	15	21	27	0	0
2011	1,0	1,3	2,2	4,1	6,6	37	117	104	10	0	15	31	19	0	0
2012	0,08	0,08	0,17	0,77	7,55	44	78	51	11	0	12	48	22	0	0

6.2 Hiérarchisation des facteurs physico-chimiques influant sur l'oxygène

Le modèle réalisé sur les données de 2006 explique 84% de la variabilité de l'oxygène, celui réalisé sur les données de 2009 explique 82% de la variabilité de l'oxygène. Pour les deux modèles l'oxygène est négativement affecté par la température et la turbidité, pour le modèle de 2009 l'oxygène est positivement affecté par le Débit. En 2006 la Température est la source majeure des variations de l'oxygène, en d'autres sortes ce sont les fortes température de 2006 qui ont entraîné des valeurs si basse d'oxygène dissous (Tableau 3). En 2009 c'est le débit et la turbidité qui expliquent la majorité de la variabilité de l'oxygène (87%), ce sont donc de bas débits et une forte turbidité due à la remontée du bouchon vaseux qui ont fait varier l'oxygène. En 2009 il n'y a pas eu de crises hypoxiques car la température n'était pas suffisamment élevée : en 2006 la moyenne journalière de température maximal observée est de 28.4°C alors qu'en 2009 elle est de 25.7°C .

Tableau 3 : Analyse de déviance du modèle réalisé sur les données de 2006 (a) et de 2009 (b)

Paramètre	F-value	Contribution (%)	P-value	Pente
Température	12.87	92.6	>0.01	-
Turbidité	1.35	7.4	>0.05	-

(a)

Paramètre	F-value	Contribution	P-value	Pente
Débit	5.72	44.5	>0.01	+
Température	5.46	13.3	>0.01	-
Turbidité	1.69	42.2	>0.01	-

(b)

6.3 Identification des seuils propices aux hypoxies : modèle linéaire généralisé mixte

Le modèle linéaire généralisé mixte avec l'oxygène comme variable expliquée par le coefficient de marée, la température, le débit et la turbidité comme variables explicatives donne un modèle significatif. Nous acceptons alors le modèle avec l'équation :

$$\text{Logit}(p) = -24.961 + 0.904 * T + 0.002 * \text{Coeff} - 0.006 * \text{Débit}$$

Tableau 4 : Analyse de déviance et de significativité du GLM

Paramètre	Pr(>Chi)	Pente	Déviance	Contribution
T	<0.01	+	38.4	74
Coefficient de marée	<0.01	+	13.0	25
Débit	<0.05	-	0.5	1

La probabilité d'avoir de faibles valeurs d'oxygène est affectée positivement par la température ($P < 0.01$) ainsi que par le coefficient de marée ($P < 0.01$) et est négativement affectée par le débit ($P < 0.05$) (Tableau 4). Un modèle linéaire généralisé a été utilisé afin de calculer les probabilités d'avoir une moyenne journalière d'oxygénation inférieure à 3 mg.L^{-1} . Ainsi on observe que les problèmes d'oxygénation ont lieu lorsque la température moyenne journalière de l'eau excède 26°C , cependant on peut observer de faibles valeurs d'oxygène à partir de 21°C (Figure 12). En outre lorsque le débit excède $200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ l'oxygène ne descend jamais en dessous de 3 mg.L^{-1} . Lorsque le débit est inférieur à $200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ il peut y avoir de faibles valeurs d'oxygénation mais celles-ci n'ont pas lieu systématiquement.

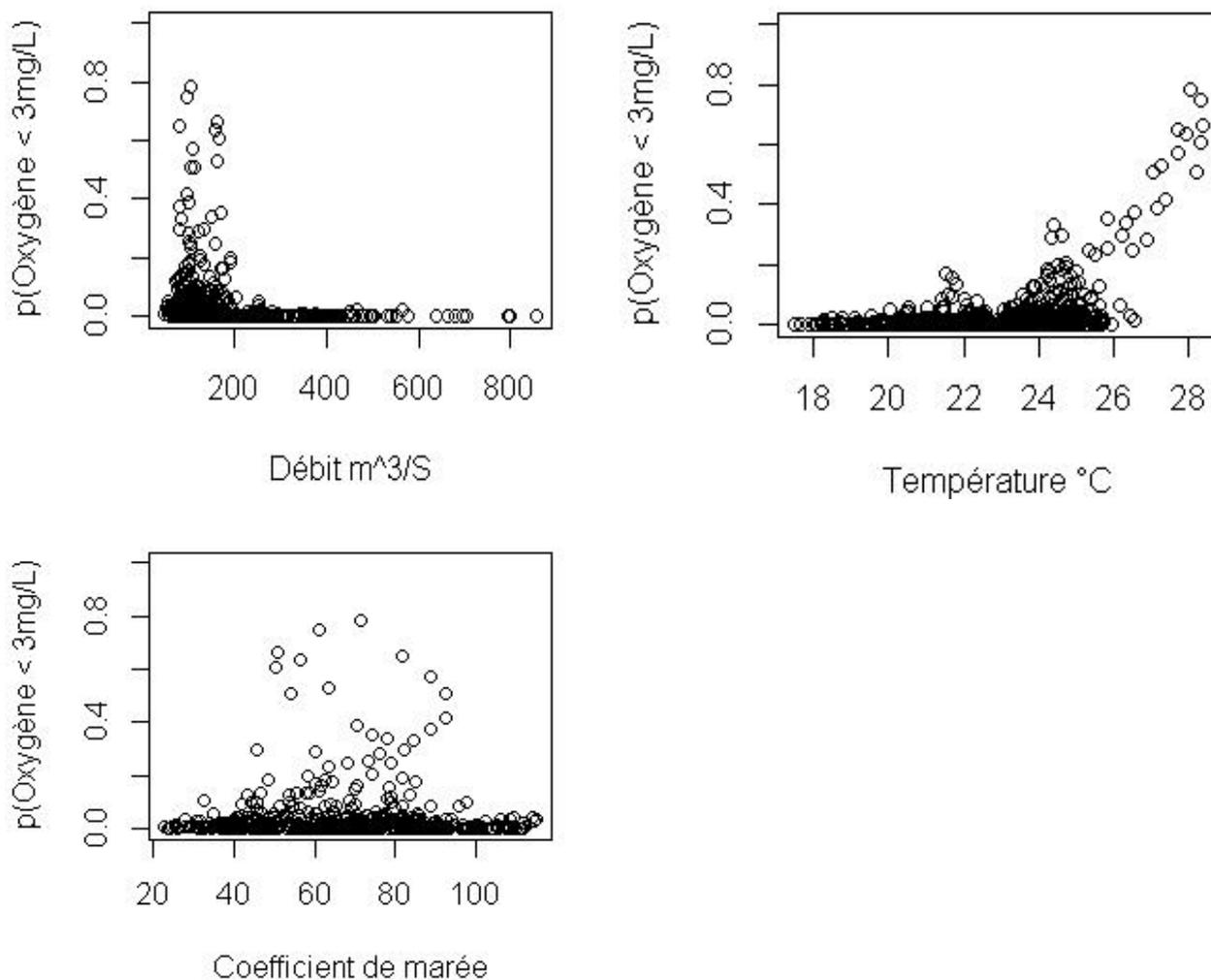


Figure 12 : Probabilité d’avoir une moyenne journalière d’oxygénation inférieure à 3mg.l^{-1} en fonction de la température, le débit et le coefficient de marée.

Concernant le coefficient de marée, les probabilités les plus fortes sont observées lorsque le coefficient de marée est compris entre 45 et 95 (Figure 12). Pour des petits et très grands coefficients de marée aucun problème d’oxygénation n’est observé. L’effet du coefficient de marée sur les crises hypoxiques est de ce fait mitigé.

Les problèmes d’oxygénation (i.e. $\text{O}_2 < 3\text{ mg.l}^{-1}$) surviennent lorsqu’une combinaison de facteurs physico-chimiques se met en place dans l’estuaire. Mis à part pour la température il n’existe pas de seuil critique quant aux risques d’hypoxies concernant le débit et le coefficient de marée. De manière générale de faibles débits ($< 200\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) combinés à de fortes températures ($> 26^\circ\text{C}$) mènent à de faibles valeurs d’oxygénation des eaux.

6.4 Analyse rétrospective des crises hypoxiques à Bordeaux

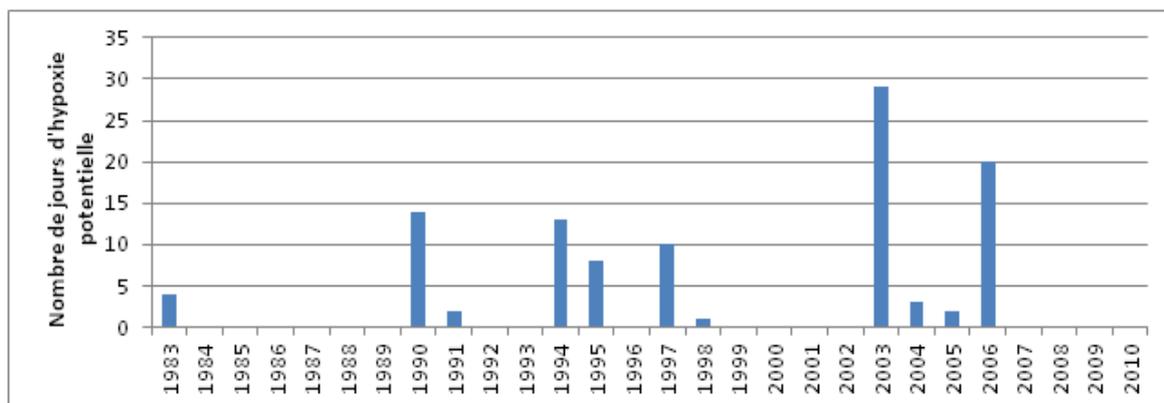


Figure 13 : Nombres de jours où les risques d'hypoxie sont forts en Garonne, calculés à partir des données de températures et de débit à la Réole.

A partir des seuils obtenus grâce au GLMM nous avons réalisé une étude rétrospective des risques d'hypoxies depuis 1983. Les jours où la température excédait 26°C et où le débit était inférieur à $200\text{m}^{-3}\cdot\text{s}^{-1}$ ont été recensés. Depuis 1983 on recense au total 106 jours où les risques d'hypoxie sont élevés (Figure 13). La plus mauvaise année étant 2003 avec 29 jours où la concentration en oxygène était potentiellement inférieure à $3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (0). On remarque une recrudescence du nombre de jours d'hypoxies depuis 1983 avec seulement 4 jours dans les années 80, 48 dans les années 90 et 54 dans les années 2000. Ces phénomènes sont plus éparpillés et moins long dans les années 90 que dans les années 2000. Les épisodes d'hypoxie sont les plus sévères en 2003 et 2006 avec respectivement 29 et 20 jours d'hypoxie potentielle, les prédictions du modèle ne sont pas très éloignées de la réalité : en 2006 l'oxygénation des eaux à Bordeaux était inférieure à $3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pendant 22 jours, de 2007 à 2010 aucun événement d'hypoxie n'a été observé au niveau de Bordeaux. Concernant 2005 aucun phénomène d'hypoxie n'a été répertorié mais deux valeurs s'approchent de $3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$: $3,13\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ et $3,26\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ les 28 et 29 Juin, soit des valeurs proches de l'hypoxie. De ce fait des problèmes d'hypoxie ont certainement déjà eu lieu dans les années précédentes.

6.5 Comparaison Garonne/Loire

Afin d'étudier les causes des crises hypoxiques en Loire et en Garonne nous avons comparé la station de Bordeaux avec deux stations de la Loire, Trentemoult et Cordemais. Nous avons choisi Trentemoult pour analyser un possible effet position dans l'estuaire. En effet Trentemoult et Bordeaux présentent des valeurs de salinité similaires (Wilcoxon ; $p>0.05$) (Figure 14), ainsi ces deux stations sont situées au même niveau de leurs estuaires respectifs. Nous avons choisi la station de Cordemais pour examiner l'effet bouchon vaseux sur les teneurs en oxygènes. Bien que les valeurs de turbidité soient bien plus élevées en Garonne

qu'en Loire la station de Cordemais présente les plus fortes valeurs de turbidité sur la Loire et est donc placée au niveau du bouchon vaseux de la Loire.

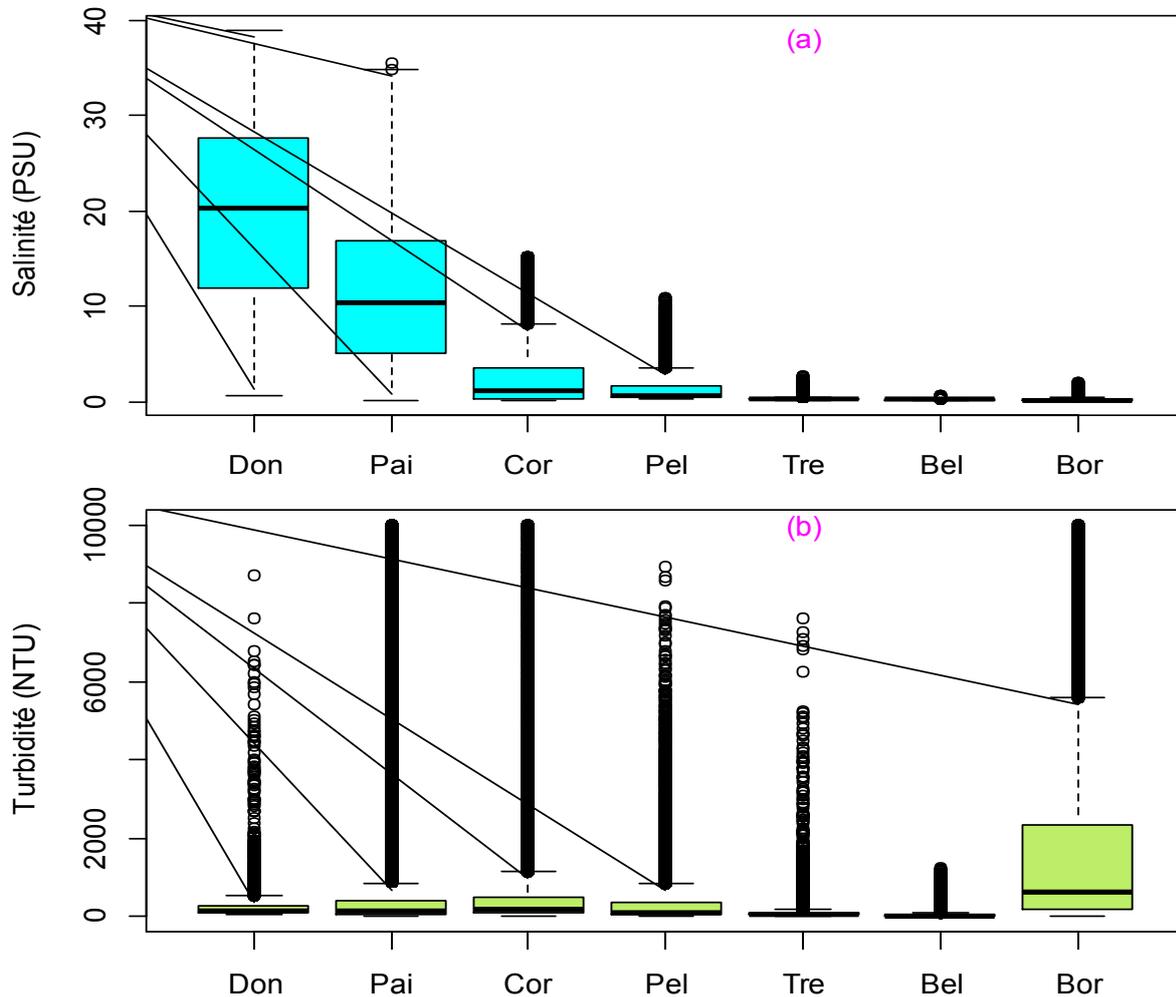


Figure 14 : Boîte à moustaches des salinités (a) et turbidités(b) observées au cours de l'année 2007 en Loire et à Bordeaux ; Don = Donges; Pai = Paimboeuf; Cor = Cordemais; Pel = Le Pellerin; Tre = Trentemoult ; Bel = Bellevue; Bor = Bordeaux.

La station de Trentemoult est touchée régulièrement par les crises hypoxiques en Loire, tout comme la station de Bordeaux, des valeurs d'oxygénation moyenne journalières inférieures à 5mg.L^{-1} sont souvent observées lors de la période estivale. Ceci dit la station de Trentemoult n'est pas la plus touchée en Loire alors que la station de Bordeaux l'est. La station de Cordemais et Paimboeuf sont les stations les plus atteintes par les problèmes d'hypoxie dans l'estuaire de la Loire, de plus c'est à ces stations que les valeurs de turbidités sont les plus élevées. Ainsi le bouchon vaseux est situé aux alentours de Cordemais et Paimboeuf lors de la période estivale et c'est là que l'on observe les plus faibles valeurs d'oxygénation. En considérant que les phénomènes d'oxygénation sont similaires en Loire et en Garonne on peut supposer que l'effet bouchon vaseux prime sur l'effet position dans l'estuaire. Ainsi ce sont les fortes teneurs en matières en suspension qui induisent des sous-oxygénations en Loire et Garonne.

6.6 Etude bibliographique sur les espèces de l'estuaire

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des études menées sur les espèces rencontrées en Garonne, seuils testés/observés, temps d'exposition et effet sur les espèces

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Analyse	Temps d'exposition	Seuils observés/ Seuils testés	Effet	Référence
Alose feinte	<i>Alosa fallax</i>	In situ, GLM	-	>4-5 mg.L ⁻¹	Présence des organismes	(Maes et al., 2007; Maes et al., 2008)
Alose vraie (juvénile)	<i>Alosa alosa</i>	Etude comportementale en laboratoire	-	3,5 mg.L ⁻¹ à 20°C 2-2,2 mg.L ⁻¹ à 20°C	Nage altérée Perte d'équilibre/mort	
Anguille	<i>Anguilla anguilla</i>	In situ, GLM	-	>1,2-3mg.L ⁻¹	Présence des organismes	(Maes et al., 2007)
Bar commun (juvénile)	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Laboratoire, quantification croissance	1 mois	2,7mg.L ⁻¹ à 22°C	Croissance et nutrition diminuées	(Thetmeyer et al., 1999)
Crevette blanche (adulte)	<i>Palaemon longirostris</i>	Étude sur la contamination au cadmium	7 jours	3mg.L ⁻¹ à 13°C	Augmentation du taux de contamination au Cadmium	(Pierron et al., 2007)
Flet (juvénile)	<i>Platichthys flesus</i>	Laboratoire, test de survie	30h 30h 2h30 23min	10 mg.L ⁻¹ à 13,5°C 2mg.L ⁻¹ à 13,5°C 1mg.L ⁻¹ à 13,5°C 0.5mg.L ⁻¹ à 13,5°C	100% survie 40% survie 0% survie 0% survie	(Tallqvist et al., 1999)
Gobie buhotte (adulte)	<i>Pomatoschistus minutus</i>	Laboratoire, Etude sur les confections de nids	-	3.7mg.L ⁻¹	susceptibilité à la prédation des œufs accrue coups énergétiques plus élevés	(Jones and Reynolds, 1999)
Mulet doré	<i>Liza aurata</i>	Laboratoire, étude comportementale	-	4,5mg.L ⁻¹ >3mg.L ⁻¹ 1,1mg.L ⁻¹	Augmentation de l'activité natatoire Augmentation de l'activité respiratoire Respiration en surface	(Lefrancois et al., 2009)
Saumon	<i>Salmo salar</i>	Laboratoire, seuil	-	4,59mg.L ⁻¹ à 22°C	Perte d'équilibre/mort	(Barnes et al.,

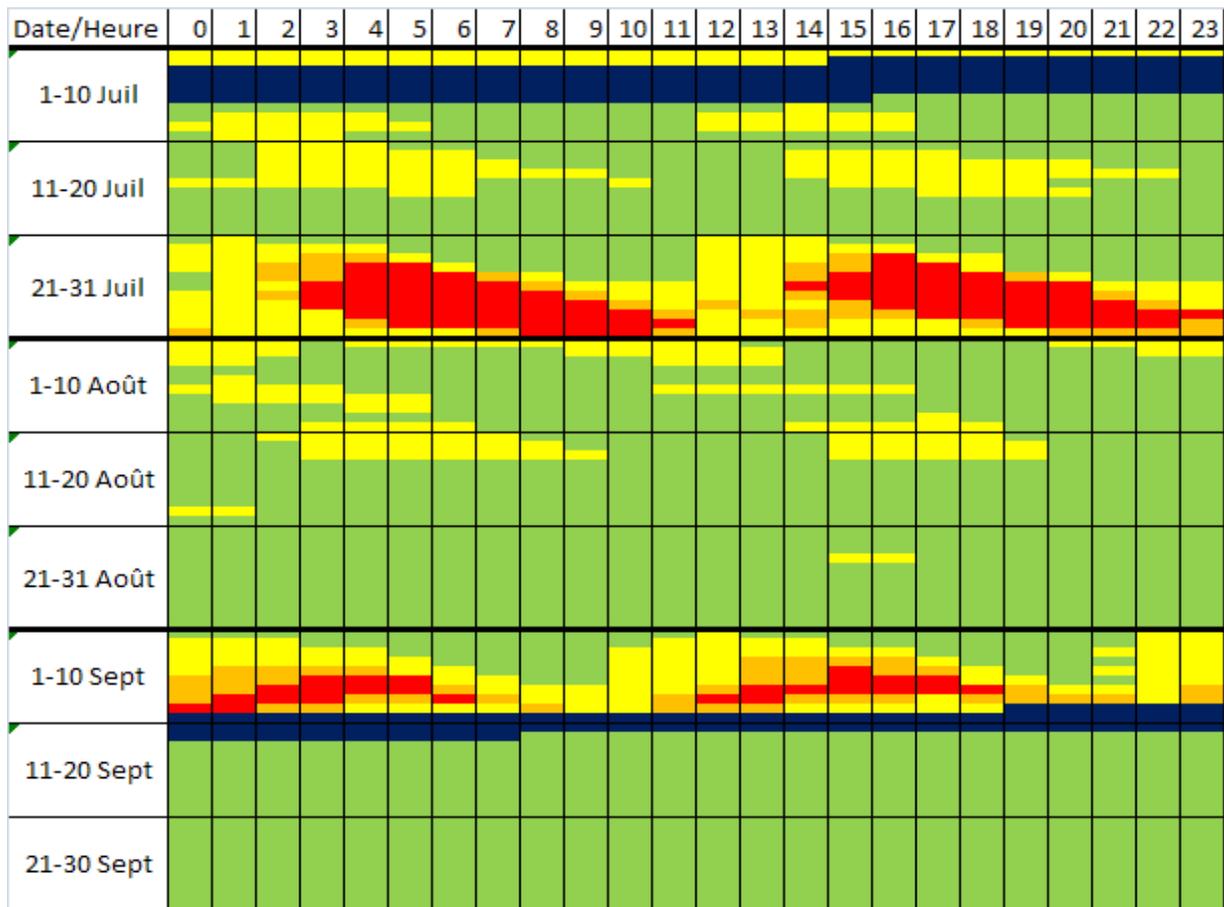
atlantique (adulte)		critique d'oxygène In situ, étude sur la migration		3,39mg.L ⁻¹ à 18°C 3,46mg.L ⁻¹ à 14°C 2,4mg.L ⁻¹ 3,5mg.L ⁻¹ 4,3mg.L ⁻¹ sur 30km	Perte d'équilibre/mort Perte d'équilibre/mort Migration stoppée Migration observée Migration observée	2011) (Alabaster and Gough, 1986)
------------------------	--	--	--	--	---	---

6.7 Effets sur la transparence migratoire

Les mauvaises conditions d'oxygénation dans le bouchon vaseux agit comme une barrière physicochimique à la montaison et la dévalaison des migrateurs (Turnpenny et al., 2006), rendant ainsi les frayères inaccessibles. Les problèmes d'anoxie existent depuis des dizaines d'années dans l'Escaut ; une conséquence de ces problèmes d'oxygène est la disparition des esturgeons, des saumons et des aloses. Seules les anguilles, épinoches et lamproies subsistent dans cet estuaire (Maes, et al. 2008). Plus l'oxygénation des eaux est importante plus la probabilité de capturer des aloses est grande (à une température et un débit donné). L'aloise est considérée comme une espèce sensible aux problèmes d'hypoxie (Maes et al., 2007). Ainsi une recrudescence du nombre d'aloses pourrait bien illustrer une réhabilitation écologique réussie vis-à-vis d'une espèce de migrateur. Il a été proposé que si les conditions d'oxygénation s'améliorent les aloses devraient revenir dans les estuaires (Maes et al., 2008). Des déclin de populations d'espèces migratrices diadromes sont observés dans tout l'Atlantique Nord. Ceci peut-être relié à différents stress environnementaux et physiques comme la présence d'ouvrages hydroélectriques sur les rivières, mais aussi les zones hypoxiques observées en estuaires, qui elles, peuvent ralentir, décaler voire stopper les migrations de poissons (Alabaster and Gough, 1986). Selon la sévérité, la durée et la période des évènements hypoxiques, les comportements migratoires et donc les migrations de certaines espèces peuvent être altérés, entraînant un déclin des populations (Beguer et al., 2007; Limburg and Waldman, 2009).

A partir d'une étude comportementale réalisée sur des alosons nous avons établi un calendrier des opportunités migratoires des juvéniles d'aloses. Plusieurs seuils comportementaux ont été retenus : (1) nage altérée, (2) perte d'équilibre et (3) mort de l'individu. Ces seuils ont été calculés à deux températures différentes (20°C et 25°C). Nous avons donc établi un calendrier d'opportunités migratoires à partir de six seuils d'oxygène, trois correspondant aux seuils à 20°C et trois autres correspondant aux seuils à 25°C. Nous avons pris en considération les seuils d'oxygène calculés à 20°C pour toutes les températures inférieures à 22,5°C et les seuils d'oxygène calculés à 25°C pour toutes les températures supérieures à 22,5°C.

(a)



(b)

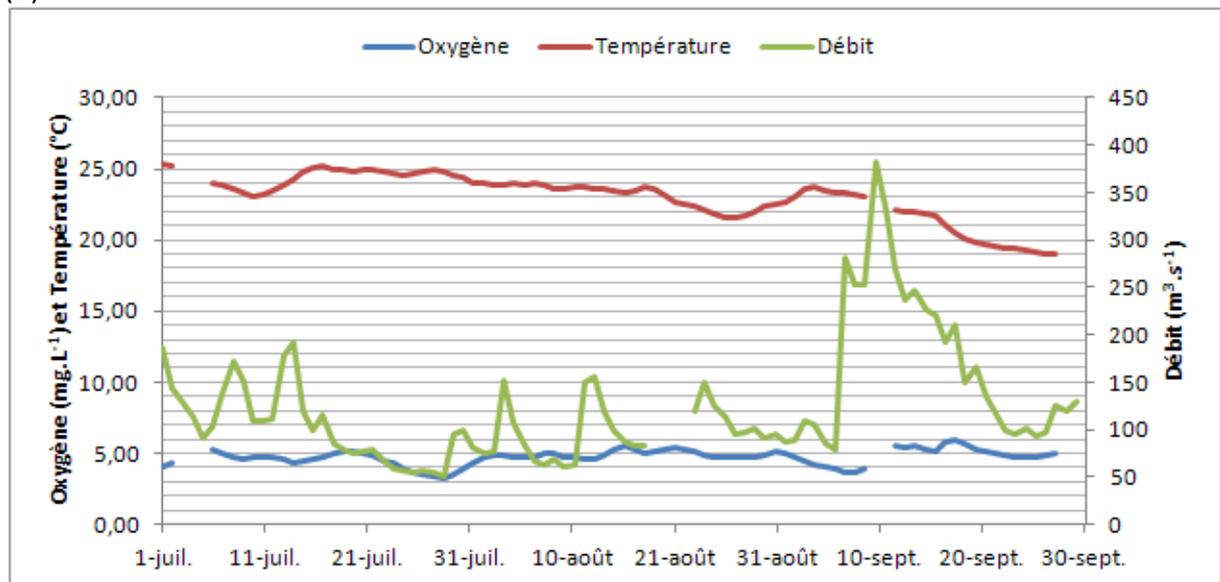
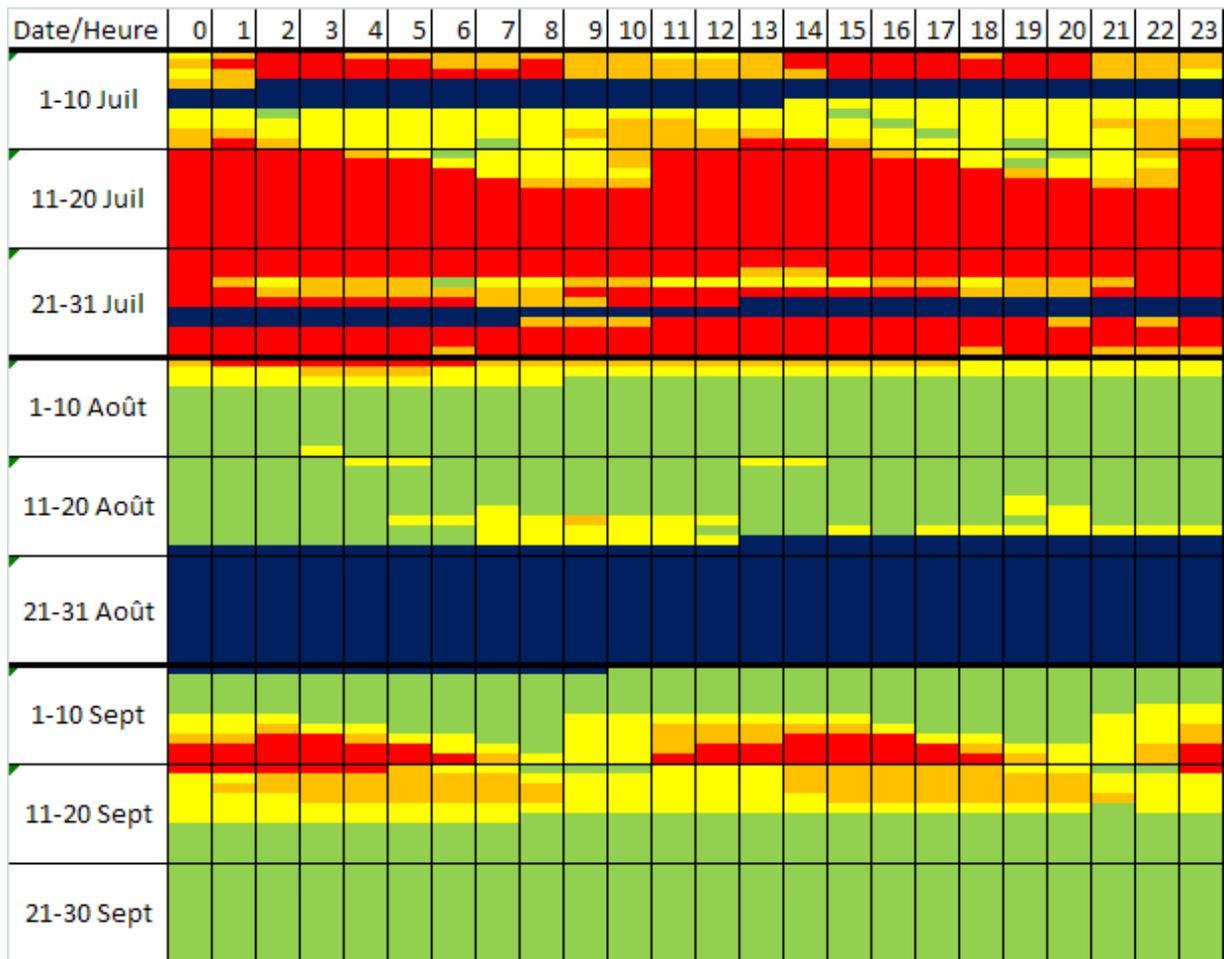


Figure 15 : (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2005, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

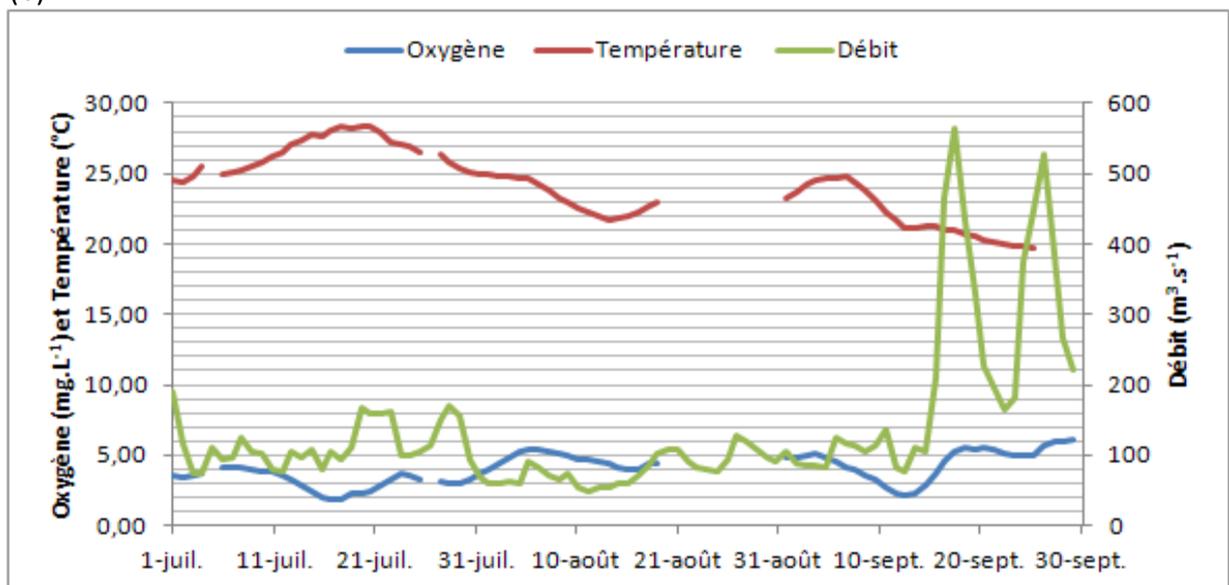
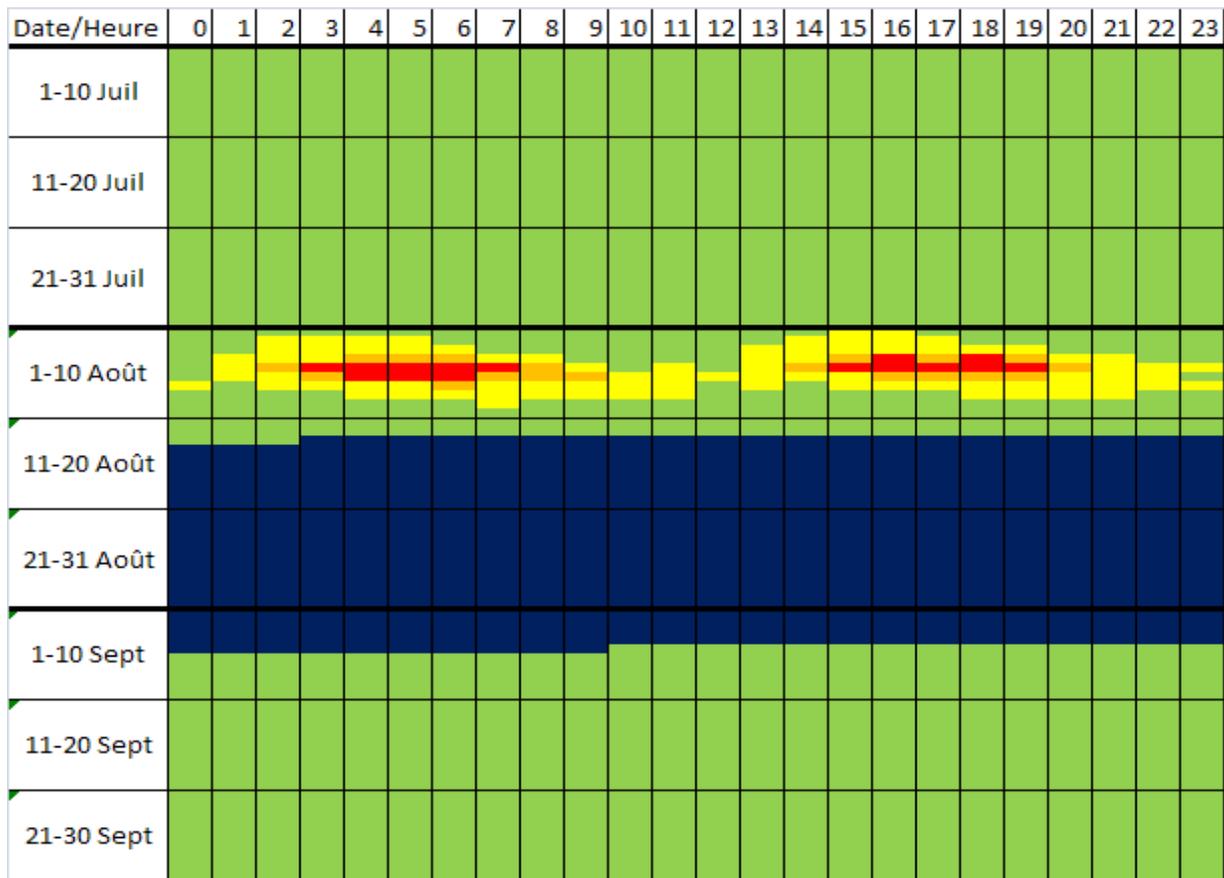


Figure 16 : (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2006, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

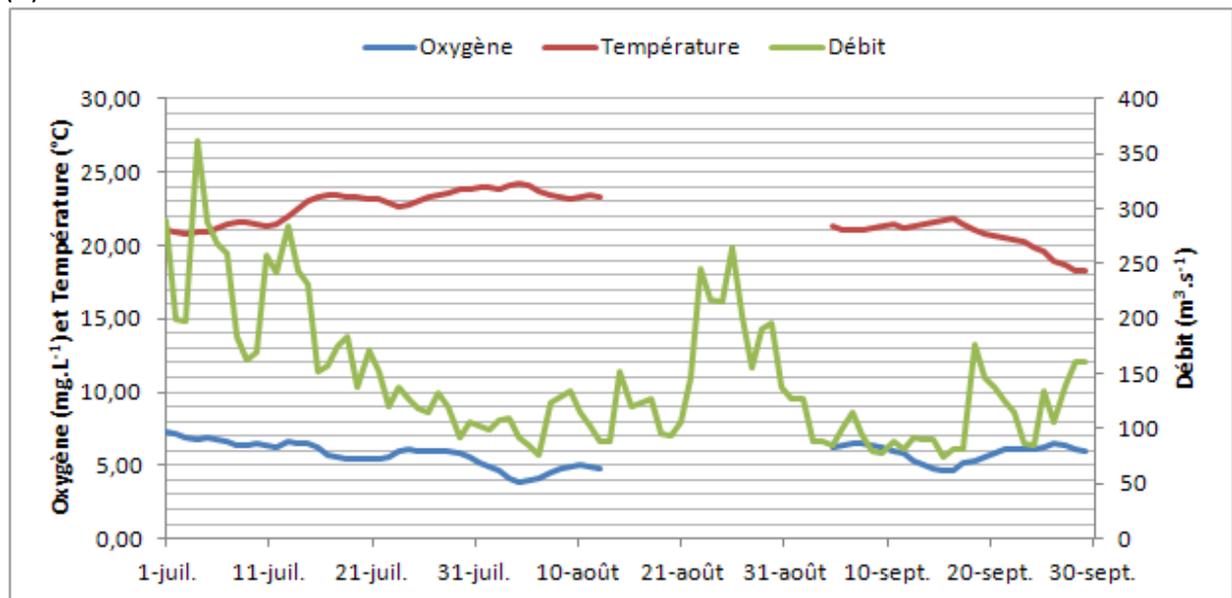
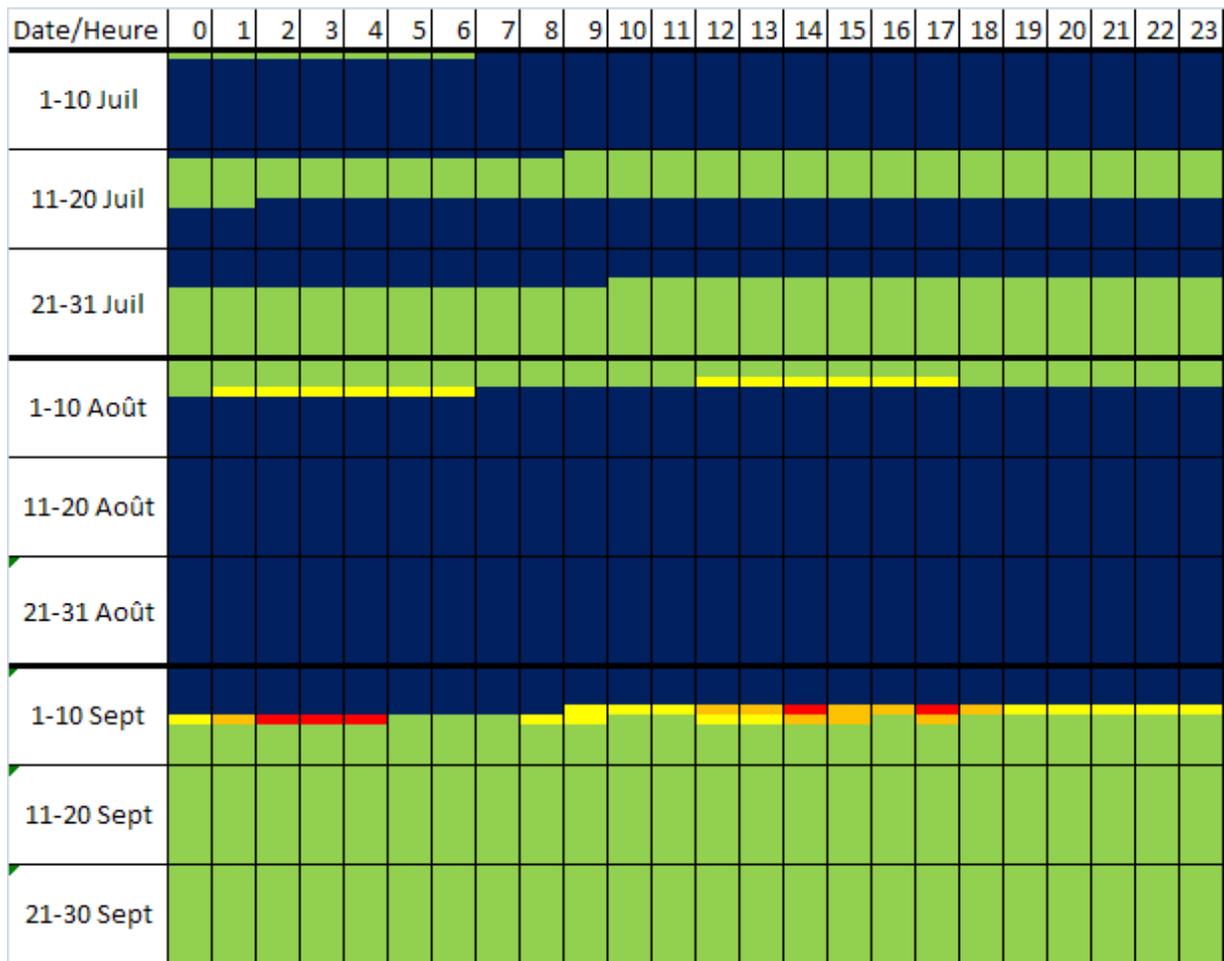


Figure 17: (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2007, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

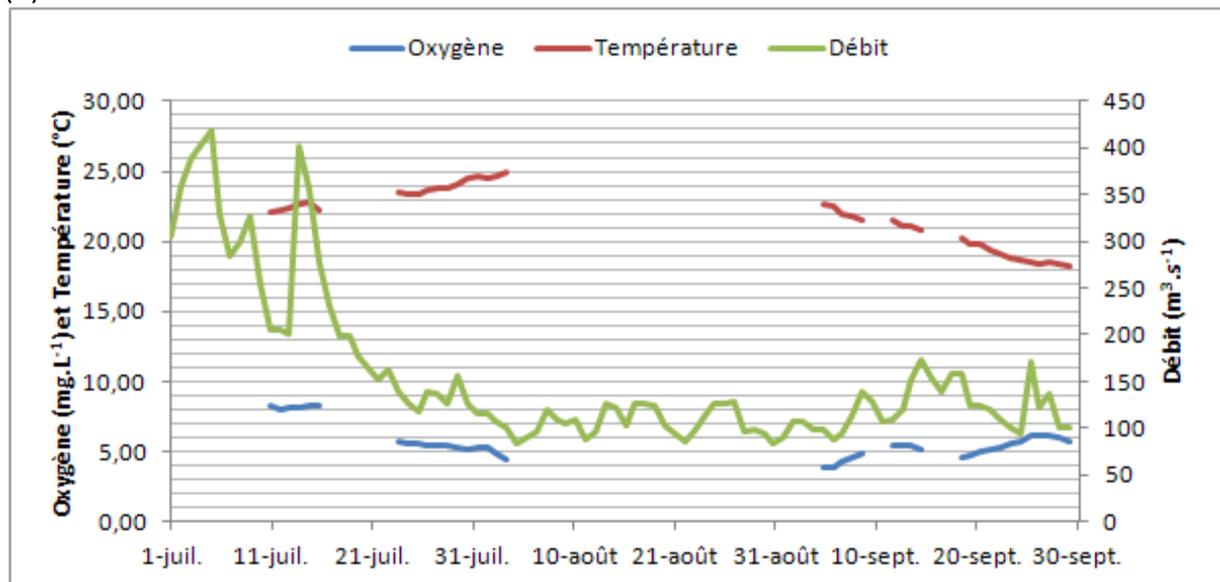
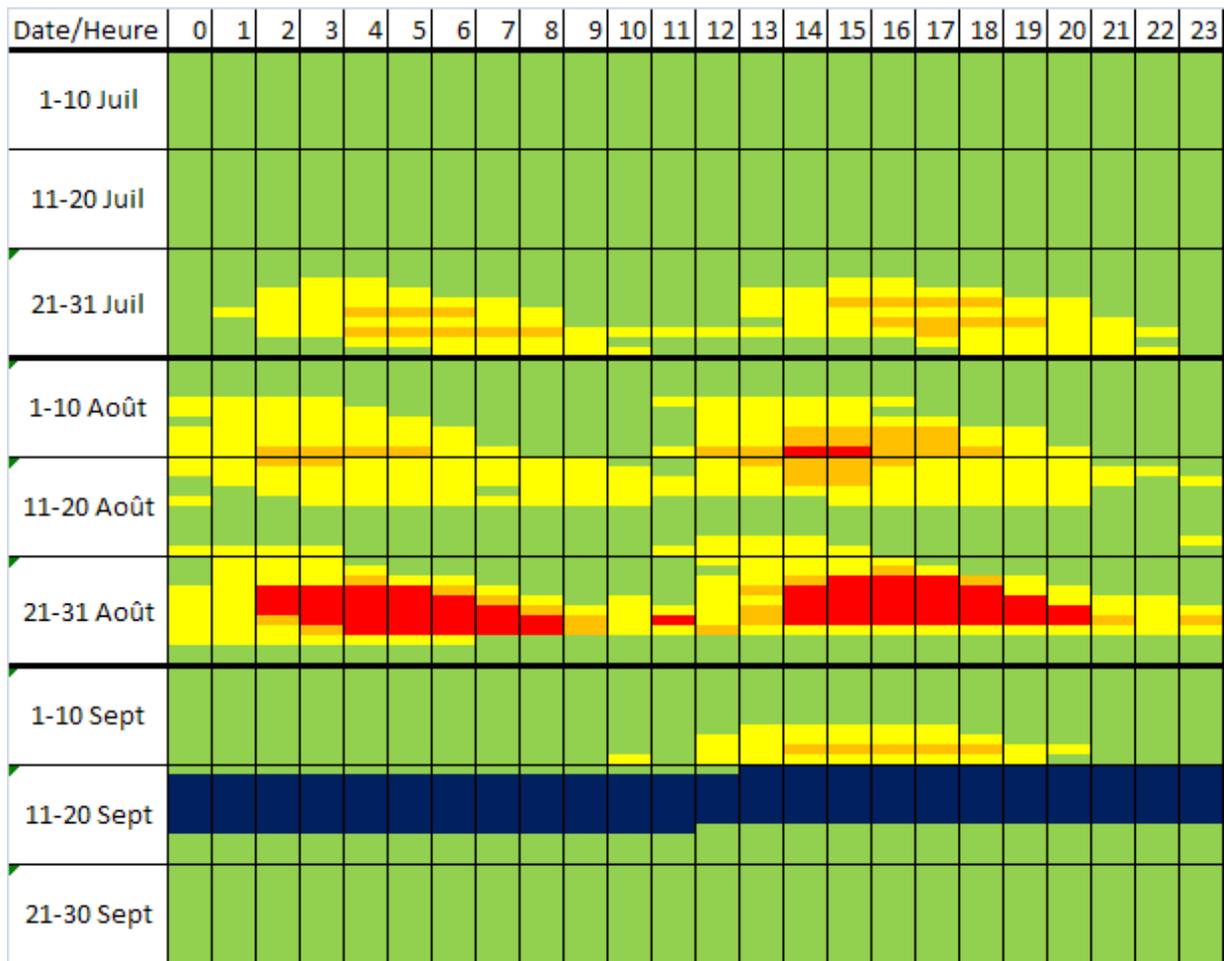


Figure 18 : (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2008, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

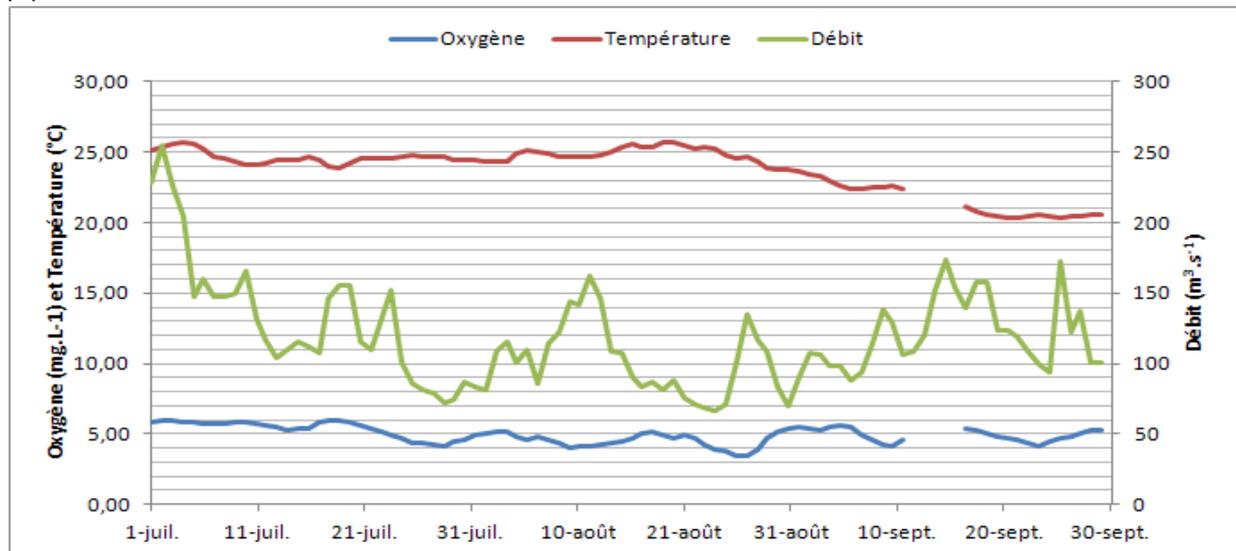
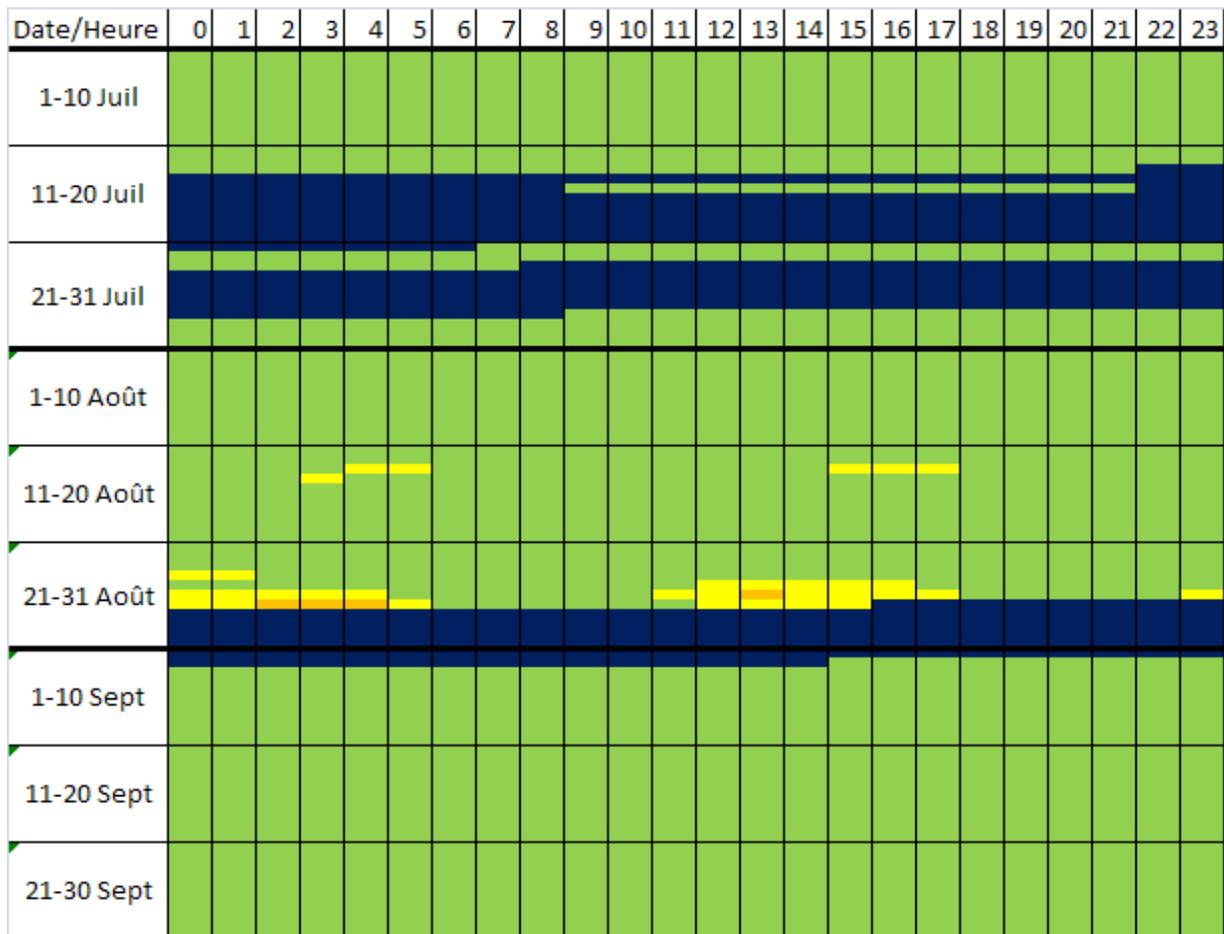


Figure 19 : (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2009, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

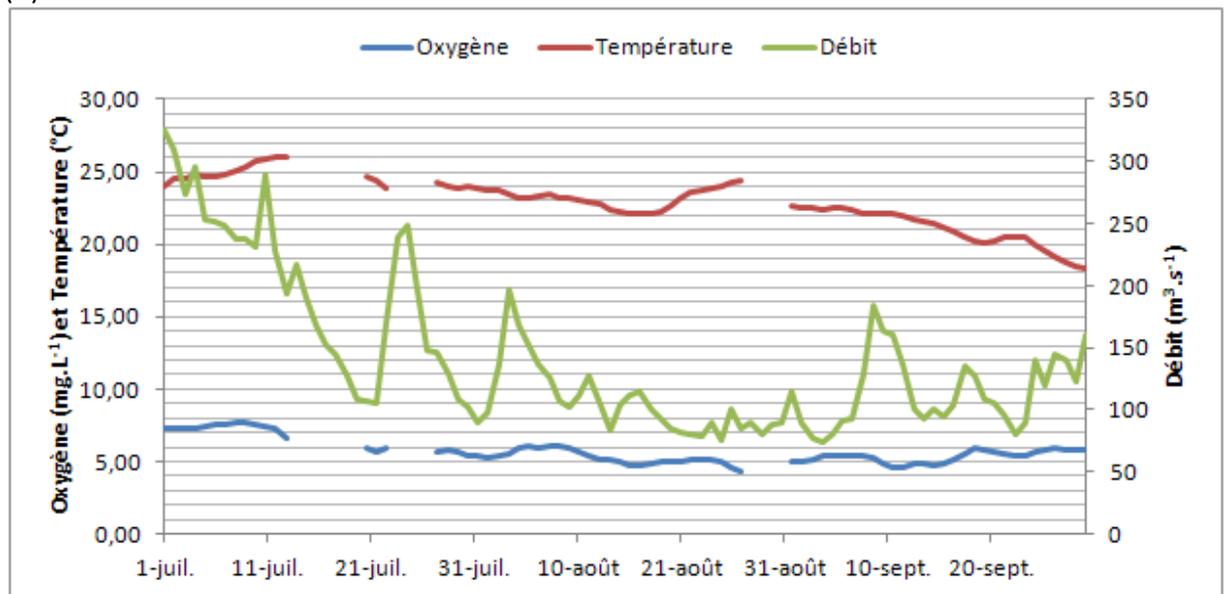
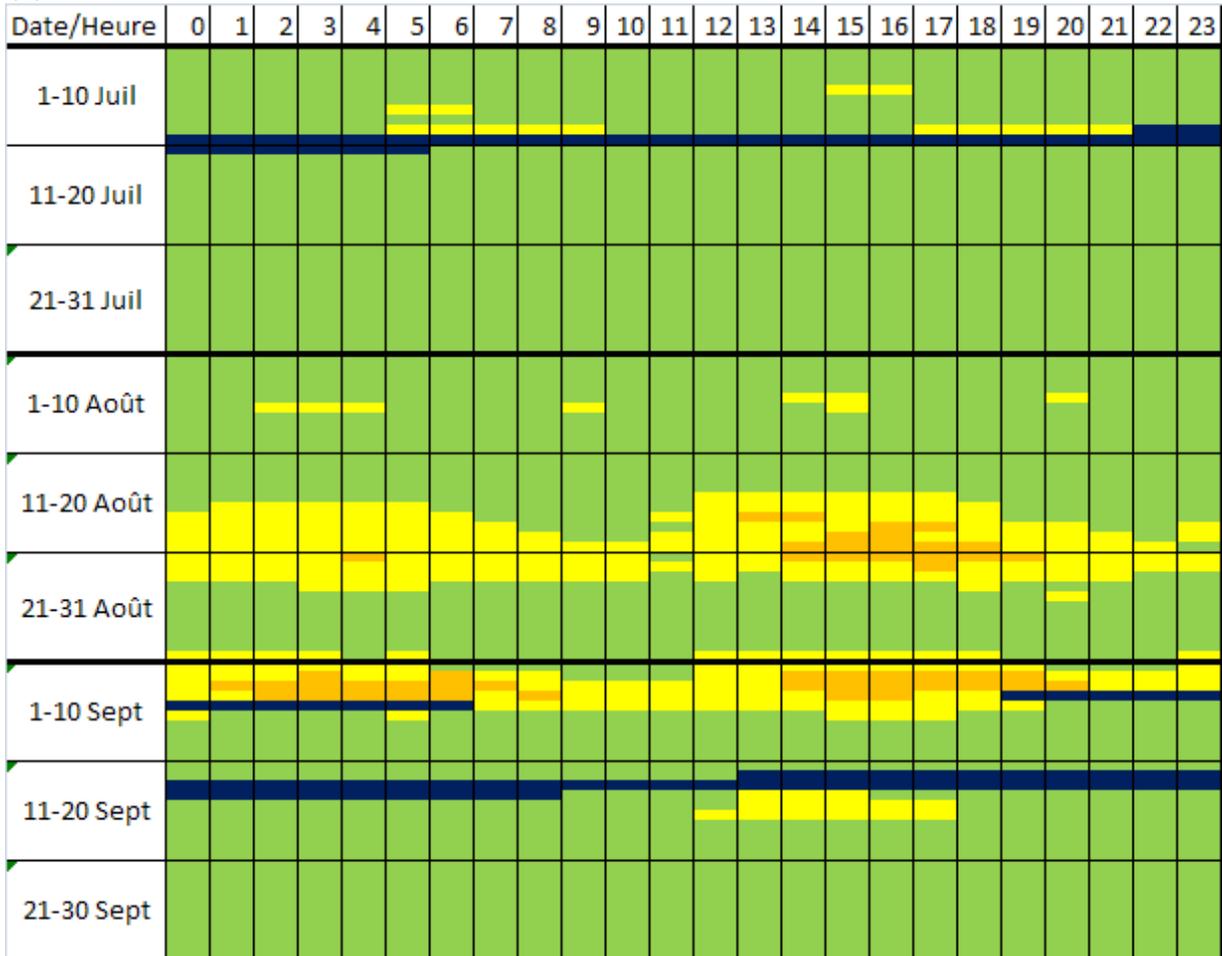


Figure 20: (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2010, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

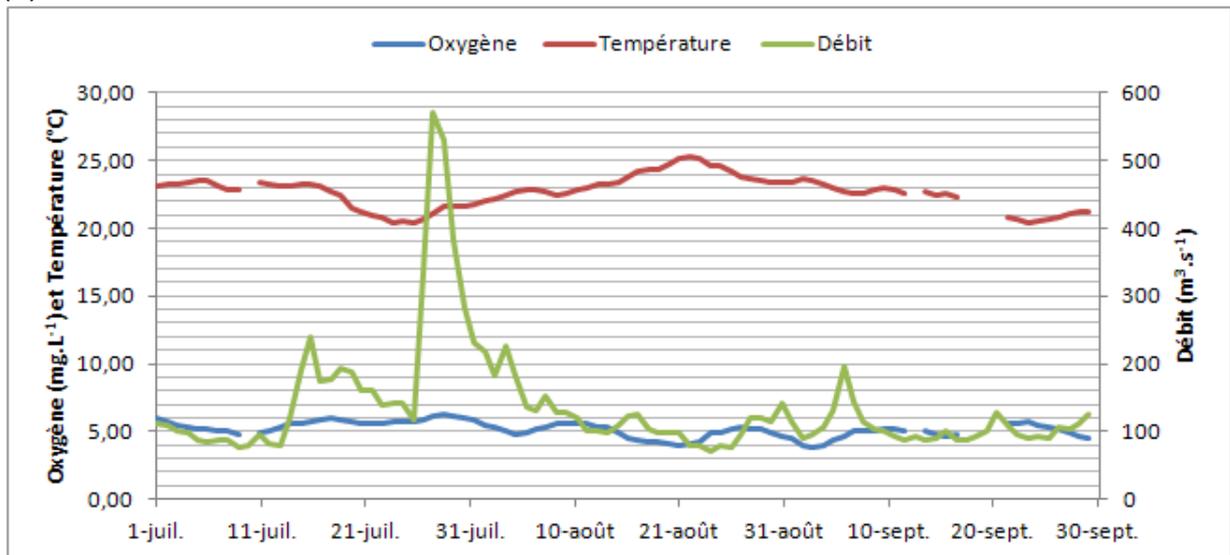
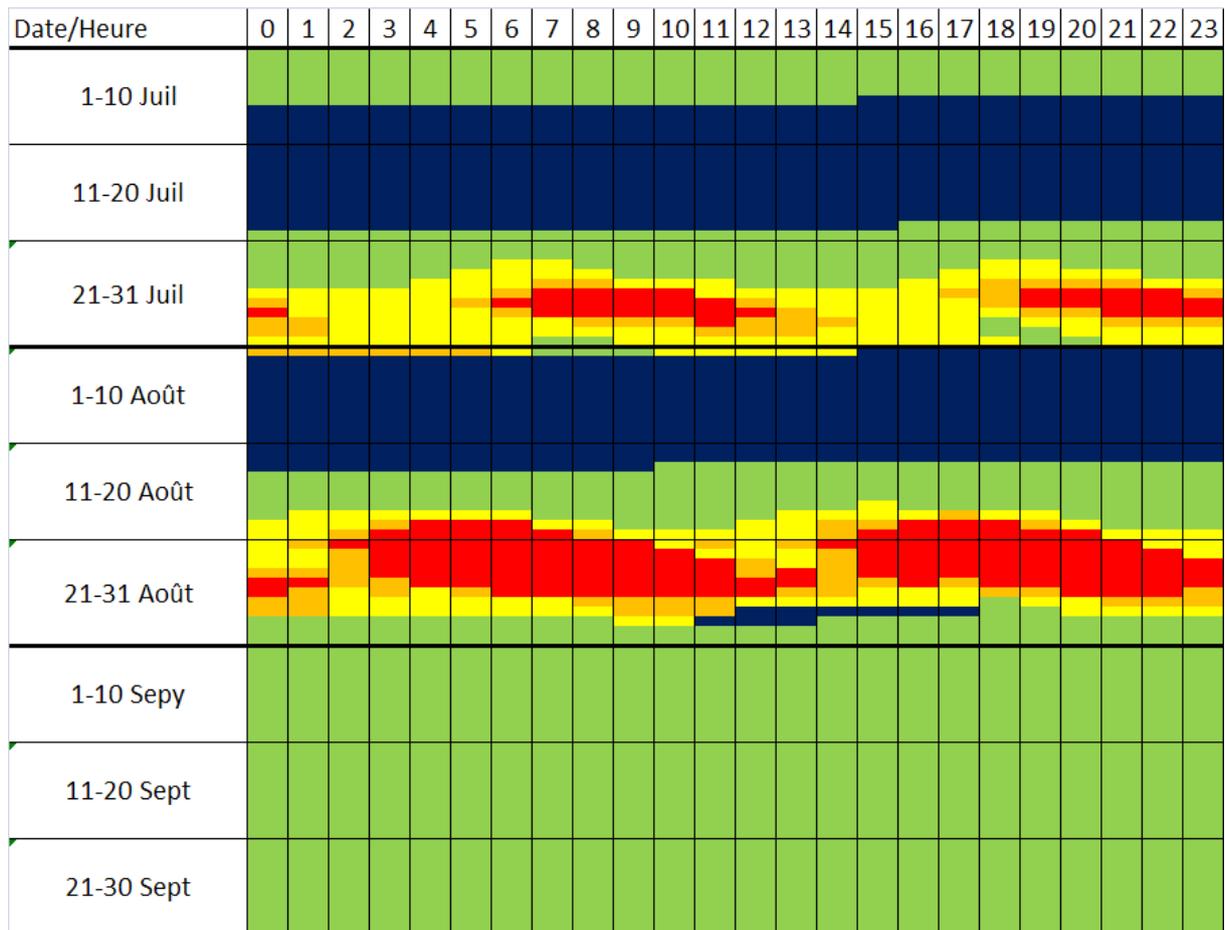


Figure 21 : (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2011, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

(a)



(b)

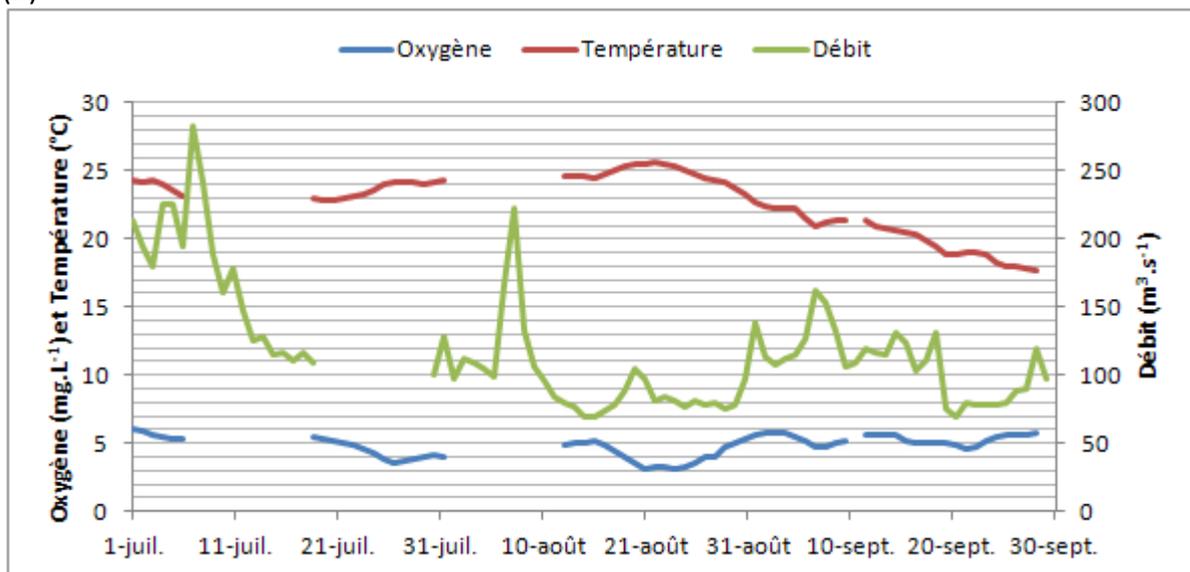


Figure 22: (a) Degré de favorabilité à la migration d'avalaison des alosons en 2012, en vert : conditions favorables ; en jaune : nage altérée ; en orange : perte d'équilibre ; en rouge : mort ; (b) moyennes journalières de température et d'oxygène à Bordeaux et débit de la Garonne à la Réole.

L'année 2005 est caractérisée par deux périodes peu favorables à la migration des alosons, du 22 Juillet au 1^{er} Août et du 5 au 10 septembre, les conditions sont très défavorables avec des conditions mortelles pour les alosons, de nombreuses périodes de conditions sub-létales sont à signaler courant juillet et pendant la première quinzaine d'août (Figure 15a). Un total de 570 heures (soit 25,8% de la période de migration) de conditions défavorables dont 102 impliquent la mort de l'individu sont à dénombrer en 2005 (Tableau 6). Malgré des températures inférieures à 26°C l'oxygénation des eaux a chuté jusqu'à 3,1 mg.L⁻¹ en moyenne journalières et 2,36mg.L⁻¹ en valeur mesurée (Tableau 1 et Tableau 6). Le débit est assez faible cette année avec une longue période où le débit est inférieur à 100m³.s⁻¹ (Figure 15b).

2006 est de loin la pire année quant aux conditions de migration d'avalaison des alosons, avec 42,8% de conditions défavorables sur la période de migration. Un total de 944 heures de conditions défavorables dont 461 entraîneraient la mort de l'individu est observé en 2006 (Tableau 6). Du 1^{er} juillet au 5 août les eaux de bordeaux étaient impropres à la présence d'alosons avec une majorité de conditions entraînant la mort des individus (0a). Du 5 au 16 septembre une autre période défavorable est remarquable mais l'hypoxie est moins prononcée qu'en Juillet. Les températures en 2006 sont les plus élevées sur la période 2005-2012 avec des valeurs dépassant les 28°C (Figure 16b). Les débits sont très faibles avec beaucoup de valeurs en dessous de 100m³.s⁻¹. L'oxygène atteint des valeurs minimales mi Juillet et mi Septembre avec une moyenne journalière minimale de 1,9mg.L⁻¹ et une valeur minimale de 1,22mg.L⁻¹ soit des conditions quasi-anoxiques (Tableau 1 et Tableau 6).

En 2007 une seule période défavorable est observable du 1^{er} au 9 août (Figure 17a) avec 15 heures de conditions entraînant la mort. De manière générale 2007 est une année plutôt bonne quant à la migration d'avalaison des alosons avec seulement 5,3% de la période de migration où les conditions sont défavorables (Tableau 6). Les températures de l'eau sont plutôt basses et ne dépassent jamais 25°C en moyenne journalières. Les valeurs d'oxygènes sont toujours supérieures à 4mg.L⁻¹ sauf le 5 Août où la moyenne journalière d'oxygène est descendue un peu en dessous de 4mg.L⁻¹. Les débits sont assez variables, on observe une crue fin Août, la majorité des valeurs de débits sont au dessus de 100m³.s⁻¹ (Figure 17b).

2008 est à priori une année favorable quant à la migration des alosons mais environ 50% des données sont manquantes, ce pourquoi nous ne pouvons conclure de manière définitive sur cette année (Figure 18a). Le manque de données ne permet pas de conclure sur les valeurs de température et d'oxygène non plus, cependant les débits en 2008 sont plutôt élevés avec une majorité de valeurs supérieures à 100m³.s⁻¹ (Figure 18b) ce qui laisse supposer que peu de problèmes d'oxygène ont eu lieu cette année.

Trois périodes défavorables à la migration sont observables en 2009, du 24 au 31 juillet, du 5 au 15 août et du 20 au 29 août les conditions sont mauvaises, la dernière période est la pire avec 56 heures de conditions entraînant la mort (Figure 19a). L'année 2009 est plutôt mauvaise avec 20,7% de la période de migration où les conditions sont mauvaises. Les conditions d'oxygénation sont assez mauvaises avec un minimum observé à 2,71 mg.L⁻¹ (Tableau 6) et une moyenne journalière minimale de 3,5mg.L⁻¹ (Tableau 1). Les débits sont assez variables et oscillent autour de 100m³.s⁻¹, les températures atteignent jusqu'à 26°C début juillet et mi août (Figure 19b).

L'année 2010 est plutôt favorable à la dévalaison des alosons avec 98,3% de la période où les conditions sont favorables et seulement 37 heures de conditions défavorables et aucune période où l'oxygénation et la température de l'eau entraînerait la mort (Figure 20a et Tableau 6). Les températures sont relativement élevées début juillet (26°C) et assez basses fin septembre avec des températures comprises entre 18,5 et 20°C (Figure 20b). L'oxygénation des eaux est assez bonne, la moyenne journalière de concentration en oxygène ne descend pas en dessous de 4,3mg.L⁻¹ (6.1).

En 2011 les conditions sont assez favorables avec seulement 14,2% de la période de migration ou les conditions sont défavorables (Tableau 6). Du 15 au 25 Août et du 30 Août au 6 Septembre les conditions sont mauvaises sans toutefois pouvoir provoquer la mort des individus (Figure 21a). Une crue est observable à la fin du mois de Juillet avec des débits allant jusqu'à 570 m³.s⁻¹. La température atteint son maximum vers le 21 août et l'oxygène atteint son minimum fin août avec une moyenne journalière de 3,8mg.L⁻¹ (Tableau 1).

2012 est la pire année depuis 2009 avec une période défavorable cumulée équivalente à 22,9% de la période totale de migration. Un total de 506 heures dont 313 heures de conditions pouvant entraîner la mort est à dénombrer (Tableau 6). Deux périodes défavorables sont observables et s'étalent respectivement du 23 juillet au 1^{er} août et du 16 au 29 août (Figure 22a). La température atteint son maximum (25,8°C) et l'oxygène atteint son minimum (3,2mg.L⁻¹) vers le 19 août, date correspondant à la plus mauvaise période de migrations pour 2012 (6.1 et Figure 22b).

2006 est l'année la plus défavorable quant à la migration d'avalaison des alosons, suivie par 2005, 2009 et 2012, années où entre 20 et 25% de la période de migration présentaient des conditions défavorables.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif du nombre d'heures cumulées de conditions défavorables à la migration d'avalaison des alosons et pourcentage d'heures cumulées de conditions défavorables par rapport à la période totale de migration.

Année	Nage altérée (h)	Perte d'équilibre (h)	Mort (h)	Total (h)	% mauvaises conditions	minimum d'oxygène observé (mg.L ⁻¹)
2005	389	79	102	570	25,8	2,36
2006	296	187	461	944	42,8	1,22
2007	82	19	15	116	5,3	3,14
2008	25	9	5	39	1,8	3,33
2009	337	62	57	456	20,7	2,71
2010	33	4	0	37	1,7	3,58
2011	264	49	0	313	14,2	3,45
2012	247	102	157	506	22,9	3,22

Tableau 7 : Calendrier des migrations des espèces de la Garonne, gris foncé : géniteurs ; gris clair : larves et juvéniles, encadré rouge : période hypoxique ; espèces en rouge : espèces potentiellement affectées par l'hypoxie.

Espèce	Stade	jan	fév	mar	avr	mai	juin	juil	aoû	sep	oct	nov	déc	Montaison	Dévalaison
Lampetra fluviatilis	Adulte	■												X	
	juvénile	■													X
Petromyzon marinus	Adulte	■												X	
	juvénile	■													X
Anguilla anguilla	Adulte														X
	juvénile	■												X	
Alosa alosa	Adulte			■										X	
	juvénile							■							X
Alosa fallax	Adulte			■										X	
	juvénile							■							X
Salmo trutta trutta	Adulte						■							X	
	juvénile				■										X
Salmo salar	Adulte						■							X	
	juvénile				■										X
Acipenser sturio	Adulte						■							X	
	juvénile	■													X
Osmerus eperlanus	Adulte	■												X	
	juvénile				■										X
Platichthys flesus	Adulte	■													X
	juvénile			■										X	
Liza ramada	Adulte						■								X
	juvénile	■												X	
Liza aurata	Adulte	■													
	juvénile	■													
Chelon labrosus	Adulte	■													
	juvénile	■													
Palaemon longirostris	Adulte	■													
	fem	■													
	juvénile	■													

Des 14 espèces migratrices observées en Garonne, 9 sont potentiellement impactés par la zone hypoxique de Bordeaux, soit au stade adulte, soit au stade larvaire ou au stade de juvénile (Tableau 7). Les géniteurs des deux espèces d'aloses effectuent leur migration de montaison de mars à juin et les juvéniles effectuent leur migration d'avalaison de Juillet jusqu'à novembre. Ainsi les juvéniles d'alosons sont potentiellement impactés par la zone hypoxique située autour de Bordeaux. En effet la réponse comportementale principalement observée chez les poissons pélagiques est un comportement d'évitement. Or selon les coefficients de marée et le débit fluvial les courants dans la Garonne peuvent être forts ; du fait de leur capacité natatoire réduite, les alosons et les autres juvéniles présents dans l'estuaire en été sont donc potentiellement soumis à de mauvaises conditions d'oxygénation des eaux. Cependant aucune pêche n'a été réalisée à Bordeaux lors d'une période d'hypoxie, il est de ce fait difficile de conclure sur l'impact des évènements hypoxiques sur les poissons de l'estuaire. Cependant les espèces les plus sensibles aux chutes d'oxygène comme les deux espèces de salmonidés et les deux espèces d'aloses sont certainement impactées par cette zone hypoxique. Etant donné qu'elles subissent des effets délétères pour des concentrations en oxygène inférieures à 5mg.L^{-1} (Turnpenny et al., 2006; Maes et al., 2007) et que les concentrations observées à Bordeaux en été sont inférieures à ce seuil on peut supposer que la zone hypoxique a un effet négatif au moins sur ces espèces.

7 Perspectives

7.1 Réhabilitation des écosystèmes touchés par l'hypoxie

Alors que les facteurs influençant les phénomènes d'hypoxie sont bien connus les processus de recolonisation et de réhabilitation des organismes suite à des évènements hypoxiques sont moins bien connus (Steckbauer et al., 2011), surtout au niveau du temps nécessaire à une réhabilitation complète, tout particulièrement pour les écosystèmes touchés par l'hypoxie sur une période prolongée (Steckbauer et al., 2011). Alors que les écosystèmes touchés par l'hypoxie se multiplient, peu de systèmes ont retrouvé des taux d'oxygénation élevés suites à des phénomènes d'hypoxie. Or lorsque les conditions physicochimiques ne sont plus limitantes les poissons devraient recoloniser rapidement le bassin versant (Eklov et al., 1998). La réhabilitation suite aux phénomènes d'hypoxie dépend de la sévérité et de la durée des phénomènes d'hypoxie et de l'étendue des dégâts occasionnés sur la biocénose. Les délais de réhabilitation résultent de voies non linéaires de recouvrement dues à l'hystérèse des systèmes et des altérations affectant l'état de référence des écosystèmes (Steckbauer et al., 2011).

Les principales causes de dégradation des écosystèmes estuariens proviennent des activités humaines par l'augmentation des populations qui engendre une intensification de l'agriculture, de l'urbanisation et de l'industrialisation (Verdonschot et al., 2013). Cette intensification produit un grand nombre de pressions environnementales qui impactent les écosystèmes aquatiques. Par exemple l'urbanisation affecte la quantité et la qualité de l'eau,

les régimes de débit et de température ainsi que la disponibilité des habitats et leur dégradation (Stelzenmuller et al., 2010; Atkins et al., 2011; Lotze et al., 2011).

Dans une optique de restauration il est important de distinguer les facteurs exogènes non gérés, des facteurs endogènes gérés (Elliott, 2011). Les premiers représentent les pressions sur lesquelles les programmes de gestion n'ont aucun contrôle sur leurs causes mais doivent répondre à leurs conséquences comme par exemple le changement climatique. Les pressions endogènes gérées opèrent à l'intérieur du système et les programmes de gestions peuvent avoir un contrôle sur leurs causes et leurs conséquences. Ces dernières pressions peuvent être à leur tour distinguées en pressions ajoutant du matériel au système (effluents, pollution diffuse, espèces introduites) et celles qui en enlèvent (pêche, dragage, irrigation).

Pour les écosystèmes estuariens les temps de réhabilitation varient entre 10 et 20 ans, les assemblages ichtyologiques réapparaissent en général en moins de 10 ans. Si les conditions physico-chimiques sont rétablies et que le recrutement est suffisant alors la colonisation et donc la restauration de l'écosystème devraient avoir lieu. Cependant les trajectoires de réhabilitation sont le plus souvent différentes des trajectoires de dégradation, du fait de l'hystérèse du système.

Les hypoxies à court terme ne déciment pas les populations d'organismes alors que les hypoxies prolongées peuvent aller jusqu'à la disparition totale des organismes et le passage à un écosystème dominé par les bactéries (Steckbauer et al., 2011). Les facteurs clés affectant la réhabilitation des écosystèmes sont la durée et l'intensité des phénomènes d'hypoxie, l'intensité hydrodynamique et les processus de mélange des masses d'eau (Diaz and Rosenberg, 1995). Le temps nécessaire à un retour aux communautés avant l'hypoxie peut prendre des années voire des décennies (Steckbauer et al., 2011).

La réhabilitation écologique des migrateurs amphihalins requiert une connaissance des facteurs limitant cette réhabilitation. Par exemple, dans l'Escaut une concentration de 5mg.L^{-1} est requise pour augmenter considérablement les chances des poissons amphihalins de traverser la partie médiane de l'estuaire, ce seuil de 5mg.L^{-1} est un minimum pour les poissons migrateurs diadromes. En améliorant le traitement des effluents on augmente la qualité de l'eau et son oxygénation, ainsi on améliore la distribution des poissons dans le bassin versant (Maes et al., 2007).

7.2 Recommandations

L'eutrophisation est une des principales causes d'hypoxie (Conley et al., 2007) ainsi les plans de gestion sont généralement basés sur des réductions des apports anthropiques en nutriments (Steckbauer et al., 2011). Les phénomènes d'eutrophisation et les problèmes d'oxygénation qui en découlent sont à un stade alarmant dans l'estuaire de la Garonne, aussi il paraît important de connaître le degré d'eutrophisation de l'estuaire, de prendre des mesures de gestion relatives à cet état dans le but de limiter les effets de l'hypoxie dans l'estuaire. Différentes revues (Gray et al., 2002; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2008; Vaquer-

Sunyer and Duarte, 2010) montrent que lorsque qu'un écosystème est touché par des périodes d'hypoxies sévères et prolongées la résilience de cet écosystème est amoindrie, du fait de l'hystérèse et des changements provoqués par l'hypoxie dans les flux globaux de matière. Plus les problèmes d'eutrophisation et d'hypoxie sont pris en charge tôt plus les chances d'améliorations de ces conditions sont élevées.

Les deux principales causes de l'hypoxie en estuaire sont un apport excédentaire en nutriments venant de l'amont et un temps de résidence de la masse d'eau trop long combiné à une réaération faible (Diaz and Rosenberg, 2008).

L'oxygène dissous est un facteur prépondérant quant à la qualité des eaux estuariennes. La menace la plus sévère provenant de l'eutrophisation est la chute d'oxygénation des eaux. C'est un phénomène de plus en plus répandu et observé sur notre planète (Diaz, 2001). Du fait des difficultés de recouvrement observées dans les écosystèmes touchés par l'hypoxie les actions de gestions doivent se concentrer sur les moyens d'éviter les premières apparitions de l'hypoxie notamment par le maintien d'un taux d'effluents bas (Steckbauer et al., 2011) et d'un débit d'étiage assez élevé pour que les temps de résidence de la masse d'eau restent courts. Dans l'estuaire de L'Escaut en Belgique un seuil minimum de 5mg.L^{-1} est préconisé pour préserver les populations de migrateurs amphihalins (Maes et al., 2007).

7.2.1 Débit

Les ouvrages hydrauliques peuvent permettre de conserver un débit fort et donc un temps de résidence court, réduisant indirectement les risques d'hypoxie (Duarte et al., 2001). Un débit minimal a été instauré pour certaines rivières de Floride afin de limiter les impacts de l'eutrophisation. En effet le débit fluvial entre en compte dans la NEEA (National Estuarine Eutrophication Assessment), un programme de protection et de réhabilitation des estuaires aux Etats-Unis (Whitall et al., 2007). Ainsi le débit est un facteur prépondérant quant à l'explication des phénomènes d'hypoxie.

La culture du maïs est la principale cause de la rareté de l'eau en France (Ercin et al., 2013), en outre le bassin versant de la Garonne est en partie couvert de champ de maïs ayant un besoin en eau fort. De ce fait on peut supposer que la culture du maïs sur le bassin versant de la Garonne est en partie responsable des débits très faibles observés en période d'étiage. Un débit minimum de $100\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ est requis pour éviter tout risques d'hypoxie en Garonne à Bordeaux (Lanoux et al., 2013).

7.2.2 Effluents

Il existe un délai entre le retour aux conditions normoxiques et le recouvrement des espèces, du fait de l'hystérèse et des changements de l'état de référence de l'écosystème, les apports en nutriments doivent être réduits bien en deçà des taux ayant provoqués les hypoxies pour que l'écosystème retrouve son régime trophique originel (Steckbauer et al., 2011). L'augmentation de la respiration bactérienne dans l'estuaire de la Gironde est fonction de la température, de la turbidité, des apports de matières organiques et d'azote (Lanoux et al.,

2013), ainsi une réduction des quantités de matière organique labile déchargées par les stations d'épuration bordelaises pourrait améliorer les conditions d'oxygénation en été à Bordeaux.

7.3 Hypoxie et réchauffement climatique

L'hypoxie affecte aujourd'hui des milliers de km² de milieux marins, lacustres et estuariens partout dans le monde et cause de nombreux dégâts à la biocénose : mortalités massives, déclin des communautés benthiques et pélagiques ou encore effondrement des pêcheries sont observés aux quatre coins du globe. La sévérité, la fréquence et l'étendue des phénomènes hypoxiques ont considérablement augmenté durant ces dernières décennies. Du fait de l'augmentation des populations humaines, de l'agriculture, de l'urbanisation et l'industrialisation qui en découle les problèmes d'hypoxie tendent à s'intensifier et s'étendre dans les années à venir (Wu, 2002). A ceci s'ajoute le changement climatique et l'augmentation des températures qui ont à la fois un effet sur les seuils d'oxygène délétères pour les organismes et sur les processus de nitrification, dénitrification et minéralisation de la matière organique en favorisant ces processus et donc la consommation d'oxygène (Diaz, 2001; Wu, 2002; Diaz and Rosenberg, 2008; Conley et al., 2009; Levin et al., 2009; Vaquer-Sunyer and Duarte, 2011)

Il a d'ailleurs été démontré que de manière générale une augmentation de 4°C entraîne une augmentation des processus de respiration de 43% (Harris et al., 2006). Une augmentation de la température de l'eau de 4°C réduirait les temps de survie aux conditions hypoxiques de 35,6% et les seuils hypoxiques entraînant de fortes mortalités augmenteraient de 25,5% (Steckbauer et al., 2011). L'augmentation des concentrations en CO₂ et l'acidification des eaux qui s'en suit affectent les processus de respiration en réduisant l'affinité de l'oxygène dans le sang (McKendry et al., 2001), ceci prêche à penser que les processus respiratoires seront affectés négativement et que les seuils d'hypoxies auront tendance à augmenter (Brewer and Peltzer, 2009). Ainsi les problèmes d'hypoxie tendent à s'intensifier et se répandre dans les décennies à venir devenant une des principales menaces pesant sur les écosystèmes aquatiques.

8 Références

- Abe, T., and Sakamoto, T., 2011, Embryonic development and larval behavior of the kissing loach (*Parabotia curta*): adaptations to an ephemeral, hypoxic environment: *Ichthyological Research*, v. 58, p. 238-244.
- Abril, G., Commarieu, M.V., Etcheber, H., Deborde, J., Deflandre, B., Zivadinovic, M.K., Chaillou, G., and Anschutz, P., 2010, In vitro simulation of oxic/suboxic diagenesis in an estuarine fluid mud subjected to redox oscillations: *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 88, p. 279-291.
- Abril, G., Commarieu, M.V., Sottolichio, A., Bretel, P., and Guerin, F., 2009, Turbidity limits gas exchange in a large macrotidal estuary: *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 83, p. 342-348.
- Alabaster, J.S., and Gough, P.J., 1986, The dissolved-oxygen and temperature requirements of atlantic salmon, *Salmo salar*, in the Thames estuary: *Journal of Fish Biology*, v. 29, p. 613-621.
- Altieri, A.H., 2008, Dead Zones enhance key fisheries species by providing predation refuge: *Ecology*, v. 89, p. 2808-2818.
- Alves, A.S., Adao, H., Ferrero, T.J., Marques, J.C., Costa, M.J., and Patricio, J., 2013, Benthic meiofauna as indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: The use of nematodes in ecological quality assessment: *Ecological Indicators*, v. 24, p. 462-475.
- Andersen, J.H., Schluter, L., and Aertebjerg, G., 2006, Coastal eutrophication: recent developments in definitions and implications for monitoring strategies: *Journal of Plankton Research*, v. 28, p. 621-628.
- Arany, Z., Huang, L.E., Eckner, R., Bhattacharya, S., Jiang, C., Goldberg, M.A., Bunn, H.F., and Livingston, D.M., 1996, An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 93, p. 12969-12973.
- Atkins, J.P., Burdon, D., Elliott, M., and Gregory, A.J., 2011, Management of the marine environment: Integrating ecosystem services and societal benefits with the DPSIR framework in a systems approach: *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p. 215-226.
- Baker, S.M., and Mann, R., 1994, Description of metamorphic phases in the oyster *Crassostrea virginica* and effects of hypoxia on metamorphosis: *Marine Ecology Progress Series*, v. 104, p. 91-99.
- Barnes, R., King, H., and Carter, C.G., 2011, Hypoxia tolerance and oxygen regulation in Atlantic salmon, *Salmo salar* from a Tasmanian population: *Aquaculture*, v. 318, p. 397-401.
- Beguer, M., Beaulaton, L., and Rochard, E., 2007, Distribution and richness of diadromous fish assemblages in Western Europe: large-scale explanatory factors: *Ecology of Freshwater Fish*, v. 16, p. 221-237.
- Bell, G.W., and Eggleston, D.B., 2005, Species-specific avoidance responses by blue crabs and fish to chronic and episodic hypoxia: *Marine Biology*, v. 146, p. 761-770.

- Bianchi, M., Bonin, P., and Feliatra, 1994, Bacterial nitrification and denitrification rates in the rhone river plume (Northwestern Mediterranean Sea): *Marine Ecology Progress Series*, v. 103, p. 197-202.
- Breitburg, D., 2002, Effects of hypoxia, and the balance between hypoxia and enrichment, on coastal fishes and fisheries: *Estuaries*, v. 25, p. 767-781.
- Breitburg, D.L., 1992, Episodic hypoxia in Chesapeake bay - Interacting effects of recruitment, behavior and physical disturbance: *Ecological Monographs*, v. 62, p. 525-546.
- Breitburg, D.L., Craig, J.K., Fulford, R.S., Rose, K.A., Boynton, W.R., Brady, D.C., Ciotti, B.J., Diaz, R.J., Friedland, K.D., Hagy, J.D., Hart, D.R., Hines, A.H., Houde, E.D., Kolesar, S.E., Nixon, S.W., Rice, J.A., Secor, D.H., and Targett, T.E., 2009, Nutrient enrichment and fisheries exploitation: interactive effects on estuarine living resources and their management: *Hydrobiologia*, v. 629, p. 31-47.
- Breitburg, D.L., Loher, T., Pacey, C.A., and Gerstein, A., 1997, Varying effects of low dissolved oxygen on trophic interactions in an estuarine food web: *Ecological Monographs*, v. 67, p. 489-507.
- Breitburg, D.L., Pihl, L., and Kolesar, S.E., 2001, Effects of low dissolved oxygen on the behavior, ecology and harvest of fishes: A comparison of the Chesapeake Bay and Baltic-Kattegat systems, *in* Rabalais, N.N., ed., *Coastal and Estuarine Sciences, Vol 58: Coastal Hypoxia: Consequences for Living Resources and Ecosystems, Volume 58: Coastal and Estuarine Sciences: Washington, Amer Geophysical Union*, p. 241-267.
- Breitburg, D.L., Steinberg, N., Dubeau, S., Cooksey, C., and Houde, E.D., 1994, effects of low dissolved-oxygen on predation on estuarine fish larvae: *Marine Ecology-Progress Series*, v. 104, p. 235-246.
- Brewer, P.G., and Peltzer, E.T., 2009, Limits to Marine Life: *Science*, v. 324, p. 347-348.
- Brown-Peterson, N.J., Manning, C.S., Denslow, N.D., and Brouwer, M., 2011, Impacts of cyclic hypoxia on reproductive and gene expression patterns in the grass shrimp: field versus laboratory comparison: *Aquatic Sciences*, v. 73, p. 127-141.
- Bunn, H.F., Gu, J., Huang, L.E., Park, J.W., and Zhu, H., 1998, Erythropoietin: A model system for studying oxygen-dependent gene regulation: *Journal of Experimental Biology*, v. 201, p. 1197-1201.
- Carpenter, 1966, New measurements of oxygen solubility in pure and natural water: *Limnol. Oceanograoh.*, v. 11, p. 264.
- Chaudon, A., 2005, Les crises d'anoxie dans l'estuaire de la Loire : caractérisation et approche de leur incidence sur la transparence migratoire: *Rapport Groupement d'Intérêt Public Loire Estuaire*, p. 34.
- Coleman, F.C., and Williams, S.L., 2002, Overexploiting marine ecosystem engineers: potential consequences for biodiversity: *Trends in Ecology & Evolution*, v. 17, p. 40-44.

- Conley, D.J., Carstensen, J., Aertebjerg, G., Christensen, P.B., Dalsgaard, T., Hansen, J.L.S., and Josefson, A.B., 2007, Long-term changes and impacts of hypoxia in Danish coastal waters: *Ecological Applications*, v. 17, p. S165-S184.
- Conley, D.J., Carstensen, J., Vaquer-Sunyer, R., and Duarte, C.M., 2009, Ecosystem thresholds with hypoxia: *Hydrobiologia*, v. 629, p. 21-29.
- Cook, A.A., Lamshead, P.J.D., Hawkins, L.E., Mitchell, N., and Levin, L.A., 2000, Nematode abundance at the oxygen minimum zone in the Arabian Sea: *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, v. 47, p. 75-85.
- Craig, J.K., and Crowder, L.B., 2005, Hypoxia-induced habitat shifts and energetic consequences in Atlantic croaker and brown shrimp on the Gulf of Mexico shelf: *Marine Ecology-Progress Series*, v. 294, p. 79-94.
- Dalla Via, J., Van den Thillart, G., Cattani, O., and Cortesi, P., 1998, Behavioural responses and biochemical correlates in *Solea solea* to gradual hypoxic exposure: *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, v. 76, p. 2108-2113.
- Dalla Via, J., Vandenthillart, G., Cattani, O., and Dezwaan, A., 1994, Influence of long-term hypoxia exposure on the energy metabolism of *Solea solea*, intermediary metabolism in blood, liver and muscle: *Marine Ecology Progress Series*, v. 111, p. 17-27.
- Daskalov, G.M., 2003, Long-term changes in fish abundance and environmental indices in the Black Sea: *Marine Ecology Progress Series*, v. 255, p. 259-270.
- Decker, M.B., Breitbart, D.L., and Marcus, N.H., 2003, Geographical differences in behavioral responses to hypoxia: Local adaptation to an anthropogenic stressor?: *Ecological Applications*, v. 13, p. 1104-1109.
- Diaz, R.J., 2001, Overview of hypoxia around the world: *Journal of Environmental Quality*, v. 30, p. 275-281.
- Diaz, R.J., and Rosenberg, R., 1995, Marine benthic hypoxia: A review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna, *in* Ansell, A.D., Gibson, R.N., and Barnes, M., eds., *Oceanography and Marine Biology - an Annual Review*, Vol 33, Volume 33: *Oceanography and Marine Biology*, p. 245-303.
- Diaz, R.J., and Rosenberg, R., 2008, Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems: *Science*, v. 321, p. 926-929.
- Domenici, P., Lefrancois, C., and Shingles, A., 2007, Hypoxia and the antipredator behaviours of fishes: *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, v. 362, p. 2105-2121.
- Duarte, A.S., Pinho, J.L., Pardal, M.A., Neto, J.M., Vieira, J.P., and Santos, F.S., 2001, Effect of residence times on River Mondego estuary eutrophication vulnerability: *Water Science and Technology*, v. 44, p. 329-336.
- Dyer, K.R., Christie, M.C., and Manning, A.J., 2004, The effects of suspended sediment on turbulence within an estuarine turbidity maximum: *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 59, p. 237-248.
- Ebert, B.L., Firth, J.D., and Ratcliffe, P.J., 1995, Hypoxia and mitochondrial inhibitors regulate expression of glucose transporter-1 via distinct cis-acting sequences: *Journal of Biological Chemistry*, v. 270, p. 29083-29089.

- Eby, L.A., and Crowder, L.B., 2002, Hypoxia-based habitat compression in the Neuse River Estuary: context-dependent shifts in behavioral avoidance thresholds: *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 59, p. 952-965.
- Eby, L.A., Crowder, L.B., McClellan, C.M., Peterson, C.H., and Powers, M.J., 2005, Habitat degradation from intermittent hypoxia: impacts on demersal fishes: *Marine Ecology-Progress Series*, v. 291, p. 249-261.
- Eerkes-Medrano, D., Menge, B.A., Sislak, C., and Langdon, C.J., 2013, Contrasting effects of hypoxic conditions on survivorship of planktonic larvae of rocky intertidal invertebrates: *Marine Ecology Progress Series*, v. 478, p. 139-+.
- Eklov, A.G., Greenberg, L.A., Bronmark, C., Larsson, P., and Berglund, O., 1998, Response of stream fish to improved water quality: a comparison between the 1960s and 1990s: *Freshwater Biology*, v. 40, p. 771-782.
- Eldridge, P.M., and Roelke, D.L., 2010, Origins and scales of hypoxia on the Louisiana shelf: Importance of seasonal plankton dynamics and river nutrients and discharge: *Ecological Modelling*, v. 221, p. 1028-1042.
- Elliott, M., 2011, Marine science and management means tackling exogenic unmanaged pressures and endogenic managed pressures - A numbered guide: *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p. 651-655.
- Ercin, A.E., Mekonnen, M.M., and Hoekstra, A.Y., 2013, Sustainability of national consumption from a water resources perspective: The case study for France: *Ecological Economics*, v. 88, p. 133-147.
- Essington, T.E., and Paulsen, C.E., 2010, Quantifying Hypoxia Impacts on an Estuarine Demersal Community Using a Hierarchical Ensemble Approach: *Ecosystems*, v. 13, p. 1035-1048.
- Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Maneux, E., Chabaux, G., Escalier, J.M., Wennekes, H., Derriennic, H., Schmeltz, M., Quemener, L., Repecaud, M., Woerther, P., and Castaing, P., 2011, Monitoring water quality in estuarine environments: lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system: *Hydrology and Earth System Sciences*, v. 15, p. 831-840.
- Even, S., Ficht, A., Thouvenin, B., Garnier, J., Servais, P., and LeHir, P., 2006, Modeling the carbon cycle in the turbidity maximum of the Seine estuary, *in* Jones, J., ed., *International Association of Theoretical and Applied Limnology*, Vol 29, Pt 5, Volume 29: *International Association of Theoretical and Applied Limnology - Proceedings*, p. 2263-2266.
- Even, S., Thouvenin, B., Bacq, N., Billen, G., Garnier, J., Guezennec, L., Blanc, S., Ficht, A., and Le Hir, P., 2007, An integrated modelling approach to forecast the impact of human pressure in the Seine estuary: *Hydrobiologia*, v. 588, p. 13-29.
- Fischer, K.R., U.Kils, 1992, In situ investigations on the respiration and behaviour of the eelpout *Zoarces viviparus* under short term hypoxia: *Marine Ecology Progress Series*, v. 88, p. 181-184.
- Froeschke, J.T., and Stunz, G.W., 2012, Hierarchical and interactive habitat selection in response to abiotic and biotic factors: The effect of hypoxia on

- habitat selection of juvenile estuarine fishes: *Environmental Biology of Fishes*, v. 93, p. 31-41.
- Garnier, J., Servais, P., Billen, G., Akopian, M., and Brion, N., 2001, Lower Seine river and estuary (France) carbon and oxygen budgets during low flow: *Estuaries*, v. 24, p. 964-976.
- Geyer, W.R., 1993, The importance of suppression of turbulence by stratification on the estuarine turbidity maximum: *Estuaries*, v. 16, p. 113-125.
- Goosen, N.K., Vanrijswijk, P., and Brockmann, U., 1995, Comparison of heterotrophic bacterial production-rates in early spring in the turbid estuaries of the Scheldt and the Elbe: *Hydrobiologia*, v. 311, p. 31-42.
- Gracey, A.Y., Troll, J.V., and Somero, G.N., 2001, Hypoxia-induced gene expression profiling in the euryoxic fish *Gillichthys mirabilis*: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, p. 1993-1998.
- Gray, J.S., Wu, R.S.S., and Or, Y.Y., 2002, Effects of hypoxia and organic enrichment on the coastal marine environment: *Marine Ecology Progress Series*, v. 238, p. 249-279.
- Guillemain, K., and Krasnow, M.A., 1997, The hypoxic response: Huffing and HIFing: *Cell*, v. 89, p. 9-12.
- Harris, L.A., Duarte, C.M., and Nixon, S.W., 2006, Allometric laws and prediction in estuarine and coastal ecology: *Estuaries and Coasts*, v. 29, p. 340-344.
- Hernandez-Miranda, E., Quinones, R.A., Aedo, G., Diaz-Cabrera, E., and Cisterna, J., 2012, The impact of a strong natural hypoxic event on the toadfish *Aphos porosus* in Coliumo Bay, south-central Chile: *Revista De Biología Marina Y Oceanografía*, v. 47, p. 475-487.
- Hochachka, P.W., 1997, Oxygen - A key regulatory metabolite in metabolic defense against hypoxia: *American Zoologist*, v. 37, p. 595-603.
- Huang, W.R., Liu, X.H., Chen, X.J., and Flannery, M.S., 2011, Critical Flow for Water Management in a Shallow Tidal River Based on Estuarine Residence Time: *Water Resources Management*, v. 25, p. 2367-2385.
- Irigoién, X., and Castel, J., 1997, Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: The Gironde (SW France): *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 44, p. 507-517.
- Irigoién, X., Post, J., Castel, J., Pfeiffer, K.F., and Hellmann, B., 1999, Nycthemeral variations of the dissolved oxygen concentration in the turbidity maximum of three European estuaries: biological vs. physical processes: *Journal of Marine Systems*, v. 22, p. 173-177.
- Jahne, B., Munnich, K.O., Bosinger, R., Dutzi, A., Huber, W., and Libner, P., 1987, On the parameters influencing air-water gas-exchange: *Journal of Geophysical Research-Oceans*, v. 92, p. 1937-1949.
- Jones, J.C., and Reynolds, J.D., 1999, Oxygen and the trade-off between egg ventilation and brood protection in the common goby: *Behaviour*, v. 136, p. 819-832.

- Keckeis, H., BauerNemeschkal, E., and Kamler, E., 1996, Effects of reduced oxygen level on the mortality and hatching rate of *Chondrostoma nasus* embryos: *Journal of Fish Biology*, v. 49, p. 430-440.
- Kemp, W.M., and Boynton, W.R., 1980, Influence of biological and physical processes on dissolved-oxygen dynamics in a estuarine system - implications for measurement of community metabolism: *Estuarine and Coastal Marine Science*, v. 11, p. 407-431.
- Kimberly, S., 2006, solubility of oxygen with temperature, *in* solubility, o., ed., <http://www.esf.edu/efb/schulz/Limnology/oxygensolubility.JPG>.
- Kramer, D.L., 1987, Dissolved-oxygen and fish behavior: *Environmental Biology of Fishes*, v. 18, p. 81-92.
- Kvamme, B.O., Gadan, K., Finne-Fridell, F., Niklasson, L., Sundh, H., Sundell, K., Taranger, G.L., and Evensen, O., 2013, Modulation of innate immune responses in Atlantic salmon by chronic hypoxia-induced stress: *Fish & Shellfish Immunology*, v. 34, p. 55-65.
- Kwast, K.E., and Hand, S.C., 1996, Acute depression of mitochondrial protein synthesis during anoxia - Contributions of oxygen sensing, matrix acidification, and redox state: *Journal of Biological Chemistry*, v. 271, p. 7313-7319.
- Lai, J.C.C., Kakuta, I., Mok, H.O.L., Rummer, J.L., and Randall, D., 2006, Effects of moderate and substantial hypoxia on erythropoietin levels in rainbow trout kidney and spleen: *Journal of Experimental Biology*, v. 209, p. 2734-2738.
- Lanoux, A., Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Chabaud, G., Richard, M., and Abril, G., 2013, Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France): *Environmental Science-Processes & Impacts*, v. 15, p. 585-595.
- Law, S.H.W., Wu, R.S.S., Ng, P.K.S., Yu, R.M.K., and Kong, R.Y.C., 2006, Cloning and expression analysis of two distinct HIF-alpha isoforms - gHIF-1alpha and gHIF-4alpha - from the hypoxia-tolerant grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*: *Bmc Molecular Biology*, v. 7.
- Lefrancois, C., Ferrari, R.S., da Silva, J.M., and Domenici, P., 2009, The effect of progressive hypoxia on spontaneous activity in single and shoaling golden grey mullet *Liza aurata*: *Journal of Fish Biology*, v. 75, p. 1615-1625.
- Levin, L.A., Ekau, W., Gooday, A.J., Jorissen, F., Middelburg, J.J., Naqvi, S.W.A., Neira, C., Rabalais, N.N., and Zhang, J., 2009, Effects of natural and human-induced hypoxia on coastal benthos: *Biogeosciences*, v. 6, p. 2063-2098.
- Limburg, K.E., and Waldman, J.R., 2009, Dramatic Declines in North Atlantic Diadromous Fishes: *Bioscience*, v. 59, p. 955-965.
- Liu, C.C., Chiu, J.M.Y., Li, L., Shin, P.K.S., and Cheung, S.G., 2011, Respiration rate and swimming activity of larvae of two sub-tidal nassariid gastropods under reduced oxygen levels: Implications for their distributions in Hong Kong waters: *Marine Pollution Bulletin*, v. 63, p. 230-236.

- Long, W.C., and Seitz, R.D., 2008, Trophic interactions under stress: hypoxia enhances foraging in an estuarine food web: *Marine Ecology Progress Series*, v. 362, p. 59-68.
- Lotze, H.K., Coll, M., Magera, A.M., Ward-Paige, C., and Airoldi, L., 2011, Recovery of marine animal populations and ecosystems: *Trends in Ecology & Evolution*, v. 26, p. 595-605.
- Maes, J., Stevens, M., and Breine, J., 2007, Modelling the migration opportunities of diadromous fish species along a gradient of dissolved oxygen concentration in a European tidal watershed: *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 75, p. 151-162.
- Maes, J., Stevens, M., and Breine, J., 2008, Poor water quality constrains the distribution and movements of twaite shad *Alosa fallax fallax* (Lacepede, 1803) in the watershed of river Scheldt: *Hydrobiologia*, v. 602, p. 129-143.
- McKendry, J.E., Milsom, W.K., and Perry, S.F., 2001, Branchial CO₂ receptors and cardiorespiratory adjustments during hypercarbia in Pacific spiny dogfish *Squalus acanthias*: *Journal of Experimental Biology*, v. 204, p. 1519-1527.
- McNatt, R.A., and Rice, J.A., 2004, Hypoxia-induced growth rate reduction in two juvenile estuary-dependent fishes: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 311, p. 147-156.
- Mejri, S., Tremblay, R., Lambert, Y., and Audet, C., 2012, Influence of different levels of dissolved oxygen on the success of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) egg hatching and embryonic development: *Marine Biology*, v. 159, p. 1693-1701.
- Miller, D.C., Poucher, S.L., and Coiro, L., 2002, Determination of lethal dissolved oxygen levels for selected marine and estuarine fishes, crustaceans, and a bivalve: *Marine Biology*, v. 140, p. 287-296.
- Moodley, L., vanderZwaan, G.J., Herman, P.M.J., Kempers, L., and vanBreugel, P., 1997, Differential response of benthic meiofauna to anoxia with special reference to Foraminifera (Protista: Sarcodina): *Marine Ecology Progress Series*, v. 158, p. 151-163.
- Neira, C., Sellanes, J., Levin, L.A., and Arntz, W.E., 2001, Meiofaunal distributions on the Peru margin: relationship to oxygen and organic matter availability: *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, v. 48, p. 2453-2472.
- Nishio, T., Koike, I., and Hattori, A., 1982, Denitrification, Nitrate reduction, and oxygen-consumption in coastal and estuarine sediments: *Applied and Environmental Microbiology*, v. 43, p. 648-653.
- Nixon, S.W., 1990, Marine eutrophication - A growing problem: *Ambio*, v. 19, p. 101-101.
- Nixon, S.W., 1995, Coastal marine eutrophication - A definition, social causes and future concerns: *Ophelia*, v. 41, p. 199-219.
- Petersen, J.K., and Petersen, G.I., 1990, Tolerance, behavior and oxygen-consumption in the sand goby, *pomatoschistus minutus* (pallas), exposed to hypoxia: *Journal of Fish Biology*, v. 37, p. 921-933.

- Petersen, J.K., and Pihl, L., 1995, Responses to hypoxia of plaice, *Pleuronectes platessa*, and dab, *Limanda limanda*, in the south east kattegat - Distribution and Growth: *Environmental Biology of Fishes*, v. 43, p. 311-321.
- Pichavant, K., Person-Le-Ruyet, J., Le Bayon, N., Severe, A., Le Roux, A., Quemener, L., Maxime, V., Nonnotte, G., and Boeuf, G., 2000, Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot: *Aquaculture*, v. 188, p. 103-114.
- Pierron, F., Baudrimont, M., Boudou, A., and Massabuau, J.C., 2007, Effects of salinity and hypoxia on cadmium bioaccumulation in the shrimp *Palaemon longirostris*: *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, p. 1010-1017.
- Pihl, L., 1994, Changes in the diet of demersal fish due to eutrophication-induced hypoxia in the kattegat, Sweden: *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 51, p. 321-336.
- Pihl, L., Baden, S.P., and Diaz, R.J., 1991, Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustaceans: *Marine Biology*, v. 108, p. 349-360.
- Pihl, L., Baden, S.P., Diaz, R.J., and Schaffner, L.C., 1992, Hypoxia-induced structural-changes in the diet of bottom-feeding fish and crustacea: *Marine Biology*, v. 112, p. 349-361.
- Pothoven, S.A., Vanderploeg, H.A., Hook, T.O., and Ludsin, S.A., 2012, Hypoxia modifies planktivore-zooplankton interactions in Lake Erie: *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 69, p. 2018-2028.
- Powers, S.P., Harper, D.E., and Rabalais, N.N., 2001, Effect of hypoxia/anoxia on the supply and settlement of benthic invertebrate larvae, *in* Rabalais, N.N., ed., *Coastal and Estuarine Sciences, Vol 58: Coastal Hypoxia: Consequences for Living Resources and Ecosystems, Volume 58: Coastal and Estuarine Sciences: Washington, Amer Geophysical Union*, p. 185-210.
- Randall, D.J., McKenzie, D.J., Abrami, G., Bondiolotti, G.P., Natiello, F., Bronzi, P., Bolis, L., and Agradi, E., 1992, Effects of diet on responses to hypoxia in sturgeon (*Acipenser naccarii*): *Journal of Experimental Biology*, v. 170, p. 113-125.
- Rosenberg, R., Hellman, B., and Johansson, B., 1991, Hypoxic tolerance of marine benthic fauna: *Marine Ecology Progress Series*, v. 79, p. 127-131.
- Sagasti, A., Schaffner, L.C., and Duffy, J.E., 2000, Epifaunal communities thrive in an estuary with hypoxic episodes: *Estuaries*, v. 23, p. 474-487.
- Schurmann, H., and Steffensen, J.F., 1994, Spontaneous swimming activity of atlantic cod *gadus morhua* exposed to graded hypoxia at three temperatures: *Journal of Experimental Biology*, v. 197, p. 129-142.
- Seitzinger, S.P., and Giblin, A.E., 1996, Estimating denitrification in North Atlantic continental shelf sediments: *Biogeochemistry*, v. 35, p. 235-260.
- Semenza, G.L., Jiang, B.H., Leung, S.W., Passantino, R., Concordet, J.P., Maire, P., and Giallongo, A., 1996, Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1: *Journal of Biological Chemistry*, v. 271, p. 32529-32537.

- Semenza, G.L., Roth, P.H., Fang, H.M., and Wang, G.L., 1994, transcriptional regulation of genes encoding glycolytic-enzymes by hypoxia-inducible factor-1: *Journal of Biological Chemistry*, v. 269, p. 23757-23763.
- Shoji, J., Masuda, R., Yamashita, Y., and Tanaka, M., 2005, Predation on fish larvae by moon jellyfish *Aurelia aurita* under low dissolved oxygen concentrations: *Fisheries Science*, v. 71, p. 748-753.
- Smith, M.J., Gelsleichter, J., and Smith, K.J., 2012, Protein expression of hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 alpha) in spot (*Leiostomus xanthurus*) exposed to constant and diel-cycling hypoxia: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 424, p. 1-4.
- Soitamo, A.J., Rabergh, C.M.I., Gassmann, M., Sistonen, L., and Nikinmaa, M., 2001, Characterization of a hypoxia-inducible factor (HIF-1 alpha) from rainbow trout - Accumulation of protein occurs at normal venous oxygen tension: *Journal of Biological Chemistry*, v. 276, p. 19699-19705.
- Soldatov, A.A., 1996, The effect of hypoxia on red blood cells of flounder: A morphologic and autoradiographic study: *Journal of Fish Biology*, v. 48, p. 321-328.
- Steckbauer, A., Duarte, C.M., Carstensen, J., Vaquer-Sunyer, R., and Conley, D.J., 2011, Ecosystem impacts of hypoxia: thresholds of hypoxia and pathways to recovery: *Environmental Research Letters*, v. 6.
- Stelzenmuller, V., Lee, J., South, A., and Rogers, S.I., 2010, Quantifying cumulative impacts of human pressures on the marine environment: a geospatial modelling framework: *Marine Ecology Progress Series*, v. 398, p. 19-32.
- Stierhoff, K.L., Targett, T.E., and Miller, K., 2006, Ecophysiological responses of juvenile summer and winter flounder to hypoxia: experimental and modeling analyses of effects on estuarine nursery quality: *Marine Ecology-Progress Series*, v. 325, p. 255-266.
- Switzer, T.S., Chesney, E.J., and Baltz, D.M., 2009, Habitat selection by flatfishes in the northern Gulf of Mexico: Implications for susceptibility to hypoxia: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 381, p. S51-S64.
- Tallqvist, M., Sandberg-Kilpi, E., and Bonsdorff, E., 1999, Juvenile flounder, *Platichthys flesus* (L.), under hypoxia: effects on tolerance, ventilation rate and predation efficiency: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 242, p. 75-93.
- Taylor, J.C., and Miller, J.M., 2001, Physiological performance of juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma* (Jordan and Gilbert, 1884), in chronic and episodic hypoxia: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 258, p. 195-214.
- Thetmeyer, H., Waller, U., Black, K.D., Inselmann, S., and Rosenthal, H., 1999, Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions: *Aquaculture*, v. 174, p. 355-367.
- Thomas, P., Rahman, S., Khan, I.A., and Kummer, J.A., 2008, Widespread endocrine disruption and reproductive impairment in an estuarine fish population exposed to seasonal hypoxia: *Marine Environmental Research*, v. 66, p. 166-166.

- Turnpenny, A., Coughlan, J., and Liney, K., 2006, Review of temperature and dissolved oxygen effects on fish in transitional waters, *in* report, J.B., ed., WFD Transitional Waters, Job No:21960, Environment Agency (NEECA2), p. 89.
- Uncles, R.J., Joint, I., and Stephens, J.A., 1998, Transport and retention of suspended particulate matter and bacteria in the Humber-Ouse Estuary, United Kingdom, and their relationship to hypoxia and anoxia: *Estuaries*, v. 21, p. 597-612.
- Utne-Palm, A.C., Salvanes, A.G.V., Currie, B., Kaartvedt, S., Nilsson, G.E., Braithwaite, V.A., Stecyk, J.A.W., Hundt, M., van der Bank, M., Flynn, B., Sandvik, G.K., Klevjer, T.A., Sweetman, A.K., Bruchert, V., Pittman, K., Peard, K.R., Lunde, I.G., Strandabo, R.A.U., and Gibbons, M.J., 2010, Trophic Structure and Community Stability in an Overfished Ecosystem: *Science*, v. 329, p. 333-336.
- Val, A.L., Lessard, J., and Randall, D.J., 1995, Effects of hypoxia on rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*) intraerythrocytic phosphates: *Journal of Experimental Biology*, v. 198, p. 305-310.
- Vaquer-Sunyer, R., and Duarte, C.M., 2008, Thresholds of hypoxia for marine biodiversity: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 105, p. 15452-15457.
- Vaquer-Sunyer, R., and Duarte, C.M., 2010, Sulfide exposure accelerates hypoxia-driven mortality: *Limnology and Oceanography*, v. 55, p. 1075-1082.
- Vaquer-Sunyer, R., and Duarte, C.M., 2011, Temperature effects on oxygen thresholds for hypoxia in marine benthic organisms: *Global Change Biology*, v. 17, p. 1788-1797.
- Verdonschot, P.F.M., Spears, B.M., Feld, C.K., Brucet, S., Keizer-Vlek, H., Borja, A., Elliott, M., Kernan, M., and Johnson, R.K., 2013, A comparative review of recovery processes in rivers, lakes, estuarine and coastal waters: *Hydrobiologia*, v. 704, p. 453-474.
- Villnas, A., Norkko, J., Lukkari, K., Hewitt, J., and Norkko, A., 2012, Consequences of Increasing Hypoxic Disturbance on Benthic Communities and Ecosystem Functioning: *Plos One*, v. 7.
- Wang, G.L., and Semenza, G.L., 1993, General involvement of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional response to hypoxia: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 90, p. 4304-4308.
- Wang, W.X., and Widdows, J., 1991, Physiological-responses of mussel larvae *Mytilus edulis* to environmental hypoxia and anoxia: *Marine Ecology Progress Series*, v. 70, p. 223-236.
- Wannamaker, C.M., and Rice, J.A., 2000, Effects of hypoxia on movements and behavior of selected estuarine organisms from the southeastern United States: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 249, p. 145-163.
- Whitall, D., Bricker, S., Ferreira, J., Nobre, A.M., Simas, T., and Silva, M., 2007, Assessment of eutrophication in estuaries: Pressure-state-response and

- nitrogen source apportionment: *Environmental Management*, v. 40, p. 678-690.
- Wu, R.S.S., 2002, Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses: *Marine Pollution Bulletin*, v. 45, p. 35-45.
- Yannicelli, B., Paschke, K., Gonzalez, R.R., and Castro, L.R., 2013, Metabolic responses of the squat lobster (*Pleuroncodes monodon*) larvae to low oxygen concentration: *Marine Biology*, v. 160, p. 961-976.
- Yuan, D., Lin, B., and Falconer, R.A., 2007, A modelling study of residence time in a macro-tidal estuary: *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 71, p. 401-411.