



HAL
open science

**Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur
le fonctionnement de la Garonne estuarienne
(ETIAGE) : Addendum année 4 Avril 2013 - Mars 2014**

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) : Addendum année 4 Avril 2013 - Mars 2014. *irstea*. 2014, pp.152. hal-02605343

HAL Id: hal-02605343

<https://hal.inrae.fr/hal-02605343v1>

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.



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



Addendum année 4 : Avril 2013 – Mars 2014

Editeurs : M. Lepage et H. Etcheber

Lepage M. et Etcheber H., 2014. Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne (ETIAGE). Rapport Année 4 : Avril 2013-Mars 2014. **Addendum**. Laboratoire EPOC, Université de Bordeaux, Etude IRSTEA n°182, 152p.

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 4

Annexe 2

Publication Scientifique : Deycard V.N. et al (2014). Contributions and potential impacts of seven priority substances (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater. *Marine Chemistry, in press.*

Annexe 3

Publication Scientifique : Petit J.C. et al (2013). Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France). *Chemical Geology.*, 359, 125-135.

Annexe 4

Publication Scientifique en préparation : Deycard et al. . Inputs, dynamics, and potential impacts of Silver (Ag) from urban wastewater into the Gironde Estuary (France). *En préparation pour Geochemistry (Chemie der Erde).*

Annexe 5

Publication Scientifique en préparation: Dindinaud, F. et al . Intra - annual dynamic of the calanoid copepod *Eurytemora affinis* in the fluvial section of the Gironde Estuary: (France). *En préparation pour Estuarine Coastal and Shelf Estuary.*

Annexe 6

Poster (Lanoux A. et al.) présenté à la Conférence 10th IWA LET, Juin 2013, Bordeaux, France.

Annexe 7

Poster (Deycard V.N. et al.) présenté à la Conférence CSE/G H, 8-12 Juillet, Toulouse, France.

Annexe 8

Poster (Dindinaud F. et al.) présenté à JILO, 17-19 Octobre 2012, Clermont-Ferrand, France.

Annexe 9

Poster (Dindinaud F. et al.) présenté à ECSA 54, 12-16 Mai 2014, Sesimbra, Portugal et au Symposium ISOBAY 14, 10-13 Juin 2014, Bordeaux, France.

Annexe 10

Poster (Kessaci K. et al.) présenté à EGU 2014-10196, 27 Avril-2 May 2014, Vienne, Autriche.

Annexe 11

Poster (Kessaci K. et al.) présenté à colloque GAGILAU, 14-16 May 2014, Vienne, Autriche.

Annexe 12

Poster (Baudrimont M. et al.) présenté à SETAC North America, 17-21 November 2014, Nashville, USA

Annexe 13

Marron Lucie. Influence des rejets urbains sur la matière organique sédimentaire et conséquence pour la méiofaune benthique dans l'estuaire fluvial de la Gironde. *Rapport de stage de M2, Juin 2013.*

Annexe 14

De Lary de Latour Hortense. Qualité et composition de la matière organique particulaire dans les systèmes estuariens. Une approche multi-écosystémique. *Rapport de stage de M2, Juin 2014.*

Annexe 15

Fougères Paul-Antoine. Caractérisation de la matière organique dissoute des stations d'épuration de l'estuaire de la Gironde. *Rapport de stage de M1, Juin 2013*

Annexe 1

Valorisation scientifique des travaux

Année 4 : Avril 2013-Mars 2014

Certains documents cités ici ne cadrent pas parfaitement avec la période annoncée en en-tête, parce que ces documents correspondaient à l'année 3 et n'ont pas été cités dans le rapport associé à cette année.

PUBLICATIONS

- **Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C., Lancelleur L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2014).** Contributions and potential impacts of seven priority substances (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater. *Marine Chemistry*, in press.
- **Petit J.C., Schäfer J., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Derriennic H., Lancelleur L., Dutruch L., Bossy C., Mattielli N. (2013).** Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France). *Chemical Geology.*, 359, 125-135.

COMMUNICATIONS ORALES

- **Aminot Y., Pardon P., Budzinski H. (2013).** Spatial distribution of pharmaceutical residues after environmental discharge: Evaluation of occurrence and degradation in the Gironde Estuary, France. *SETAC Europe 2013*, 13 Mai 2013, Glasgow, Royaume-Uni.
- **Cruz J., Pardon P., Dévier M.-H., Budzinski H. (2013).** Impact des apports agricoles et urbains sur la contamination de la Garonne estuarienne par les pesticides. *43^{ème} congrès du Groupe Français des Pesticides*, 29-31 Mai 2013, Albi, France
- **Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C. J., Lancelleur L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2012).** Contribution of Urban Inputs of Bordeaux to Estuarine Trace Metal Fluxes (Bay of Biscay, Gironde): Results from ETIAGE Project. *ISOBAY XIII , International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay*, 11-13 April 2012, Santander, Spain.
- **Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C. J., Lancelleur L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2012).** Contribution of Urban Inputs of Bordeaux to Estuarine Trace Metal Fluxes (Bay of Biscay, Gironde): Results from ETIAGE Project. *Fourth Water Health Symposium*, 11 –13 June 2012, Cannes, France.
- **Deycard V.N., Lancelleur L., Schäfer J., Coynel A., Masson M., Bossy C., Dutruch L., Ventura A., Blanc G. (2013).** Methylmercury spéciation and mass balance at an urbanwastewatertreatment plant and its impact on receiving waters of the fluvial Gironde Estuary (France). *12th International EstuarineBiogeochemistry Symposium (IEBS 12)*, 30 June – 4 July 2013, Plymouth, UK.

- **Deycard V.N., Lanceleur L., Schäfer J., Coynel A., Masson M., Bossy C., Dutruch L., Ventura A., Blanc G. (2013).** Methylmercury production in urbanwastewater and fluxes into the fluvial Gironde Estuary (France). *29th International Conference of the Society for Environmental Geochemistry and Health*, 8th-12th July 2013, Toulouse, France.
- **Gardia-Parèze C., Dévier M-H., Mazellier P., Budzinski H. (2013).** Identification de composés biologiquement actifs dans les écosystèmes aquatiques par l'analyse dirigée par l'effet (*Effect Directed Analysis*, EDA). *Séminaire invité INERIS*, Décembre 2013, Verneuil-en-Halatte, France.
- **Lanoux A., Abril G., Etcheber H., Schmidt S., Sottolichio A. (2014).** Impacts of carbon and nitrogen fluxes from urban waste water and runoff on dissolved oxygen in a macrotidal estuary (Gironde, France). *Ocean Science Meeting*, 23-28 February 2014, Hawaiï, USA.
- **Schäfer J., Lanceleur L., Deycard V.N., Chiffoleau J.F., Coynel A., Dutruch L., Bossy C., Audry S., Auger D., Petit J.C. J., Blanc G. (2012).** Urban and non-urban silver sources to the Gironde Estuary (France) - historical and recent trends. *11th Urban Environment Symposium*, 16-19 September 2012, Karlsruhe, Germany.

COMMUNICATIONS PAR POSTER

- **Aminot Y., Pardon P., Budzinski H. (2013).** Development and application of a focused microwave assisted extraction protocol for the quantification of pharmaceuticals in solid matrices. *SETAC Europe 2013*, 13 mai 2013, Glasgow, Royaume-Uni.
- **Baudrimont M., Dranguet P., Gourves P-Y., Gonzalez P., Legeay A. (2013).** Isolated and combined effects of hypoxia and nickel contamination in the Asiatic clam *corbicula fluminea*. *SETAC North America 34th Annual Meeting*, 17-21 Nov 2013, Nashville, USA.
- **Cruz J., Pardon P., Dévier M.-H., Budzinski H. (2013).** Impact des apports agricoles sur la contamination de la Garonne estuarienne par les pesticides. *Journée de l'Ecole Doctorale des Sciences Chimiques*, 16 avril 2013, Talence, France.
- **Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C. J., Lanceleur L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2012).** Silver in urbanwastewater discharged into the fluvial Gironde Estuary: Concentrations, fluxes and potential impact. *29th International Conference of the Society for Environmental Geochemistry and Health.*, 8th-12th July 2013, Toulouse, France.
- **Dindinaud F., Sautour, B., Bachelet, G. (2012).** Dynamics and quantitative distribution of meiofauna in low salinity areas of the Gironde Estuary. *JILO 2012; Journée Internationale de Limnologie et d'Océanographie*, 17-19 octobre 2012, Clermont-Ferrand, France.

- **Lanoux A., H. Etcheber, A. Sottolichio, S. Schmidt, M. Chambolle, X. Litrico & G. Abril (2013).** Impact of wastewater discharge from the city of Bordeaux on summer oxygenation of the Garonne tidal River. *10th IWA Leading Edge Technology Conference on Water and Wastewater Technologies*, Juin 2013, Bordeaux, France.

RAPPORTS

- RAPPORT ANNUEL SYNTHETIQUE D'AVANCEMENT (AVRIL 2013-MARS 2014)
- ADDENDUM RAPPORT ETIAGE (AVRIL 2013- MARS 2014)
- **Fougères Paul-Antoine.** Caractérisation de la matière organique dissoute des stations d'épuration de l'estuaire de la Gironde. Rapport de stage de M1, Juin 2013
- **Marron Lucie.** Influence des rejets urbains sur la matière organique sédimentaire et conséquence pour la méiofaune benthique dans l'estuaire fluvial de la Gironde. Rapport de stage de M2, Juin 2013.
- **Tonnard Manon.** Etude des filtres UV en milieux aquatiques : occurrence en stations d'épuration et dans l'estuaire de la Gironde (échantillonnage ponctuel et passif). Rapport de stage de M2, Juin 2013.
- **Weeks Shannon .** Etude des pesticides en milieu aquatique par échantillonnage passif. Rapport de stage de M1, Juin 2013.

Post Mars 2014

Ces documents vont être édités au-delà du mois de Mars, dans le courant de l'année 2014, au plus tard au premier semestre 2015.

PUBLICATIONS

- **Aminot Y., Arnaud C., Budzinski H.** . Development and application of a multi-residue method for the determination of 53 pharmaceuticals in water, sediment and suspended solids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *A soumettre à Analytical and Bioanalytical Chemistry.*
- **Aminot Y., Budzinski H.** .Biotic and abiotic degradation of pharmaceuticals during in-vitro experiments simulating mixing conditions of the discharge of treated wastewater in a highly turbid estuary. *A soumettre à Science of the Total Environment.*
- **Aminot Y., Litrico X., Budzinski H.** . One-year monitoring of pharmaceuticals in urban wastewaters of Bordeaux, France: occurrence, variabilities and removal in wastewater treatment plants. *A soumettre à Chemosphere.*
- **Cruz J., Le Menach K., Dévier M.-H., Budzinski H.** . Stir-bar Sorptive Extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry method for high sensitive monitoring of fipronil and its metabolites in water: application to Garonne River system (France). *A soumettre à Journal of Chromatography A.*
- **Cruz J., Pardon P., Le Menach K., Dévier M.-H., Budzinski H.** . Occurrence, sources and fate of pesticides in the Gironde estuary. *A soumettre à Chemosphere.*
- **Deycard et al.** . Inputs, dynamics, and potential impacts of Silver (Ag) from urban wastewater into the Gironde Estuary (France). *En préparation pour Geochemistry (Chemie der Erde).*
- **Dindinaud, F., Chaalali A., David C., Chevillot X., Savoye N., Bachelet G., Sautour B.** . Intra - annual dynamic of the calanoid copepod *Eurytemora affinis* in the fluvial section of the Gironde Estuary: (France). *En préparation pour Estuarine Coastal and Shelf Estuary.*
- **Gardia-Parèze C., Dévier M-H., Creusot N., Aït-Aïssa S., Maillot-Marechal E., Balaguer P., Budzinski H. (en cours de préparation).** Assessing *in vitro* activities and identification of endocrine-disrupting compounds in wastewater treatment plant using effect-directed analysis. *A soumettre à Environmental Science & Technology.*

COMMUNICATIONS ORALES

- **Aminot Y., Devier M.H., Litrico X., Chambolle M., Budzinski H. (2014).** Source et devenir des médicaments après rejet en Garonne estuarienne. *Groupement de Recherche Universitaire sur les Techniques de Traitement et d'Épuration des Eaux (GRUTTEE)*, 29-31 octobre 2014, Limoges, France.
- **Aminot Y., Renault C., Arnaud C., Litrico X., Chambolle M., Ventura A., Devier M.H., Budzinski H. (2014).** Impact d'un rejet de station d'épuration dans une rivière péri-urbaine à faible débit : contamination en médicaments des phases dissoute, particulaire et sédimentaire. *Journées Informations Eaux (JIE 2014)*, 4-6 novembre 2014, Poitiers, France.
- **Budzinski H., Cruz J., Le Menach K., Pardon P., Dévier M.-H. (2014).** Présence, source et comportement des pesticides en estuaire de la Gironde. *44^e congrès du Groupe Français des pesticides*, 26-29 mai 2014, Schœlcher, Martinique.
- **Cruz J., Le Menach K., Dévier M.-H., Budzinski H. (2014).** Etude du fipronil en estuaire de la Gironde : un enjeu écologique et analytique. *Journée de l'Ecole Doctorale des Sciences Chimiques*, 17 avril 2014, Talence, France.
- **Cruz J., Le Menach K., Dévier M.-H., Pardon P., Budzinski H. (2014).** Occurrence, sources and fate of pesticides in the Gironde estuary. *ISOBAY 14, International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay*, 10-13 juin 2014, Bordeaux, France.
- **Cruz J., Le Menach K., Dévier M.-H., Budzinski H. (2014).** High sensitive monitoring of fipronil and its metabolites in the Garonne River (France). *IUPAC 2014*, 10-14 août 2014, San-Francisco, USA.
- **Cruz J., Dufour V., Le Menach K., Dévier M.-H., Pardon P., Budzinski H. (2014).** Sources et devenir des pesticides en milieu urbain : étude du réseau d'assainissement et des stations d'épuration de Bordeaux. *JIE 2014*, novembre 2014, Poitiers, France.
- **Gardia-Parège C., Dévier M.-H., Creusot N., Aït-Aïssa S., Budzinski H. (2014).** Identification of emerging pharmaceutical pollutants and human metabolites in urban wastewater treatment plant using effect-directed analysis. *20th International Mass Spectrometry Conference (IMSC 20th)*, 24-29 Août 2014, Genève, Suisse.

COMMUNICATIONS PAR POSTER

- **Aminot Y., Litrico X., Chambolle M., Devier M.H., Budzinski H. (2014).** Occurrence et devenir environnemental des médicaments : des effluents urbains à la Gironde estuarienne, résultats du programme ETIAGE. *Journées Informations Eaux (JIE 2014)*, 4-6 novembre 2014, Poitiers, France.
- **Dindinaud, F., Sautour, B., Bachelet, G. 2014.** Structure and dynamics of meiofauna and macrofauna communities in low salinity areas of the Gironde Estuary. *ISOBAY 14, XIV International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay*, 11-13 June 2014, Bordeaux, France.
- **Dindinaud F., Sautour B., Bachelet G. (2014).** Structure and dynamics of meiofauna and macrofauna communities in low salinity areas of the Gironde Estuary. *ECSA 54 – Coastal systems under change: tuning assessment and management tools*, 12 – 16- May 2014, Sesimbra, Portugal.
- **Dindinaud F., Sautour, B., Bachelet, G. (2014).** Structure and dynamics of meiofauna and macrofauna communities in low salinity areas of the Gironde Estuary. *ISOBAY 14, XIV International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay*, 10-13 June 2014, Bordeaux, France.
- **Kessaci K., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Derriennic H., Schäfer J. (2014).** Impacts of anthropogenic pressures on the water quality of the Gironde Estuary (SW France) from the Urban Agglomeration of Bordeaux: spatial characterization and inputs of trace metal elements (Ag, As, Cd, Cu, Pb and Zn). *EGU2014-10196-3, EGU General Assembly*, 27 April – 2 May 2014, Vienna, Austria.
- **Kessaci K., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Schäfer J. (2014).** Impact des changements globaux sur la quantité et la qualité des transports biogéochimiques : cas de l'environnement fluvio-estuarien Lot-Garonne-Gironde. *Colloque Gagilau 2014 – Quels fleuves et estuaires pour demain?* . 14 – 16 Mai 2014, Toulouse, France.

RAPPORTS

- **De Lary de Latour Hortense.** Qualité et composition de la matière organique particulaire dans les systèmes estuariens. Une approche multi-écosystémique. Rapport de stage de M2, Juin 2014.
- **Guyon Anaïs.** Etude des pesticides dans les milieux eau air et sols de la Gironde. Rapport de stage INTECHMER, septembre 2014.

THESES

- **Cruz Justine** (en cours de préparation). Etude des pesticides dans les milieux eau, air et sols de la Gironde. Thèse de l'Université de Bordeaux, spécialité chimie analytique et environnement.
- **Deycard Victoria (2014)**. Etude de la réactivité et l'efficacité de rétention des éléments traces métalliques dans les stations d'épuration de Bordeaux et leurs apports métalliques dans les eaux de la section Garonnaise de l'estuaire de la Gironde (ETIAGE). Thèse de l'Université Bordeaux 1, spécialité biogéochimie et écosystème, à soutenir fin 2014.
- **Dindinaud François (2014)**. Approche intégrée des conditions physico-chimiques affectant les cortèges biologiques de la partie fluviale de l'estuaire de la Gironde. Thèse de l'Université Bordeaux 1, spécialité biogéochimie et écosystème, à soutenir fin 2014.
- **Gardia-Parège Caroline** (en cours de préparation). Développement et application de l'analyse dirigée par l'effet, *Effect Directed Analysis*, pour la recherche et l'identification de contaminants biologiquement actifs dans les écosystèmes aquatiques. Thèse de l'Université de Bordeaux, spécialité chimie analytique et environnement.

Annexe 2

Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C., Lanceleur L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2014)

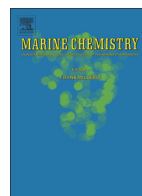
Contributions and potential impacts of seven priority substances (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater.

Marine Chemistry, in press.



Contents lists available at ScienceDirect

Marine Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marchem

Contributions and potential impacts of seven priority substances (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater

Victoria N. Deycard^a, Jörg Schäfer^{a,*}, Gérard Blanc^a, Alexandra Coynel^a, Jérôme C.J. Petit^a, Laurent Lancelleur^a, Lionel Dutruch^a, Cécile Bossy^a, Alexandre Ventura^b

^a Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Av. des Facultés, 33405 Talence Cedex, France

^b Lyonnaise des Eaux, Agence Diagnostic Assainissement, Centre Régional Aquitaine, F-33029 Bordeaux, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 December 2013

Received in revised form 25 April 2014

Accepted 7 May 2014

Available online xxxx

Keywords:

Coastal pollution

Estuary metal contamination

Urban trace elements

Fluxes

Wastewater

Gironde Estuary

ABSTRACT

Urban wastewater metal inputs into coastal systems are of increasing interest to both scientists and managers facing restrictive environmental protection policies, population increase and changing metal applications. However, their impact and contribution to metal loads in estuarine and coastal environments is widely unknown due to the lack of (i) monitoring in both artificial and natural aquatic systems and (ii) an understanding of control parameters, such as spatial and temporal variations in hydrological conditions. We investigated the daily concentrations, fluxes and dynamics of seven EU priority contaminants (potentially toxic metals Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Zn and the metalloid As) transported by the Garonne River (La Réole site; watershed area ~57,000 km²) to those released into the freshwater reaches of the Gironde Estuary (Garonne Branch) by two main wastewater treatment plants (WWTPs) of Bordeaux under low river discharge and contrasting rainfall situations. During short intense summer rainstorms, wastewater flow into the WWTPs increased by up to 150% and 60%, respectively, resulting in an increase of 70% (As) to 200% (Pb) for fluxes entering the treatment plants. Overall resulting WWTP particulate and dissolved effluent concentrations were up to 2 (Cr), 3 (Pb, Cu and Ni) and 5 (Cd and Zn) times higher than measured upstream in the Garonne River, respectively. During low-discharge, maximum outlet fluxes at the WWTPs were similar to respective watershed-derived fluxes in the Garonne River. During rain events, Pb in all fractions, total and dissolved Cu and total and particulate Zn fluxes entering the fluvial estuary were close to the respective minimum flux values at the La Réole site. Furthermore, during rain episodes, particulate Cu and dissolved Zn fluxes from the WWTPs to the fluvial estuary were greater than those transported by the Garonne River at the La Réole site. Mixing of treated wastewater with highly turbid estuarine freshwater most likely results in a re-equilibration between the dissolved and particulate phases, although biogeochemical processes in downstream estuarine turbidity and salinity gradients may partly reverse contaminant adsorption on estuarine particles. Accordingly, urban wastewater contaminant release clearly impacts estuarine water quality before being expulsed to the Bay of Biscay.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Recent national and European legislations require closer monitoring and regulations on trace metals being released into the environment (e.g. *Programme National d'Action contre la Pollution des Milieux Aquatiques*, NQE, 2008). Increasing risks for coastal water quality are of particular concern as presently over 40% of urban populations are located within 100 km from the coast (Small and Cohen, 2004). Average urban populations along the coasts show already more than three times

the global average population density (Small and Nicholls, 2003; McGranahan et al., 2006). As worldwide urban populations are projected to augment from approximately 3.1 billion to 6.7 billion in 2050 (UN, 2007) and considering that ~80% of the global material consumption by humans goes to urban systems (Heinloth, 2003; UNEP, 2012), the impact of wastewater treatment plants (WWTPs), known to be important contributors of trace metals from urban sources (Stephenson, 1987), on coastal areas is also expected to increase with population.

At the European scale, the Gironde Estuary drains a watershed considered as not highly industrialized/urbanized draining only two major agglomerations of Bordeaux and Toulouse, each with approximately one million inhabitants (Lancelleur et al., 2011a; Fig. 1A). However,

* Corresponding author. Tel.: +33 544002967; fax: +33 556880848.
E-mail address: j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr (J. Schäfer).

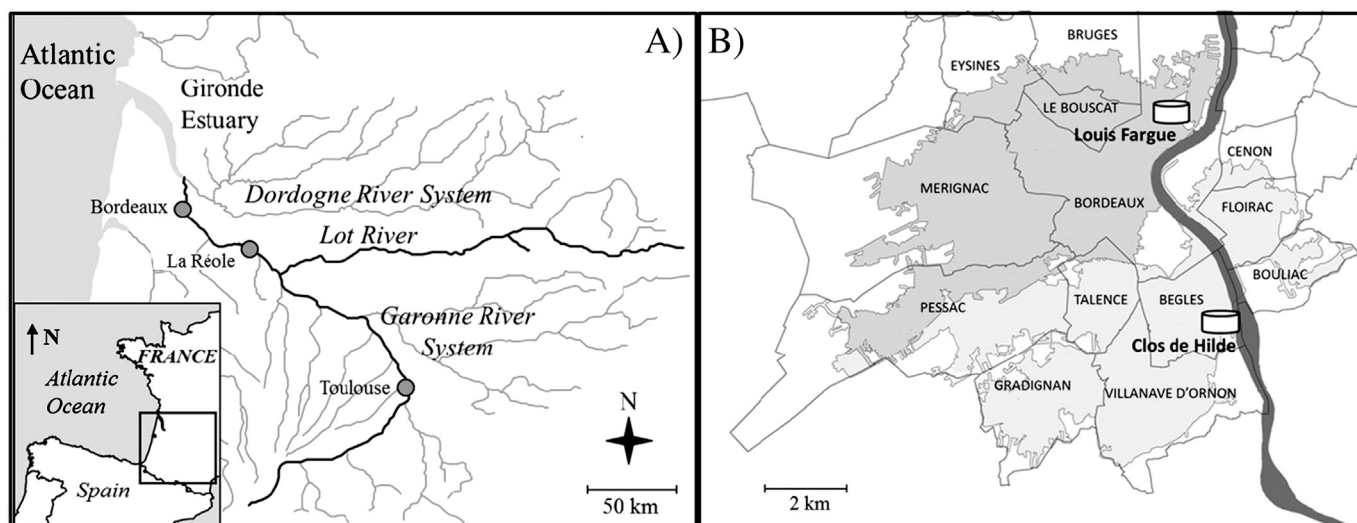


Fig. 1. Presentation of A) the Gironde Estuary, Bordeaux and La Réole observation site. B) the Garonne Branch with the Bordeaux urban agglomeration (CUB) and the main wastewater treatment plants Louis Fargue (WWTP 'LF') and Clos de Hilde (WWTP 'CH').

past and present intense agricultural activity and historical metal pollution from former mining and smelting operations have strongly affected the environmental quality of this coastal-aquatic system (Audry et al., 2006; Coynel et al., 2007a). The observed environmental impacts of metal pollution include the degradation of oyster quality for human consumption that has led to the cease of their production in the estuary (Blanc et al., 1999). Moreover, metals of anthropogenic/urban origin (e.g. Ag) also accumulate in estuarine seafood (e.g. oysters, shrimps, eels; Lanceleur et al., 2011b; unpublished data). Previous studies have shown an overall decrease in metal loads in other estuaries draining urban agglomerations due to improved water treatment facilities (Buzier et al., 2006; Rodriguez-Garcia et al., 2011). However, metal loads rejected into any estuary from urban and industrial sources by treated wastewater remain a concern because estuaries are the focal point of contaminant transport from the continent to the coastal ocean. In addition, treated wastewater is high in organic matter, influencing physical, chemical and biological processes (microbial respiration, redox oscillation, mixing, sorption processes etc.) in the receiving water bodies which control speciation, partitioning and reactivity of trace elements, especially in highly dynamic fluvial–estuarine environments (e.g. Masson et al., 2009). Assuming that dissolved contaminants are more directly bioavailable than particulate forms (e.g. Luoma, 1983), the residence times together with degradation kinetics (e.g. OM degradation, Lanoux et al., 2013) of urban wastewater particles and the related metal release may become crucial to local water quality. Such effects are predicted to be at maximum after intense rain events during low discharge, when treatment plant management shifts into the by-pass mode, resulting in massive release of untreated wastewater. Continuous urban wastewater released into a quasi-stagnant, extremely turbid water body oscillating in the bottle neck of the fluvial estuary may also contribute to hypoxia (Lanoux et al., 2013). From this scenario, one would expect an accumulation in contaminant load during such low discharge periods.

This study focuses on the inputs, fate and impact of the six metals Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn and the metalloid As, all defined as priority contaminant substances by the European Water Directive (2000/60/EC; WFD, 2000) coming from WWTPs that receive, treat, and release wastewater from the urban agglomeration of Bordeaux (CUB) into the Gironde Estuary.

The objectives of this research were (i) to quantify metal concentrations and fluxes released into the fluvial estuary from WWTPs and (ii) assess the relative contribution, fate and potential impact of urban

metal inputs into the estuarine system, especially during low discharge periods.

2. Material and methods

2.1. Study sites

2.1.1. Fluvial branch of the Gironde Estuary (Bordeaux and La Réole sites)

The Gironde Estuary is a macro-tidal and highly turbid estuary, the largest (~635 km² in area) in Western Europe, and drains the Garonne, Dordogne and Isle River watersheds (Fig. 1A). These river systems together drain a basin of ~80,000 km² with an annual average freshwater discharge into the Gironde Estuary of 800 to 1100 m³ s⁻¹ (HYDRO, 2011), where the transport of dissolved and particulate metals is controlled by complex interactions between hydrodynamics, sedimentation and geochemical gradients that create temporary retentions and exportations to the sea related to spatial and temporal changes (Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2004a; Coynel et al., 2007b). The presence of a strong maximum turbidity zone (MTZ) with high suspended particulate matter (SPM) concentrations (>1 g L⁻¹ in surface water) is due to the asymmetrical tidal wave, inducing residual currents transporting estuarine particles upstream. Depending on seasonal river flow variations, the MTZ will migrate up and down the estuary (Sottolichio and Castaing, 1999). The Bordeaux urban agglomeration (CUB; equivalent to ~1 million inhabitants) is located on the Garonne Branch, i.e. the main branch of the fluvial Gironde Estuary. During times of low freshwater discharge, the water, particles, and associated trace elements coming from the Garonne River and the CUB have long residence times in the quasi stagnant water body oscillating in the fluvial estuary. Such low discharge periods have occurred more frequently and with longer durations (up to 3 months) during the past three decades due to an overall decrease (~25%) in annual average freshwater supply to the Gironde Estuary favoring saline intrusion in the fluvial estuary upstream from Bordeaux (Etcheber et al., 2011). As such dry periods typically occur during summer and early autumn, they also go along with high water temperature, which enhances microbial degradation of labile organic matter and O₂ depletion in the estuarine water column, especially around Bordeaux and during neap tides (Lanoux et al., 2013). Two sampling sites, Bordeaux and La Réole were chosen.

The sampling site at Bordeaux is located on the fluvial estuary less than 1 km from the treated wastewater outfalls of the WWTP 'Louis

Fargue' (WWTP 'LF'; Fig. 1A and B). The sampling site at La Réole is located approximately 70 km upstream from Bordeaux at the limit of tidal dynamics in the Garonne Branch of the Gironde Estuary, where no change in flow direction or brackish water intrusion occurs (Fig. 1A). In addition, the La Réole site is the main fluvial entry to the Gironde Estuary and has been serving as a long-term monitoring site for studying fluvial metal and metalloid transport along the metal contaminated Riou Mort–Lot–Garonne River continuum. For that reason, we have used the La Réole site in this study for the comparison of daily WWTP metal fluxes with those coming from the Garonne River watershed.

2.1.2. Wastewater treatment plants

The two main WWTPs in the CUB are WWTP 'LF' and 'Clos de Hilde' (WWTP 'CH'). Together they discharge approximately 70% of treated wastewater effluents from this urban agglomeration into the Garonne River Branch (Lyonnaise des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2008; Fig. 1B). The WWTP 'LF' is the principal wastewater treatment facility and the largest of six wastewater treatment plants of the CUB. It collects and treats industrial and household wastewater from the city and the north-western area of the CUB, covering a watershed area of 38.2 km². This corresponds to a population equivalent of 287,000 and an average daily discharge of ~80,000 m³ d⁻¹ (~55,000 to ~200,000 m³ d⁻¹; Lyonnaise des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2008; Fig. 1B). During rain events, WWTP 'LF' receives and treats huge quantities (up to 25,000 m³ d⁻¹) of rainwater runoff mixed together with the incoming sewage influent (Lyonnaise des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2010).

The WWTP 'CH' is the second largest treatment plant in the CUB discharging ~60,000 m³ d⁻¹ (Lyonnaise des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2008). Incoming wastewater at WWTP 'CH' originates from the suburbs located in the southern area of the CUB (~400,000 population equivalent), covering a watershed area of 80.4 km².

Each treatment plant consists of a three-component treatment system. The first component is a grit chamber, the second is a system of decantation/flocculation processes using the coagulant agent FeCl₃, and the third is a biological treatment involving nitrification and activated sludge removal at WWTP 'LF' or a "biofor®" filter treatment at WWTP 'CH' (Lyonnaise des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2009, 2010). The suspended solids are decanted, then fermented and centrifuged. The centrifuged filtrate is reintroduced into the treatment system before the decantation stage and treated together with other influent wastewater. Once wastewater has passed the biological treatment, the treated wastewater is directly discharged into the Garonne Branch. However, during high incoming flow (rainy) periods and due to limited treatment capacity of the biological treatment basins at WWTP 'LF', excess decanted wastewater is by-passed, i.e. released directly into the Gironde Estuary without biological treatment. Furthermore, the treatment capacity of the decantation basins is also limited by volume and treatment time during periods of heavy rain such that a percentage (~9%) of partially untreated wastewater (a combination of run-off and domestic wastewater) is by-passed

after the grid chambers into the estuary. Therefore, short, locally intense rainfall events bring maximum contaminant load into the fluvial estuary when the estuarine freshwater discharge remains nearly unchanged, making low discharge periods critical for estuarine water quality.

2.2. Physico-chemical water parameters and SPM concentrations

Water temperature, conductivity, and pH were measured with a WTW® Multiline probe (Table 1). The SPM concentrations for all sites were obtained by filtering a measured volume through dry pre-weighed 0.7 µm filters (Whatman GF/F). Then oven dried filters (45 °C for 48 h) were re-weighed and the SPM concentration was calculated by the subtraction of filter weights. No measurable difference occurred between 0.45 µm and 0.7 µm filters (Schäfer and Blanc, 2002).

2.3. Sampling and sample treatment

All bottles, sampler tubes and other equipment in contact with samples were pre-cleaned in 10% nitric acid (14 M, J.T. Baker) for a minimum of three days, rinsed repeatedly with ultrapure (Milli-Q®) water and dried under a laminar flow hood.

2.3.1. Observation sites in the fluvial estuary: the La Réole and Bordeaux sites

At the La Réole long-term monitoring site (Fig. 1A and B), daily water samples were collected manually in 500 mL polypropylene bottles for the determination of SPM concentrations (Table 1; Fig. 2G). In addition, water samples were manually sampled using clean techniques every 24 days ~1 m from the riverbank and at 0.2–0.5 m depth, filtered on-site (0.2 µm polycarbonate, Nucleopore®), acidified (HNO₃; 2%, J.T. Baker Ultrex) and stored at 4 °C in 30 mL polypropylene bottles (e.g. Lanceleur et al., 2011a). At the Bordeaux site, water samples were collected twice monthly between March and October 2008 in the Gironde Fluvial Estuary outside the city of Bordeaux within less than 1 km of the treated wastewater outfalls of WWTP 'LF' as described in Lanceleur et al. (2012). Surface waters were collected in acid-washed Niskin bottles, rinsed with estuarine water from the site, at approximately 1 m depth, filtered on-site (0.2 µm polycarbonate, Nucleopore®), acidified (HNO₃; 2%, J.T. Baker Ultrex) and then stored at 4 °C in 30 mL polypropylene bottles.

At both the La Réole (once every 24 days) and Bordeaux sites (twice monthly), SPM for the determination of particulate metal concentrations was collected by pumping 40 to 200 L of water through polyethylene tubing with a peristaltic pump (50 L min⁻¹) in a previously site-rinsed container and immediately centrifuged (Westfalia Separator; 12,000 ×g; 60 L h⁻¹). All centrifuged SPM samples were dried at 50 °C, then powdered and homogenized with an agate mortar and stored in double sealed polypropylene bags pending analysis.

2.3.2. Wastewater treatment plants Louis Fargue and Clos de Hilde

We sampled the two treatment plants for three consecutive weeks from July to August 2011. We collected daily 24 h flow-weighted samples from six (three per WWTP) permanently installed refrigerated

Table 1

Environmental parameters of the influent and effluent of the wastewater treatment facilities, and the La Réole and Bordeaux sampling sites.

Site	Water type	Discharge m ³ d ⁻¹	Water temperature °C	pH	Specific conductance µS cm ⁻¹	POC mM	DOC mM	SPM mg L ⁻¹
WWTP 'LF'	Influent	80,800	17 ± 1	7.8 ± 0.10	865 ± 19	9.8 ± 3.5 ^a	2.2 ± 1.1 ^a	219 ± 91
	Effluent	81,300	15 ± 0.5	7.3 ± 0.48	832 ± 100	1.5 ± 0.8 ^a	1.3 ± 0.3 ^a	37 ± 20
WWTP 'CH'	Influent	61,000	18 ± 1	8.2 ± 0.14	930 ± 54	10 ± 4.5 ^a	3.3 ± 1.4 ^a	44 ± 75
	Effluent	61,400	13 ± 4.4	7.6 ± 0.16	1010 ± 180	0.5 ± 0.4 ^a	1.0 ± 0.2 ^a	8 ± 6.2
La Réole Bordeaux	Fluvial	350 ± 390	16 ± 7.2	8.2 ± 0.2	250 ± 35	–	–	33 ± 108
	Fluvial	–	–	–	–	0.7 ± 0.9	–	920 ± 1480

^a Data provided by A. Lanoux and H. Etcheber.

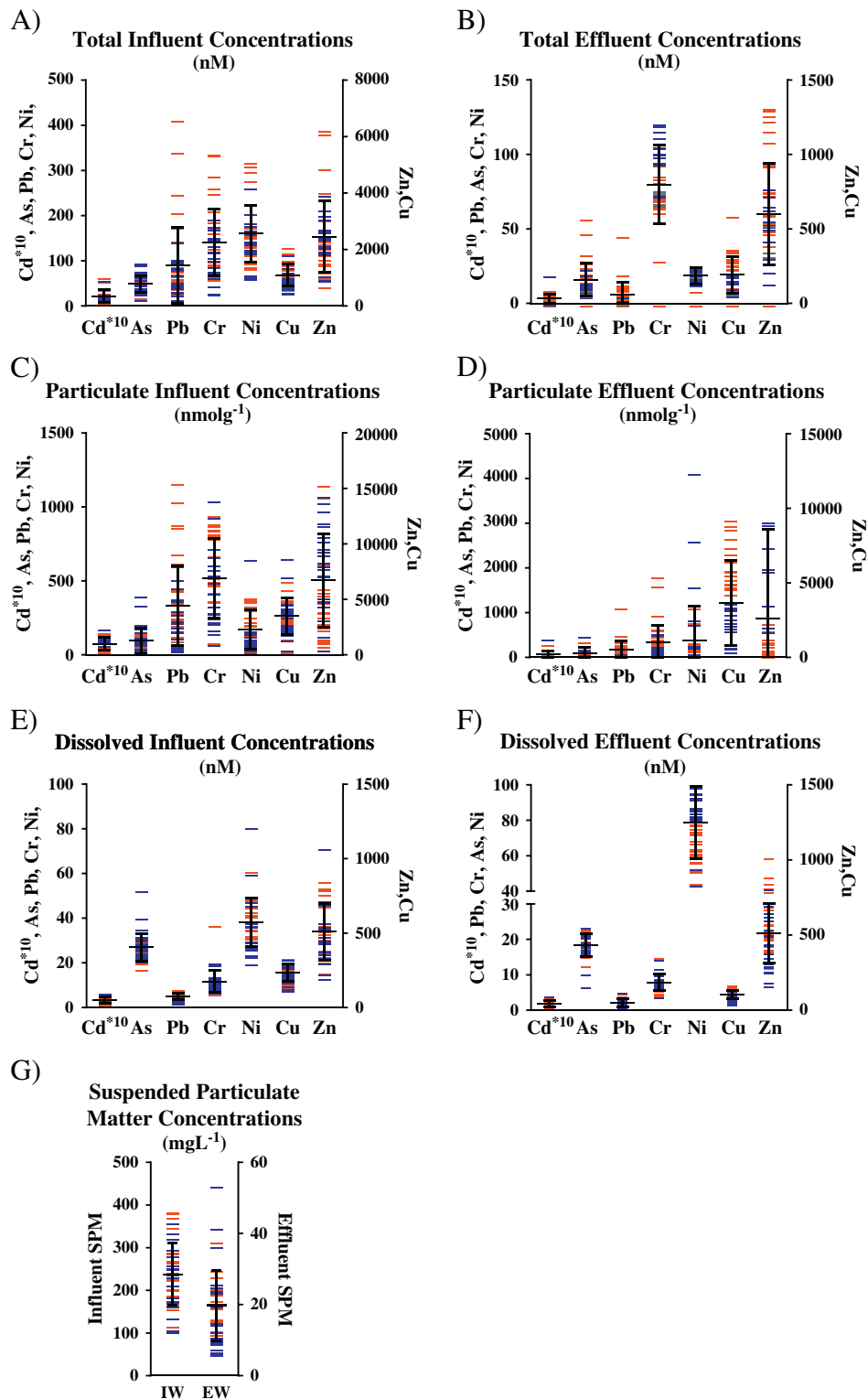


Fig. 2. Metal and metalloid As concentrations from the two main wastewater treatment plants (Louis Fargue denoted by red color and Clos de Hilde denoted by blue color) during 3-week summer sampling with average values (black bars) and standard deviation (capped error bars); (A) influent total concentration (nM), (B) effluent total concentration (nM), (C) influent particulate concentration (nmol g⁻¹), (D) effluent particulate concentration (nmol g⁻¹), (E) influent dissolved concentration (nM), (F) effluent dissolved concentration (nM), and (G) influent and effluent suspended particulate matter concentrations (mg L⁻¹). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

automatic samplers at the point of influent ('LF and 'CH'), decanted ('LF and 'CH'), biologically treated water ('LF'), and effluent water collection ('CH'). At WWTP 'LF', an additional refrigerated automatic sampler (Bühler 2000™) was installed after the grid chambers to capture raw

water by-passed directly to the Garonne Branch before the decantation process during rain events.

Field blanks consisted of 1 L polypropylene bottles filled with Milli-Q® water stored and processed under the same conditions as the

samples. All (daily) samples were transported immediately to the laboratory, where a 50 mL sub-sample was filtered using a syringe filter (0.2 µm polycarbonate, Nucleopore®) to recuperate the dissolved (i.e. filter-passing) fraction. The filtrate along with an additional 100 mL of unfiltered sample, representative of the total metal fraction, was then acidified with ultrapure HNO₃ (2%, J.T. Baker Ultrex) and stored in the dark at 4 °C in polypropylene bottles.

2.4. Analytical methods

Dissolved organic carbon (DOC) was analyzed with an automated analyzer (TOC-5000a, Shimadzu®; ISO 10694) and particulate organic carbon (POC) with a Leco® CS-125 after carbonate elimination as described elsewhere (e.g. Schäfer et al., 2002; Table 1).

Dried, ground, and homogenized SPM sample aliquots (~30 mg) underwent an acid digestion protocol (HNO₃-HCl-HF) as described by Schäfer and Blanc (2002). All wastewater samples were evaporated to dryness at 70 °C in acid-cleaned PP-tubes (DigiTUBES®, SCP SCIENCE). The dry residue was digested using 1.5 mL HCl (12 M, Merck Suprapur), 0.5 mL HNO₃ (14 M, Merck Suprapur), 2 mL HF (26 M Merck Suprapur), and 5 mL H₂O₂ (13 M, CHEM-LAB Ultrapure) at 110 °C for 2 h in a temperature controlled digestion system (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE) using a modified protocol adapted from Schäfer and Blanc (2002). The digested material was once more evaporated to dryness then brought to 14 mL using 150 µL HNO₃ (14 M, Merck Suprapur) and Milli-Q® water. All samples were then stored in the dark at 4 °C pending analysis.

All samples (water and SPM for the La Réole and Bordeaux sites and total and dissolved for wastewater samples) were measured using ICP-MS (Thermo-Fisher X-series II) with external calibration. The analytical performance of the digestion procedure was assessed using the international certified reference materials for effluent wastewater (BCR-713), river water (SLRS-4, SLRS-5, and NIST-1460), and river sediment (NCS-DC-70311, NCS-DC-70317). The results obtained from all reference materials were generally within the certified limits for As, Cd, Cu, Cr, Ni, Cu, and Zn with precision (rsd) of better than 10%. Particulate concentrations in wastewater were calculated as the difference between total (unfiltered) and dissolved (filter-passing) concentrations (Buzier et al., 2006).

2.5. Trace element flux estimates

Trace element and SPM concentrations were used to calculate and compare daily fluxes from the WWTPs and in the Garonne River at the La Réole site. Daily discharge data for the Garonne at the La Réole site was provided by Banque-Hydro (HYDRO, 2011) and by Lyonnaise des Eaux for the WWTPs. Based on the assumption that river trace element concentrations and discharge do not vary much during 24 h under low discharge conditions, daily particulate and dissolved fluxes at the La Réole site and WWTPs were estimated from daily discharges, daily SPM concentrations, and punctual (La Réole site) or daily (WWTPs) measured dissolved element concentrations using the commonly applied equation (e.g. Meybeck and Ragu, 1996; Schäfer et al., 2002) as follows:

$$F = C_i \times Q_i$$

where C_i is the concentration associated with individual samples, Q_i is the daily average discharge at the time of sampling, and F is the calculated trace element flux. Concentrations used for estimates of daily metal fluxes released from the WWTPs during the three week sampling campaign were flow-weighted daily means, i.e. were obtained from subsamples of 50 to 100 mL every 400 to 700 m³, corresponding to similar automatically measured wastewater volume, reducing thereby uncertainties due to variable wastewater processing rates. In addition, weighted average daily trace element fluxes from the WWTPs were estimated for the entire year of 2011 using

equations commonly applied to rivers (e.g. Walling and Webb, 1985; Schäfer et al., 2002):

$$F_a = K \frac{\sum_{i=1}^n C_i Q_i}{\sum_{i=1}^n Q_i} Q'$$

$$F_d = \frac{F_{d=1}}{365}$$

where K is the conversion factor to account for the period of load estimation and measurement units (3600 s h⁻¹ × 24 h), C_i is the concentration associated with individual samples, Q_i is the daily discharge at the time of sampling, n is the number of chemical analyses, Q' represents the annual average water discharge, and F_a is the estimated annual flux which was then divided by 365 days to obtain F_d , the weighted average daily WWTP fluxes for the year of 2011. For the purpose of site comparison with other systems, the fluxes were also normalized by population (~1,000,000 for the CUB, ~4,300,000 for the La Réole site, and ~700,000 for the two WWTPs; INSEE, 2006).

3. Results

3.1. Dissolved and particulate metal concentrations in estuarine and urban wastewater

Mean, minimum, and maximum concentrations of particulate and dissolved metal concentrations of Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Zn, and metalloid As measured at the Bordeaux and La Réole site are given in Table 2. Average levels of particulate metal concentrations measured at the La Réole and Bordeaux sites in order of abundance were Zn > Cr > Cu > Ni > Pb > As > Cd and Zn > Cr > Ni > Cu > As > Pb > Cd, respectively (Table 2). Average dissolved metal concentrations at the La Réole site in order of abundance were Zn > As > Cu > Ni > Cr > Pb > Cd. Average dissolved concentrations in order of abundance were approximately the same at the Bordeaux site, however dissolved Cr concentrations were almost twice that of dissolved Ni concentrations. On a year average basis, trace metal concentrations measured at Bordeaux in 2008 were similar to interannual average values (Masson et al., 2006, 2011; Petit et al., 2013; unpublished data). Therefore, comparable trace metal concentrations at the Bordeaux site are expected to be similar in 2011 and in 2008.

Total, particulate and dissolved WWTP influent and effluent concentrations for Zn, Cu, Pb, Cr, Ni, As, and Cd are displayed in Fig. 2A through F. Average total influent metal concentrations in order of abundance were Zn (2450 nM) > Cu (1090 nM) > Ni (160 nM) > Cr (140 nM) > Pb (90 nM) > As (50 nM) > Cd (2.2 nM; Fig. 2A). Total average metal

Table 2

Mean, minimum, maximum concentration values at La Réole (2011) and Bordeaux (2008) sampling sites for particulate (nmol g⁻¹) and dissolved (nM) Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn (P = particulate and D = dissolved).

Metal	La Réole			Bordeaux		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Cd _P (nmol g ⁻¹)	44.5	13.3	106.8	7.1	3.6	17.8
Cd _D (nM)	0.18	0.06	0.71	0.18	0.06	0.27
As _P (nmol g ⁻¹)	400	267	801	307	240	360
As _D (nM)	26.7	13.3	40.0	30.7	17.4	70.4
Pb _P (nmol g ⁻¹)	482.6	193.1	820.5	289.6	241	434.4
Pb _D (nM)	0.48	0.24	0.97	0.29	0.10	0.48
Cr _P (nmol g ⁻¹)	1923	1346	3655	1923	1616	2308
Cr _D (nM)	3.8	15.4	11.5	13.5	5.8	38.5
Ni _P (nmol g ⁻¹)	1193	682	2726	937	682	1959
Ni _D (nM)	10.2	5.1	1.7	6.8	3.4	11.9
Cu _P (nmol g ⁻¹)	1260	630	2126	630	472	945
Cu _D (nM)	11.0	9.4	14.2	20.5	11.0	34.6
Zn _P (nmol g ⁻¹)	11927	3058	12232	4587	3211	7645
Zn _D (nM)	30.6	21.4	87.2	38.2	9.2	117.7

concentrations in effluent released into the fluvial estuary were Zn (630 nM) > Cu (200 nM) > Ni (85 nM) > Cr (16 nM) > As (19 nM) > Pb (6.5 nM) > Cd (0.32 nM; Fig. 2B). Total concentrations strongly decreased for all metals after treatment by factors up to 14 (Pb; Fig. 2A and B). Average levels of particulate influent metal concentrations in order of abundance were Zn (6860 nmol g⁻¹) > Cu (3560 nmol g⁻¹) > Cr (530 nmol g⁻¹) > Pb (340 nmol g⁻¹) > Ni (176 nmol g⁻¹) > As (97 nmol g⁻¹) > Cd (7.6 nmol g⁻¹; Fig. 2C). Average particulate metal concentrations of effluent released into the estuary were Cu (3800 nmol g⁻¹) > Zn (2600 nmol g⁻¹) > Ni (369 nmol g⁻¹) > Cr (338 nmol g⁻¹) > Pb (166 nmol g⁻¹) > As (93 nmol g⁻¹) > Cd (6.7 nmol g⁻¹) and decreased by a factor of 2 for Zn, Cu, and Cr, remained unchanged for As and Cd, and increased 2-fold for Ni compared to average particulate influent concentrations (Fig. 2C and D). Average dissolved influent and effluent metal concentrations in order of abundance were Zn (508 nM and 632 nM) > Cu (235 nM and 85 nM) > Ni (38 nM and 81 nM) > As (27 nM and 19 nM) > Cr (12 nM and 7.8 nM) > Pb (5.0 nM and 2.3 nM) > Cd (0.32 nM and 0.12 nM; Fig. 2E and F). Accordingly, dissolved effluent concentrations were lower than the influent concentrations for Cu, Pb, Cr, As, and Cd, but were approximately the same compared to influent for Zn and up to 2 times higher for Ni (Fig. 2E and F). Average concentrations in WWTP decanted water in order of abundance were as follows (not shown): total Zn (725 ± 375 nM) > Cu (340 ± 120 nM) > Ni (100 ± 25 nM) > As (25 ± 4.8 nM) > Cr (20 ± 12 nM) > Pb (8.7 ± 8.9 nM) > Cd (0.43 ± 0.33 nM); particulate Cu (3660 ± 2880 nmol g⁻¹) > Zn (942 ± 1170 nmol g⁻¹) > Cr (310 ± 425 nmol g⁻¹) > Pb (145 ± 280 nmol g⁻¹) = Ni (145 ± 310 nmol g⁻¹) > As (75 ± 120 nmol g⁻¹) > Cd (5.2 ± 9.7 nmol g⁻¹) and dissolved Zn (565 ± 230 nM) > Cu (145 ± 45 nM) > Ni (90 ± 25 nM) > As (20 ± 3.1 nM) > Cr (7.9 ± 2.3 nM) > Pb (2.3 ± 1.3 nM) > Cd (0.21 ± 0.11 nM). Decanted water concentrations of trace elements were used to calculate removal rates and final effluent concentrations when excess water was by-passed directly into the fluvial estuary and are not shown in the figures or tables.

4. Discussion

4.1. Comparison of wastewater influents and impacts of wastewater effluents on particulate and dissolved metal concentrations in the fluvial estuary

Influent concentrations at WWTP 'LF' and 'CH' were representative of typical urban wastewater treatment plants when compared to nine wastewater treatment plants in the Paris area with averaged total concentrations of 1180, 63, 187, 365, and 5.3 nM for Cu, Pb, Ni, Cr, and Cd, respectively (e.g. Buzier et al., 2006). Average influent concentrations from a WWTP in UK of ~2295 nM for Zn and 3.3 nM for Cd (Rule et al., 2006) also show consistent with concentrations measured in Bordeaux (presented above). According to Sörme and Lagerkvist, 2002, approximately 59% of Cu at the WWTP investigated in Stockholm was emissions from household goods, mostly corroding drinking water pipes, resulting in average Cu concentrations in Cu of approximately 1070 nM. These influent Cu concentrations are consistent with all treatment plants presented.

During the dry season, WWTP effluent (2–3 m³ s⁻¹) may represent up to 5% of the freshwater discharge in the Garonne Branch and, thus, dissolved and particulate metals in wastewater can locally modify metal concentrations in the low salinity zone of the estuary. When comparing water quality of the effluent from the WWTPs with that of the Garonne River at the La Réole site, average particulate metal concentrations were 3-fold (Pb and Ni) to 5-fold (Cd and Zn) lower in urban wastewater SPM (Fig. 2D, G and Table 2). In contrast, average particulate Cu concentrations in wastewater effluent were clearly (up to 3 fold) higher than the respective values at the La Réole site (Fig. 2D and Table 2). Accordingly, wastewater particles released into the Garonne Branch are not expected to adversely affect water quality for Pb, Ni, Cd

and Zn, whereas the fluxes and fate of particulate Cu deserve more attention (see discussion below). In contrast to the particulate phase, dissolved concentrations in urban wastewater released into the estuary were much higher for most of the studied elements than at the La Réole site (Fig. 2F and Table 2). In fact, the observed maximum dissolved wastewater concentrations exceeded those entering (minimum at time of low discharge) the fluvial estuary via the Garonne River at the La Réole site by factors of up to 7 (Cd), 18 (Cu), 22 (Pb), 23 (Ni), and 50 for Zn. Only dissolved As concentrations were consistently lower in wastewater (Fig. 2F and Table 2).

Given an overall dilution factor ~30 for wastewater released into the Garonne Branch during low discharge, these results clearly suggest that urban dissolved metal inputs have a high potential of degrading water quality in the fluvial estuary, especially during summer rainstorms. For example, mixing (dilution factor ~30) of treated wastewater having dissolved Cu concentrations up to 18-fold higher than those in estuarine water (minimum concentrations measured at La Réole; Table 2) would increase the dissolved Cu concentration in the fluvial estuary by over 50%. Although, part of the dissolved metals released into the Garonne Branch are expected to equilibrate with the particles in the MTZ (see Section 4.2), the expected increase in dissolved Cu concentrations caused by urban wastewater is consistent with observations along the turbidity gradient in the fluvial estuary under low discharge (Petit et al., 2013). Depending on dilution, urban dissolved metal inputs can either be masked (high dilution factor) or even induce a measurable effect on sediment quality (e.g. Vystavna et al., 2012).

In addition, wastewater discharged from the treatment plants has generally high POC and DOC concentrations (up to 2 times higher than in receiving waters; Table 1). Because particulate and dissolved organic matter (OM) have strong binding capacities for many metals, such as Cu, Mo, V and U (e.g. Lemaire et al., 2006), they are therefore important metal carrier phases. Urban OM released into the fluvial estuary is relatively labile and undergoes rapid degradation (Lanoux et al., 2013), probably resulting in profound changes of metal-binding capacities. Assuming similar mechanisms and rapid kinetics of metal release for both urban OM and phytoplankton entering the MTZ in the fluvial Gironde Estuary during low discharge, we expect efficient transfer from the particulate organic matter to the dissolved phase. In fact, intense OM degradation in the Gironde MTZ adds various metals such as Cu, Cd, Mo and V from particles to the dissolved phase in both surface water and the highly turbid Soft Mud layer at the bottom of the water column (Audry et al., 2006; Masson et al., 2011; Petit et al., 2013).

4.2. Trace element partitioning in the river, the fluvial estuary and in wastewater effluents

The particle–water distribution coefficient (K_d) together with SPM concentrations along the fluvial estuary provide information on the role of particles in trace element behavior during mixing of urban wastewater with highly turbid estuarine water. The K_d (units = 1 L kg⁻¹) is calculated by dividing particulate (filter-retained) concentrations by dissolved (filter-passing) concentrations of the same element.

$$K_d = \text{metal in particulate matter (nmol g}^{-1}\text{)} \div \text{metal in filtrate (nM)}.$$

During low freshwater discharge, the fluvial Gironde Estuary between the La Réole site and Bordeaux hosts a strong turbidity gradient with SPM concentrations ranging from 1.4 mg L⁻¹ to 5200 mg L⁻¹ (Fig. 3; left column). Along the turbidity gradient, the relative contribution of the particulate fraction to total element load in the Garonne Branch generally increases from the La Réole site to the Bordeaux site. Some elements such as Pb and As show relatively constant log K_d values throughout the whole turbidity gradient, suggesting that partitioning of these elements does not undergo major modifications due to estuarine

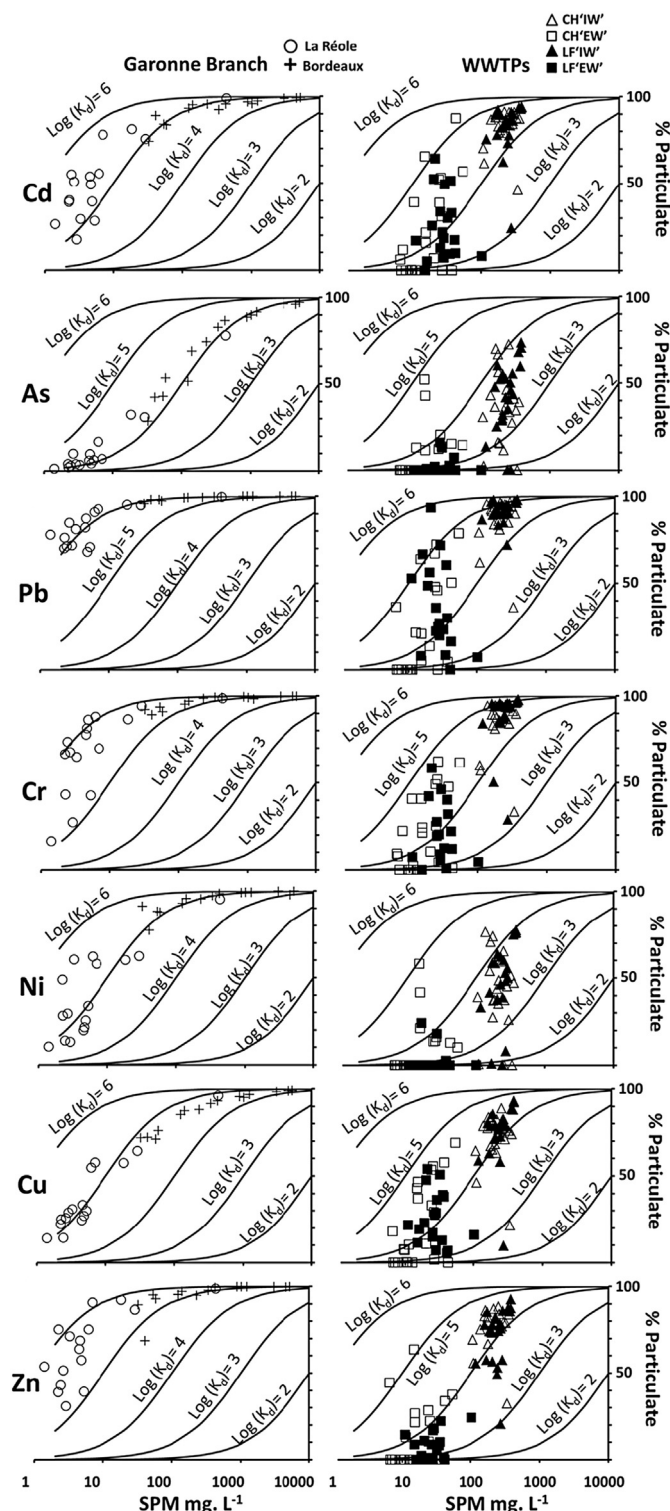


Fig. 3. Percent of metal and metalloid bound to particles as a function of SPM concentrations (mg L^{-1}) for different $\text{Log}(K_d)$ values varying from 2 to 6 for the two treatment plants Louis Fargue (black symbols) and Clos de Hilde (white symbols) influent (IW) denoted by triangles, and effluent water (EW) denoted by squares, as well as Bordeaux (plus symbols) and La Réole (circle symbols) sampling sites.

processes and/or urban inputs in the Garonne Branch (Table 3). However, previous work has shown that different and variable $\text{As} K_d$ values at the two major entries of the fluvial Gironde Estuary, i.e. the Garonne and Dordogne Branches, converge to one stable K_d value, controlled by the sheer mass of particles in the MTZ (Masson et al., 2009). Occasional measurements of AsIII/AsV speciation (Hydride Generation

Table 3

Mean and standard deviation of K_d values at La Réole (2011) and Bordeaux (2008) sampling sites for Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn.

Metal	La Réole		Bordeaux	
	Mean	Standard deviation	Mean	Standard deviation
Cd	2.4×10^5	$\pm 1.3 \times 10^3$	6.8×10^4	$\pm 5.0 \times 10^4$
As	1.6×10^4	$\pm 9.5 \times 10^3$	1.1×10^4	$\pm 4.2 \times 10^3$
Pb	1.2×10^6	$\pm 5.8 \times 10^5$	1.2×10^6	$\pm 6.4 \times 10^5$
Ni	1.4×10^5	$\pm 1.3 \times 10^4$	1.3×10^5	$\pm 6.1 \times 10^4$
Cr	6.1×10^5	$\pm 4.0 \times 10^5$	1.9×10^5	$\pm 1.0 \times 10^5$
Cu	1.1×10^5	$\pm 4.5 \times 10^4$	3.7×10^4	$\pm 1.8 \times 10^4$
Zn	5.2×10^5	$\pm 3.9 \times 10^5$	1.9×10^5	$\pm 1.2 \times 10^5$

Flow Injection AAS) in the water column of the fluvial Gironde Estuary in 2008 (Bordeaux site, unpublished data) during low discharge with pronounced hypoxia (O_2 saturation $\sim 30\%$) in the water column (as is typical with increasing frequency in late summer) have shown that AsV (arsenate) is still the prevailing form ($>75\%$) in the water column. However, As reduction to its trivalent form may occur in areas where well-developed Soft Mud layers induce early diagenetic redox reaction sequences including Mn reduction at the bottom of the water column (Sohrin et al., 1997; Robert et al., 2004; Audry et al., 2006). Cadmium, Cu and Zn K_d levels tend towards values of up to one order of magnitude lower in the MTZ (Table 3). This is, at least partly, due to their estuarine reactivity, i.e. their transfer from the particulate to the dissolved phase occurring in different estuarine geochemical gradients. In fact, particle transport in the Garonne Branch during low discharge goes along with intense Cu dissolution due to organic matter degradation in the turbidity gradient (Masson et al., 2011; Petit et al., 2013). Cadmium and, to a lesser extent, Zn show additive behavior in the estuarine salinity gradient due to chloro-complexation, resulting in Cd- and Zn-depleted particles in the MTZ (Boyle et al., 1974; Dabrin et al., 2009). Desorption experiments simulating particle behavior in estuarine salinity gradients have shown that in the Gironde Estuary residual particulate Cd concentrations in the MTZ represent only 10–20% of the initial freshwater levels (unpublished data). Thus, long particle residence times in the Gironde Estuary and upstream migration of the Cd- and Zn-depleted MTZ during low discharge explain the observed shift in $\text{log} K_d$. Given that urban wastewater dissolved trace element concentrations are high enough to theoretically increase the respective concentrations in the Garonne Branch (see above), and $\text{log} K_d$ in treated wastewater is

Table 4

Minimum flux values in mol d^{-1} (kg d^{-1}) at the La Réole site in 2011 for total Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn (T = total, p = particulate and D = dissolved) with respective river discharge ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) and the month measured.

Metal	Min (mol d^{-1})	Month	Discharge
Cd _T	1.2	July	88
Cd _p	0.06	August	106
Cd _D	0.6	July	88
As _T	210	July	82
As _p	0.7	August	106
As _D	200	July	81
Pb _T	4.1	August	106
Pb _p	0.9	August	106
Pb _D	2.3	August	78
Cr _T	31	July	95
Cr _p	5.2	October	96
Cr _D	10	July	96
Ni _T	48	October	96
Ni _p	3.1	October	96
Ni _D	37	August	78
Cu _T	93	August	96
Cu _p	3.1	August	106
Cu _D	83	August	94
Zn _T	159	October	96
Zn _p	31	August	106
Zn _D	101	October	94

Data for discharge provided by Banque-HYDRO (HYDRO, 2011).

generally lower by 0.5–2 units (Fig. 3; right column), wastewater inputs could possibly induce the installation of new equilibria, although there is no visible effect on K_d at the log scale. The sheer mass of SPM in the MTZ, with a potentially very high number of sorption sites, probably limits and/or masks potential changes in K_d . In contrast to the other metals studied, Cr K_d was clearly lower at Bordeaux ($1.9 \times 10^5 \pm 1.0 \times 10^5$, Table 3) than at the La Réole site ($6.1 \times 10^5 \pm 4.0 \times 10^5$; Table 3), despite much higher SPM concentrations. This was attributed to either a high colloidal (filter-passing) Cr fraction or an efficient Cr binding to dissolved organic complexants which may outcompete the expected high particle affinity of dissolved Cr(III), the presumed dominant Cr oxidation state (Whalley et al., 1999; Comber and Gardner, 2003).

There is a clear general shift in log K_d between untreated and treated wastewater for most of the elements studied (Fig. 3; right column). No clear differences in K_d occurred between dry and wet conditions (data not shown). Lower log K_d values in treated wastewater were attributed to the treatment process which (i) predominantly eliminates particulate metals by decantation (see below discussion on purification efficiency), (ii) favors chloro-complexation of metals due to addition of FeCl_3 as a coagulant and (iii) breaks down non-decanted particulate organic matter during the biological treatment, causing high filter-passing colloidal loads. Low log K_d values are typical in samples with high quantities of colloidal Cd, Cr, Pb, Cu, Zn, Ni, and As (Shafer et al., 2004). Given that K_d values in untreated wastewater are closer to those in the Garonne Branch compared to treated wastewater K_d , the release of untreated wastewater (by-pass in the WWTP) is expected to have less influence on trace element partitioning in the fluvial estuary, despite higher dissolved and particulate element loads.

Metal behavior in wastewater discharge is not conservative during mixing with receiving waters (Bubb and Lester, 1991, 1996; Buzier et al., 2006). The log K_d values of samples collected at the Bordeaux site near the WWTP outfall, i.e. in the zone where wastewater mixes with estuarine water, were stable with a wide range of SPM concentrations (from 30 to 5200 mg L^{-1} , Fig. 3; left column). This suggests that the relatively high dissolved metal loads in wastewater inputs rapidly equilibrate with available MTZ particles (Sholkovitz, 1976), implying efficient adsorption on high complexation site particles. Such equilibration processes may contribute to changes in the order of element abundance in both the dissolved and the particulate phase, as observed between the La Réole and the Bordeaux sites (see above, Table 3). The relatively stable K_d in the MTZ is in contrast with the La Réole site (Table 3), where dissolved and particulate trace element concentrations and the resulting partitioning are variable and controlled by different parameters, including variations in (i) sources, (ii) the relatively low SPM concentration and (iii) particle nature, especially during low freshwater discharge, i.e. during algal blooms (e.g. Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2004b; Petit et al., 2013).

Accordingly, during low discharge the large pool of SPM in the fluvial estuary around Bordeaux acts as a main control on trace element partitioning, efficiently buffering K_d and limiting the potential increase in dissolved trace elements, i.e. their potentially most bioavailable form. During intermediate to high freshwater discharge, the MTZ, hosting these sorption processes, will move downstream in the estuary, but increased dilution and reduced residence times of wastewater in the fluvial estuary will also reduce the potential impact on water quality in the Garonne Branch.

The major part of urban metals released into the Gironde Estuary will probably reach the coastal zone, including vulnerable areas of high economic importance, such as the Marennes Oléron Bay (intense oyster farming; Strady et al., 2011a). However, particulate contaminants from wastewater outfalls can accumulate in sediments increasing long-term budgets before being diagenetically or mechanically remobilized during future floods, dredging efforts and/or the erosion of surface sediments long after inputs are reduced or stopped altogether

(Rivera-Duarte and Flegal, 1997; Foxgrover et al., 2004). On their way from the continent to the ocean, labile metals including those adsorbed from wastewater can be released from particles due to changes in physicochemical conditions (e.g. pH, salinity, SPM concentration, redox conditions), especially in estuaries and other coastal areas, where metal mobilization is a major process (e.g. Audry et al., 2007). The resulting estuarine dissolved trace element levels may strongly contaminate aquatic organisms, including ecologically and economically relevant species, e.g. oysters. In fact, extremely high Cd accumulation in wild-growing oysters from different sites in the Gironde Estuary clearly reflect the respective dissolved metal concentrations in the salinity gradient (Lanceleur et al., 2011b). Phytoplankton also plays a key role in water column distribution of trace metals such as transporting downward and re-mineralization at depth (Martin et al., 1983; Tappin et al., 2010), as well as in trace element transport along the coast (e.g. Strady et al., 2011b). In addition, the direct assimilation by zooplankton and/or detritus-feeders of particulate organic matter discharged from WWTPs, as shown by Bănară et al. (2014), could be a direct pathway of particulate pollutants to the food web. In the case of the Gironde Estuary, permanent high turbidity covering most of the upper and central estuary restricts primary production to the fluvial and marine poles of the estuary (Irigoien and Castel, 1997; Castelle et al., 2009), which in turn shows a relatively simple food web (Sautour et al., 2006). Labile particulate organic matter from WWTP is not likely to reach the coastal ocean due to (i) long particle residence times in the upper/central estuary and (ii) very intense OM degradation in the MTZ (Etcheber et al., 2007; Lanoux et al., 2013), associated metals being released to the water column and redistributed between dissolved and particulate carrier phases. After transport to the estuary mouth additional transformation, including metal transfer to phytoplankton and, subsequently, to bivalves is likely (Strady et al., 2011b). However, at the present time, little is known about the direct or indirect bioaccumulation of trace metals from phytoplankton and/or zooplankton in contaminated coastal systems and future studies in this area are needed.

4.3. Trace metal and As removal during wastewater treatment

The removal efficiency of persistent contaminants such as metals depends on treatment facilities, procedures and WWTP management and is crucial to water quality in the receiving water bodies. In the two major WWTPs of the CUB, total metal removal efficiencies were >60% for Zn, Cu, Cd, Cr, and Pb. Lowest total removal was observed in both treatment plants for As and Ni (Fig. 4A). Removal of particulate metals in both WWTPs was >80% for most metals, consistent with previous studies in other urban systems (Olivier and Cosgrove, 1974; Buzier et al., 2006). The data suggest that the suspended solid removal through the decantation process was the most efficient step accounting for particulate metal removal rates of ~81% (Cu) to 94% (Pb and Cr) in WWTP 'LF' and for ~76% (As) to 98% (Zn) in WWTP 'CH' (Fig. 4B).

Metal removal from the dissolved fraction reached maximum values of around 60% (Pb) in both WWTPs with similar values for Pb, Cu and Cd for WWTP 'CH' (Fig. 4C). In contrast, the addition of dissolved Zn (~8%) and Ni (~39% to 169%) occurred in both treatment plants, suggesting metal release from particles during the biological treatment and/or decantation process related to the formation of anionic complexes after the addition of FeCl_3 as a coagulation agent. Similar addition of dissolved Zn and Ni has previously been reported for other WWTP (Nielsen and Hrudley, 1983; Shafer et al., 1998; Buzier et al., 2006, 2011). No clear difference in overall total, particulate or dissolved fraction metal removal between wet and dry periods occurred in either treatment plant. This suggests that despite greater throughput of metals in the WWTP 'LF', the overall metal removal rate did not change much when part of the decanted wastewater was directly released into the Garonne Branch without passing through the biological treatment. Accordingly, the biological treatment step does not modify total metal throughput,

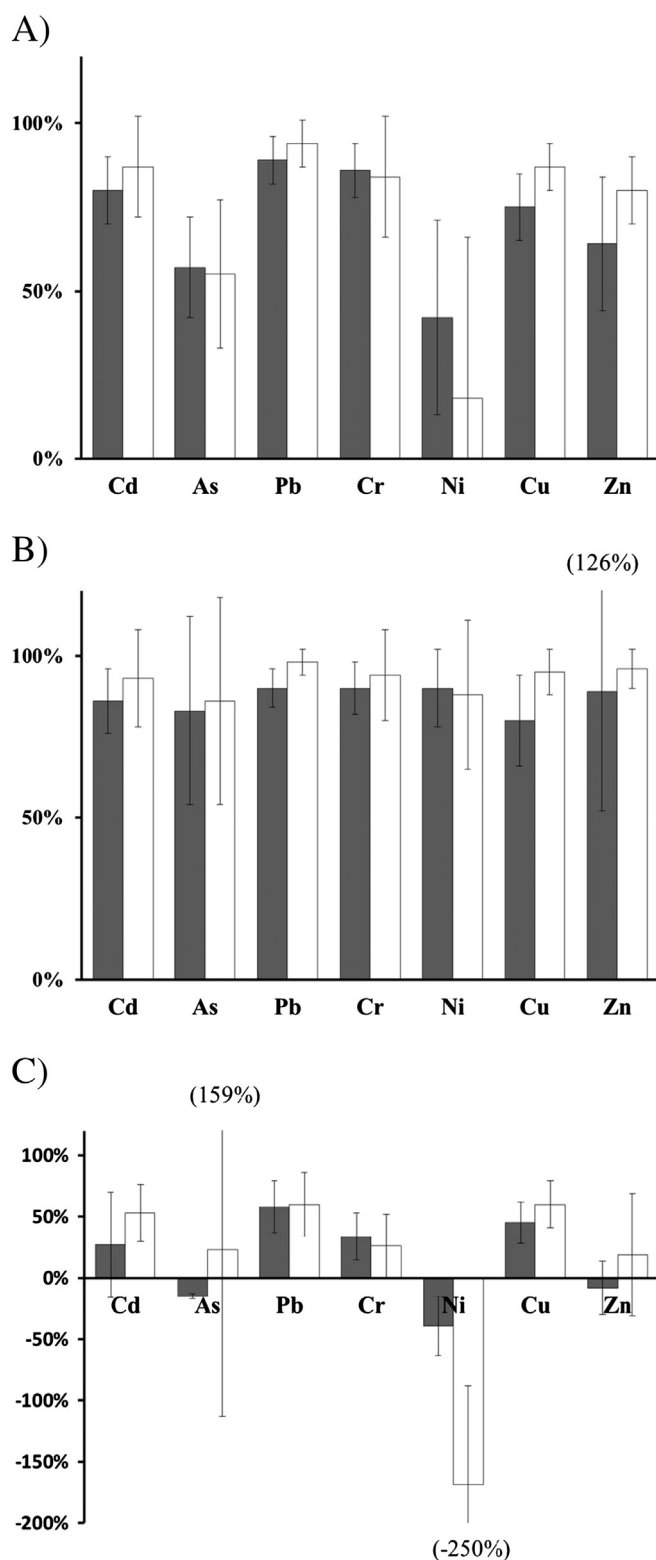


Fig. 4. Percent metal and metalloid removal of Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn from the (A) total, (B) particulate, and (C) dissolved fractions of two major wastewater treatment plants Louis Fargue (WWTP 'LF') and Clos de Hilde (WWTP 'CH') discharging into the Gironde Estuary.

i.e. does not contribute to metal removal rate. Therefore, further improvement of treatment efficiency needs either more efficient flocculation/decantation procedures or additional applications of devices capable of retaining dissolved metals (ion exchange resins, adsorbents etc.).

4.4. Trace metal and As fluxes into the Garonne Branch: wastewater effluents versus river transport

Both influent and effluent water generally displayed higher metal fluxes at WWTP 'LF' than at WWTP 'CH' for both dry and rainy weather conditions; although they had similar discharges during the dry periods (Fig. 5A and B). During these dry periods, i.e. in the absence of rainwater runoff, the difference between the two WWTPs influent metal flux was attributed to the contrasted origins of the wastewater assuming higher metal concentrations in urban/industrial wastewater compared to suburban wastewater.

During wet periods, wastewater fluxes entering the WWTPs increased by up to 150% for WWTP 'LF' and 60% for WWTP 'CH'. The related total metal fluxes increased by 70% (As) to 200% (Pb; Fig. 5A). For all metals, incoming fluxes were clearly greater for WWTP 'LF' than for WWTP 'CH', i.e. up to ~10 times higher for Cd and ~5 times higher for Pb (Fig. 5A). This difference was partially attributed to WWTP 'LF' containing up to 60% of rainwater runoff compared to only <20% at WWTP 'CH'.

The studied trace element total fluxes released into the Garonne Branch by the WWTPs are dominated by the particulate phase for Cd, Cr, Pb, and Cu and by the dissolved phase for As, Ni, and Zn (Fig. 3; right column and Fig. 6). If residence times increase, these metal inputs will accumulate in the fluvial estuary, especially during extreme low discharge situations as increasingly often observed in summer (Lanceleur et al., 2012). Given that the potential impact of urban wastewater from the CUB on the water quality in the Garonne Branch is likely at maximum during low discharge periods (see above), we have compared wastewater metal fluxes to minimum river-borne fluxes entering the Garonne Branch at the La Réole site, representative of low discharge periods. Both dissolved and particulate Cd, As, Cr, and Ni fluxes transported by the Garonne River were clearly greater than the sum of the respective fluxes emitted by the two WWTPs (Fig. 6 and Table 4). Average particulate Cu and Zn exceeded the minimum values at the La Réole site during low river discharge (Fig. 6 and Table 4). Furthermore, average total and particulate Zn, maximum total Pb and Cu were similar in magnitude to the respective minimum fluxes at La Réole. During a local intense summer rainstorm, maximum total and particulate Zn, particulate and dissolved Pb, and particulate Cu fluxes, were even greater than the respective fluxes at the La Réole site (2nd of August, 2011; Fig. 6 and Table 4).

The flow-weighted average daily metal fluxes in effluent from both WWTPs were extrapolated to estimate fluxes released by the other five small WWTPs in the CUB that treat an additional 30% of total wastewater rejected into the Garonne Branch. The resulting total urban wastewater metal/metalloid fluxes released into the Garonne Branch suggest that, during low river discharge, the WWTPs contribute approximately 2% (As), 5% (Cd), 10% (Cr), 27% (Pb), 24% (Ni), 30% (Cu), and as much as 43% (Zn) to the total metal fluxes into the Garonne Branch (Fig. 7).

The sum of wastewater discharged into the Garonne Branch is ~3–4 m³ s⁻¹, which corresponds to up to 5% of the freshwater discharge of the Garonne River during low discharge periods. The resulting ~25–30-fold dilution is clearly higher than those reported for the Marseille treated wastewater discharge into the receiving coastal rivers during low discharge (~2-fold; Oursel et al., 2013) or for the Lopan and Udy Rivers (Ukraine), where urban and industrial wastewater discharge is estimated at 3 times the river base flow (Vystavna et al., 2012). However, the dilution of the Bordeaux wastewater released into the Garonne Branch is still much lower than that of the Montreal wastewater released into the St. Lawrence River, where municipal metal inputs contribute measurably to the river's metal budget and for which clear effects on aquatic organisms occurred due to insufficient dilution of urban contaminants within the first 5 km from the discharge point (e.g. Gagné et al., 2002; Gobeil et al., 2005). This suggests that the observed metal release in Bordeaux wastewater (this study) may be

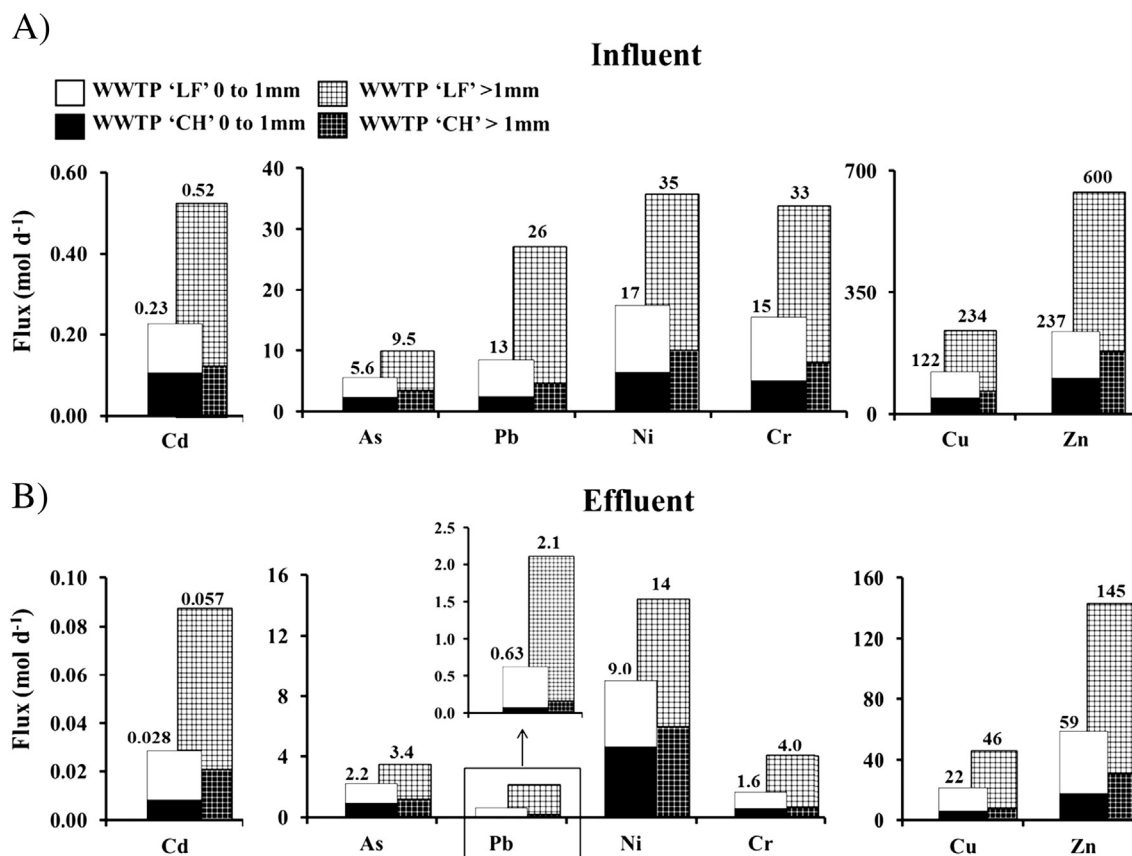


Fig. 5. Daily metal and metalloid flux of Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn (mol d^{-1}) during a three week observation period in influent (A) and effluent (B) water of the two treatment plants Louis Fargue and Clos de Hilde during dry periods (0 to 1 mm precipitation) and wet periods (greater than 1 mm of precipitation).

critical to aquatic organisms living in the fluvial estuary. The long residence times of water and particles in the fluvial reaches of the macrotidal Gironde Estuary during low discharge may amplify potential effects, in particular for contaminants undergoing physico-chemical changes which increase their bioavailability.

These findings clearly suggest that during low discharge periods, urban metal inputs may locally not only modify the respective concentrations in the Garonne Branch, but also change the metal budgets of the fluvial Gironde Estuary, especially after summer rainstorms. Specific annual metal fluxes per inhabitant ($\text{mol inhab}^{-1} \text{y}^{-1}$) were calculated because they allow a comparison between different urban systems. Buzier et al. (2006) reported specific fluxes entering the Seine River from the WWTP 'Seine Aval' for Cr, Cu, and Ni of 4.6×10^{-2} , 1.6×10^{-2} , and $1.5 \times 10^{-2} \text{ mol inhab}^{-1} \text{y}^{-1}$, respectively. This is respectively 4 and 3 times higher for Cr and Ni than the estimated average of

the 6 WWTPs of the CUB (1.2×10^{-3} , 1.5×10^{-2} and $5.3 \times 10^{-3} \text{ mol inhab}^{-1} \text{y}^{-1}$ for Cr, Cu, and Ni; Fig. 7) with similar Cu fluxes. Given that influent metal concentrations were relatively similar in both systems (Section 4.1), these strong differences in specific fluxes for Cr and Ni clearly suggest the importance of population and industrial density/profiles in different watersheds on the metal release through wastewater effluent and potential impacts on the receiving estuarine environment. Accordingly, there is a need to continue and intensify monitoring of contaminant release from urban systems, especially for estuarine/coastal systems where monitoring is less developed than for freshwater systems.

5. Conclusions and perspectives

The present study documents and highlights the importance of urban wastewater metal inputs for the concentrations and budgets of

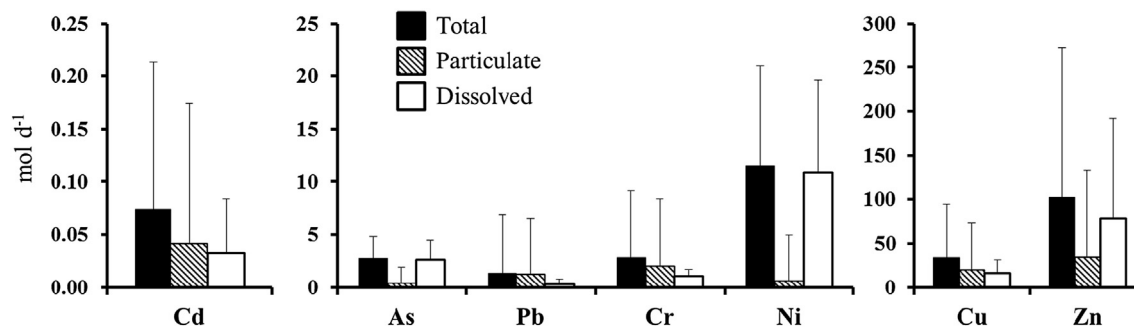


Fig. 6. Average daily effluent metal and metalloid flux (total, particulate and dissolved, mol d^{-1}) for Cd, As, Pb, Cr, Ni, Cu and Zn from the two wastewater treatment plants during the three week sampling periods (maximum values denoted by capped error bar).

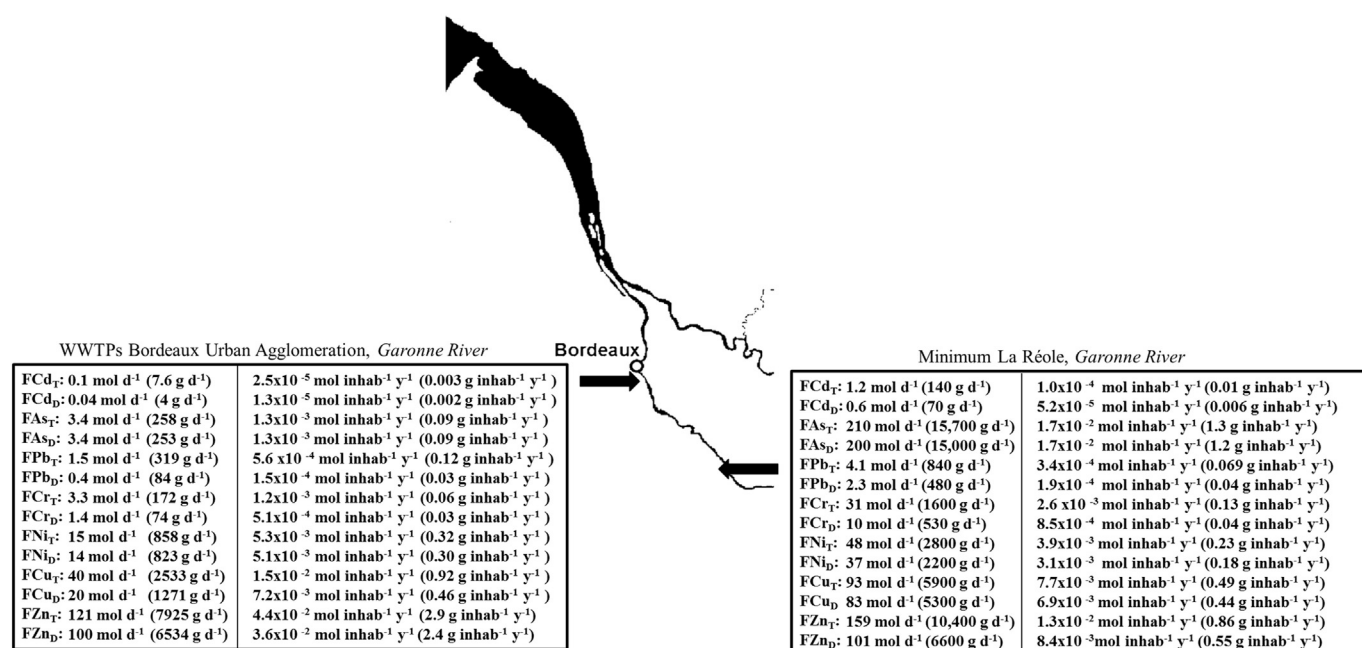


Fig. 7. Daily weighted averaged (mol d⁻¹; g d⁻¹) and normalized (mol; inhab⁻¹ y⁻¹; g inhab⁻¹ y⁻¹) metal and metalloid flux for Cd, As, Cr, Ni, Pb, Cu, and Zn released by all wastewater treatment plants of the Bordeaux urban agglomeration (CUB) into the Gironde Estuary compared to the minimum daily (mol d⁻¹; g d⁻¹) and normalized (mol; inhab⁻¹ y⁻¹; g inhab⁻¹ y⁻¹) fluxes at the La Réole site.

the fluvial Gironde Estuary (Garonne Branch). The highest overall metal fluxes into the treatment plants and into the Garonne Branch occurred during rain events with fluxes that increased by 70% to 200%, depending on the element. The relative contribution of urban metal inputs into the Garonne Branch is at maximum during low discharge periods. If such impact is significant in this major European Estuary, it is probably even more important in other systems with similar population density, but having lower dilution (wastewater/receiving water) factors. There is a general need for data on metal inputs from urban agglomerations into coastal aquatic systems, especially with respect to (i) the large differences in specific fluxes observed for different cities, (ii) the wide range of potentially problematic metals for which no information exists and (iii) the wide range of possible scenarios of metal fate. Future work should account for the variable proportions between urban systems and receiving water bodies (dilution factors etc.) and specific functioning of different coastal systems (tidal amplitude, SPM concentrations, residence times etc.). Systematic coupling of urban and estuarine/coastal biogeochemistry is a prerequisite to a better understanding of the multiple interactions between urban and fluvial-estuarine systems and a crucial step for sustainable management of the coastal resources facing increasing population pressure.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge Dr. H. Etcheber, A. Lanoux, Y. Aminot, D. Marliac, E. Cottin, S. Pelloux and C. Deycard for sampling, analytical support, and field assistance. This study was financially supported by 'Suez-Lyonnaise des Eaux', CUB (Communauté Urbaine de Bordeaux), Agence de l'Eau Adour-Garonne (AEAG), La Région Aquitaine, FEDER (Fonds Européen de Développement Régional), and the Agence Nationale de la Recherche (ANR-07-VULN-03). The support of Kathleen D. Fleming and Jessica J. Auck with English editing is also greatly acknowledged.

References

Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France) – temporal variability and a model for flux estimation. *Sci. Total Environ.* 319, 197–213.

- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot-Garonne fluvial system (France). *Appl. Geochem.* 19, 769–786.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Solid state partitioning of trace metals in suspended particulate matter from a river system affected by smelting-waste drainage. *Sci. Total Environ.* 363, 216–236.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guérin, F., Masson, M., Robert, S., 2007. Budgets of Mn, Cd, and Cu in the macro tidal Gironde Estuary. *Mar. Chem.* 107, 433–448.
- Bănar, D., Carloti, F., Barani, A., Grégori, G., Neffati, N., Harmelinvivié, M., 2014. Seasonal variations of stable isotope ratios of size-fractionated zooplankton in the Bay of Marseille (MW Mediterranean Sea). *J. Plankton Res.* 36, 145–156.
- Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). *Hydrobiologia* 410, 331–341.
- Boyle, E.A., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta* 38, 1719–1728.
- Bubb, J.M., Lester, J.N., 1991. The impact of heavy-metals on lowland rivers and the implications for man and the environment. *Sci. Total Environ.* 100, 207–233.
- Bubb, J.M., Lester, J.N., 1996. Factors controlling the accumulation of metals within fluvial systems. *Environ. Monit. Assess.* 41, 87–105.
- Buzier, R., Tusseau-Vuillemin, M., Martin dit Meriadec, C., Rousselot, O., Mouchel, J.M., 2006. Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant: impact of the successive treatments stages. *Chemosphere* 65, 2419–2426.
- Buzier, R., Tusseau-Vuillemin, M., Keirbulck, M., Mouchel, J.M., 2011. Inputs of total and labile trace metals from wastewater treatment plants effluents to the Seine River. *Phys. Chem. Earth* 26, 500–505.
- Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Dabrin, A., Lancelleur, L., Masson, M., 2009. Seasonal variability of gaseous mercury at the air-water interface of a highly turbid estuary (Gironde Estuary, France). *Mar. Chem.* 117, 42–51.
- Comber, S., Gardner, M., 2003. Chromium redox speciation in natural waters. *J. Environ. Monit.* 5, 410–413.
- Coyne, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Girardot, N., Blanc, G., 2007a. Groundwater contributions to metal transport in a small river affected by mining and smelting waste. *Water Res.* 41, 3420–3428.
- Coyne, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007b. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Appl. Geochem.* 22, 821–836.
- Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coyne, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: application to the Gironde Estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 84, 429–439.
- 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.
- 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 MAGES monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 15, 831–840.

- Foxgrover, A.C., Higgins, S.A., Ingraca, M.K., Jaffe, B.K., Smith, R.E., 2004. Deposition, erosion, and bathymetric change in South San Francisco Bay: 1858–1983. US Geological Survey Open-File Report, pp. 1192–2004.
- Gagné, F., Blaise, C., Aoyama, I., Luo, R., Gagnon, C., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Salazar, M., 2002. Biomarker study of a municipal effluent dispersion plume for two species of freshwater mussels. *Environ. Toxicol.* 17, 144–159.
- Gobeil, C., Rondeau, B., Beaudin, L., 2005. Contribution of municipal effluents to metal fluxes in the St. Lawrence River. *Environ. Sci. Technol.* 39, 456–464.
- Heinloth, K., 2003. Die Energiefrage. Bedarf und Potentiale. Nutzen, Risiken und Kosten. Vieweg, Braunschweig, Wiesbaden.
- HYDRO, 2011. Banque-HYDRO. from <http://www.hydro.eaufrance.fr/selection.php> (accessed in 2012).
- INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques), 2006. http://www.insee.fr/fr/themes/detail.asp?ref_id=irs2006&page=irweb/sd2006/dd/sd2006_population.htm (accessed in 2012).
- Irigoin, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 44, 507–517.
- Lanceleur, L., Schäfer, J., Bossy, C., Coynel, A., Larrose, A., Masson, M., Blanc, G., 2011a. Silver fluxes to the Gironde Estuary – eleven years (1999–2009) of monitoring at the watershed scale. *Appl. Geochem.* 26, 797–808.
- Lanceleur, L., Schäfer, J., Chiffolleau, J.F., Audry, S., Auger, D., Renault, S., Baudrimont, M., Blanc, G., 2011b. Long-term (30 years) records and relationships of cadmium and silver contamination in sediment and oysters from the Gironde fluvial–estuarine continuum. *Chemosphere* 85, 1299–1305.
- Lanceleur, L., Schäfer, J., Blanc, G., Coynel, A., Bossy, C., Baudrimont, M., Glé, C., Larrose, A., Renault, S., Strady, E., 2012. Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 1352–1366.
- Lanoux, A., Etcheber, H., Smidt, S., Sottolichio, A., Chabaud, G., Richard, M., Abril, G., 2013. Factors contributing to hypoxia in a highly turbid macrotidal estuary (the Gironde, France). *Environ. Sci. Process. Impact* 15, 585–595.
- Lemaire, E., Blanc, G., Schäfer, J., Coynel, A., 2006. Dissolved trace metal–organic complexes in the Lot–Garonne River system determined by the C18 Sep-Pak system. *Aquat. Geochem.* 12, 21–38.
- Luoma, S.N., 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms—a review. *Sci. Total Environ.* 28, 1–22.
- Lyonnaisse des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2008. Rapport annuel assainissement du délégataire, Communauté Urbaine de Bordeaux. p. 231 (267).
- Lyonnaisse des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2009. Manuel d'auto surveillance, Système d'assainissement de Clos de Hilde-Bégles. pp. 11–13.
- Lyonnaisse des Eaux Centre Régional Bordeaux Agglomération, 2010. Manuel d'auto surveillance, Système d'assainissement de Louis Fargues-Bordeaux. pp. 12–13.
- Martin, J.H., Knauer, G.A., Gordon, R.M., 1983. Silver distributions and fluxes in north-east Pacific waters. *Nature* 305, 306–309.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Sci. Total Environ.* 370, 133–146.
- Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Dabrin, A., Castelle, S., Lavaux, G., 2009. Behavior of arsenic and antimony in the surface freshwater reaches of a highly turbid estuary, the Gironde Estuary, France. *Appl. Geochem.* 24, 1747–1756.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., Parlanti, E., Le Coustumer, P., 2011. Copper addition by organic matter degradation in the freshwater reaches of a turbid estuary. *Sci. Total Environ.* 409, 1539–1549.
- McGranahan, G., Balk, D., Anderson, B., 2006. The rising tide: assessing the risks of climate change and human settlements in low elevation coastal zones. *Environ. Urban.* 12, 17–38.
- Meybeck, M., Ragu, A., 1996. River discharge to the oceans. An assessment of suspended solids, major ions, and nutrients. Environment Information and Assessment Rpt. UNEP, Nairobi.
- Nielsen, J.S., Hrudley, S.E., 1983. Metal loadings and removal at a municipal activated sludge plant. *Water Res.* 17, 1041–1050.
- NQE, 2008. Directive NQE 2008/105/CE du 16 décembre 2008 établissant des Normes de Qualité Environnementale dans le domaine de l'eau. <http://www.ineris.fr>.
- Olivier, B.G., Cosgrove, E.G., 1974. The efficiency of heavy metal removal by a conventional activated sludge treatment plant. *Water Res.* 8, 869–874.
- Oursel, B., Garnier, C., Durrieu, G., Mounier, S., Omanovic, D., Lucas, Y., 2013. Dynamics and fates of trace metals chronically input in a Mediterranean coastal zone impacted by a large urban area. *Mar. Pollut. Bull.* 69, 137–149.
- Petit, J.C.J., Schäfer, J., Coynel, A., Blanc, G., Deycard, V.N., Derrienick, H., Lanceleur, L., Dutruch, L., Bossy, C., Mattielli, N., 2013. Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France). *Chem. Geol.* 359, 125–135.
- Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., 1997. Pore-water silver concentration gradients and benthic fluxes from contaminated sediments of San Francisco Bay, California USA. *Mar. Chem.* 56, 15–26.
- Robert, S., Blanc, Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Mar. Chem.* 87, 1–13.
- Rodriguez-Garcia, G., Molinos-Senante, M., Hospido, A., Hernández-Sancho, F., Moreira, M.T., Feijoo, G., 2011. Environmental and economic profile of six typologies of wastewater treatment plants. *Water Res.* 45, 5997–6010.
- Rule, K.L., Comber, S.D.W., Ross, D., Thornton, A., Makropoulos, C.K., Rautiu, R., 2006. Diffuse sources of heavy metals entering an urban wastewater catchment. *Chemosphere* 63, 64–72.
- Sautour, B., Gonthier, P., Vervier, P., 2006. The Gironde Estuary: a relatively well-preserved, though fragile ecosystem. In: Seine-Aval, G.I.P., Dauvin, J.C. (Eds.), North-Atlantic Estuaries: Problems and Perspectives, pp. 13–18.
- Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. *Sci. Total Environ.* 298, 103–118.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneaux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Mar. Chem.* 79, 229–242.
- Shafer, M.M., Overdier, J.T., Armstrong, D.E., 1998. Removal, partitioning, and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 630–641.
- Shafer, M.M., Hoffman, S.R., Overdier, J., Armstrong, D.E., 2004. Physical and kinetic speciation of copper and zinc in three geochemically contrasting marine estuaries. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3810–3819.
- Sholkovitz, M.K., 1976. Flocculation of dissolved organic and inorganic matter during mixing of river water and sea water. *Geochim. Cosmochim. Acta* 40, 831–845.
- Small, C., Cohen, J.E., 2004. Continental physiography, climate and the global distribution of human population. *Curr. Anthropol.* 45, 269–277.
- Small, C., Nicholls, R.J., 2003. A global analysis of human settlement in coastal zones. *J. Coastal Res.* 19, 584–599.
- Sohrin, Y., Matsui, M., Kawashima, M., Hojo, M., Haszsgawa, H., 1997. Arsenic biogeochemistry affected by eutrophication in Lake Biwa, Japan. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2712–2720.
- Sörme, L., Lagerkvist, R., 2002. Sources of heavy metals in urban wastewater in Stockholm. *Sci. Total Environ.* 298, 131–145.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde Estuary. *C. R. Acad. Sci. III A Earth Planet Sci.* 329, 795–800.
- Stephenson, T., 1987. Sources of Heavy Metals in Wastewater and Sludge Treatment Processes. v. 1. Sources, Analysis, and Legislation. In: Lester, J.N. (Ed.), CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 31–63.
- Strady, E., Schäfer, J., Baudrimont, M., Blanc, G., 2011a. Tracing cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (*Crassostrea gigas*) by multiple stable Cd isotope spike experiments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 600–606.
- Strady, E., Blanc, G., Baudrimont, M., Schäfer, J., Robert, S., Lafon, V., 2011b. Roles of regional hydrodynamic and trophic contamination in cadmium bioaccumulation by pacific oysters in the Marennes–Oléron Bay (France). *Chemosphere* 84, 80–90.
- Tappin, A.D., Barriada, J.L., Braungardt, C.B., Evans, E.H., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. *Water Res.* 44, 4204–4216.
- UNEP United Nations Environment Programme, 2012. Sustainable, Resource Efficient Cities – Make it Happen!
- United Nations (UN) Population Division, 2007. World Urbanization Prospects: The 2007 Revision. U.N. New York.
- Vystavna, Y., Huneau, F., Larrose, A., Schäfer, J., Motelica-Heino, M., Blanc, G., Vergeles, Y., Dyadin, D., Le Coustumer, P., 2012. Distribution of trace elements in water and sediments of the rivers in the Seversky Donets watershed (Kharkiv region, Eastern Ukraine). *Appl. Geochem.* 27, 2077–2087.
- Walling, D.E., Webb, B.W., 1985. Estimating the discharge of contaminants to coastal waters by rivers: some cautionary comments. *Mar. Pollut. Bull.* 16, 488–492.
- WFD, 2000. Water Framework Directive. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy. http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/index_en.html.
- Whalley, C., Hursthouse, A., Rowlett, S., Iqbal-Zahid, P., Vaughan, H., Durant, R., 1999. Chromium speciation in natural waters draining contaminated land, Glasgow, U.K. *Water Air Soil Pollut.* 112, 389–405.

Annexe 3

Petit J.C., Schäfer J., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Derriennic H., Lanceleur L., Dutruch L., Bossy C., Mattielli N. (2013)

Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France).

Chemical Geology., 359, 125-135.



Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France)

Jérôme C.J. Petit ^{a,*}, Jörg Schäfer ^a, Alexandra Coynel ^a, Gérard Blanc ^{a,1}, Victoria N. Deycard ^a, Hervé Derriennic ^a, Laurent Lancelier ^a, Lionel Dutruch ^a, Cécile Bossy ^a, Nadine Mattielli ^b

^a Université de Bordeaux UMR 5805 EPOC-OASU, TGM, Avenue des Facultés, 33405 Talence cedex, France

^b Université Libre de Bruxelles, Department of Earth and Environmental Sciences, G-Time, CP160/02, Av F.D. Roosevelt 50, B-1050 Brussels, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 April 2013

Received in revised form 25 September 2013

Accepted 27 September 2013

Available online 10 October 2013

Editor: David R. Hilton

Keywords:

Phytoplankton

Non-conservative behavior

MC-ICP-MS

ABSTRACT

High precision MC-ICP-MS Cu isotope measurements were performed on suspended particulate matter (SPM) and filtered water sampled along the turbidity gradient of the fluvial Gironde Estuary (Garonne Branch), following a summer lasting period of low freshwater discharge. High Cu concentrations (up to ~200 µg/g) in particulate organic carbon (POC)-rich (up to ~14%) particles upstream from the Maximum Turbidity Zone (MTZ) coincide with the most negative $\delta^{65}\text{Cu}$ values (down to -0.39‰). This suggests the preferential uptake of light Cu isotopes by phytoplankton or anthropogenic contamination from CuSO_4 fungicides related to intensive wine farming in the area ($\delta^{65}\text{Cu} = -0.37\text{‰}$ for vineyard soils). Suspended particulate matter samples in the MTZ exhibit lower Cu concentrations (~35 µg/g) and heavier isotopic compositions ($\delta^{65}\text{Cu} = -0.20\text{‰}$ in average), as recorded by other samples from the Gironde Watershed. Along the fluvial estuary, dissolved Cu is mostly enriched in heavy isotopes (up to $\delta^{65}\text{Cu} = +0.21\text{‰}$), but negative signatures down to $\delta^{65}\text{Cu} = -0.66\text{‰}$ occur near the city of Bordeaux. Release of dissolved Cu was attributed to the mineralization of organic matter with a total addition of ~600 ng/L in the fluvial estuary. Continuously decreasing amounts of dissolved Cu added with distance suggest that the observed Cu release evolved towards completion in the MTZ and contributed to negative values for dissolved Cu isotopes, as modeled by a Rayleigh process. Urban wastewater effluents probably also contribute to both (i) the dissolved Cu addition (10–20%) in the MTZ and (ii) negative Cu isotope signatures. Further work is necessary to assess the respective roles of anthropogenic sources and biogeochemical fractionation processes. Accordingly, the present study provides new insights into the potential of Cu isotopes for fingerprinting sources and mechanisms involved in the biogeochemical cycle of Cu in temperate aquatic environments impacted by anthropogenic activities.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Copper is a ubiquitous biolimiting micronutrient, involved as cofactor in enzymes and regulatory proteins in all living organisms (Semeniuk et al., 2009). Copper, as a base metal, is an essential economic resource sustaining industrial, agricultural and domestic activities. It becomes one of the most widespread and potentially toxic inorganic contaminants (De Oliveira-Filho et al., 2004) when lost into the environment, causing long-term potential threat to living organisms and aquatic ecosystems (Serra and Guasch, 2009). Once released, Cu is mainly transported to the marine environment by rivers and estuaries, where it can change its chemical forms due to

biogeochemical processes induced by biological activity and/or physico-chemical gradients.

Copper carrier phases are distributed through a continuous range of sizes including particulate, colloidal and dissolved Cu(II) ionic forms (operationally defined as $<0.2\ \mu\text{m}$). Particulate Cu is carried onto SPM which is made of a complex mixture of various mineral phases and living/dead organic matter. All of them are potentially involved in Cu speciation 1) absorbed into living organisms or 2) precipitated/adsorbed onto freshly precipitated mineral and organomineral coatings; or 3) "tightly" bound within the crystalline lattice of detrital particles (Petit et al., 2009).

Copper, along the salinity gradients of estuaries at the global scale (Shank et al., 2004; Waeles et al., 2005; Audry et al., 2007) shows transient, seasonally dependent, conservative and non-conservative behaviors, due to salinity-induced desorption, adsorption and flocculation. These processes affect Cu speciation and are intimately related with primary production and organic matter degradation, owing to the

* Corresponding author at. Université de Bordeaux 1, UMR 5805 EPOC-OASU, TGM, Avenue des Facultés, 33405 Talence cedex, France.

E-mail address: j.petit@epoc.u-bordeaux1.fr (J.C.J. Petit).

¹ Tel.: +33 3354008822.

high affinity of Cu for dissolved organic ligands (e.g. Gerringa et al., 1998; Wells et al., 1998).

These changes in speciation strongly influence the fate of Cu including its transport, persistence, bioavailability and toxicity. Therefore, studying the significance of Cu stable isotopes and their partitioning between particulate and dissolved phase is of special interest in estuaries affected by anthropogenic activities.

Biological assimilation and chemical precipitation (involving redox and/or non redox processes) may affect the isotopic composition of Cu, forming stronger chemical bonds and showing heavy isotope enrichment in its oxidized state (Balistrieri et al., 2008; Pokrovsky et al., 2008), and/or sorbed onto mineral surfaces (Pokrovsky et al., 2008). Applying results from in vitro experiments to natural systems would imply that particulate Cu in oxic surface waters should be mostly enriched in heavy isotopes if it resulted solely from chemical precipitation. This is in contrast with field data showing (1) heavy isotope enrichment in the dissolved phase of world rivers (Vance et al., 2008), attributed to strong binding dissolved organic ligands and (2) very light isotopic signatures in the particulate phase of the Itchen Estuary. There are also evidences of constant Cu isotopic compositions across the whole size range from 100 μm to 1 kDa by filtration/ultrafiltration of river samples (Ilna et al., 2013), suggesting that there is not yet a clear picture on fractionation mechanisms of Cu isotopes in rivers waters.

Despite these apparent discrepancies between field and experimental data, the increasing amount of Cu isotope applications to environmental sciences (Chen et al., 2008; Petit et al., 2008a; Vance et al., 2008; Bigalke et al., 2010; Thapalia et al., 2010; Bigalke et al., 2011; El Azzi et al., 2013; Ilna et al., 2013) and the conceptual framework on fractionation processes provided by experimental approaches (Mathur et al., 2005; Pokrovsky et al., 2008; Kimball et al., 2009; Navarrete et al., 2011), comfort the promise of using Cu isotopic signatures in estuarine environments. However, in these multi-source, multi-process systems, isotopic studies are challenging and have to rely on well constrained case studies and/or well targeted environmental conditions.

Copper behavior in estuarine environments has mostly been investigated along salinity gradient, but data on Cu in the freshwater reaches of estuaries (i.e. influenced by dynamic tide) are generally scarce, although there is evidence for its high reactivity in these dynamic zones (Jarvie et al., 2000). In fact, during summer long-lasting low freshwater discharge periods, Cu addition occurs in the freshwater reaches of the Gironde Estuary and has been unequivocally related to

the mineralization of organic matter (Audry et al., 2006; Masson et al., 2011).

This study investigates the environmental significance of particulate and dissolved Cu stable isotopes in the Garonne Branch of the Gironde Estuary, under the specific environmental conditions outlined here above. It aims at evaluating the potential of Cu isotopes for tracking (i) different sources within the watershed and (ii) biogeochemical fractionation processes occurring in the fluvial estuary. In addition, the study complements current Cu isotopic data (e.g. Vance et al., 2008) acquired with sampling strategies not specifically designed to capture its non-conservative behavior.

2. Environmental setting

The Gironde Estuary (Fig. 1) is a major European fluvial–estuarine system draining about 80,000 km², equivalent to 18% of the metropolitan French land surface. The Gironde system is known for chronic metal contamination due to the former Zn-ore refining industry of Decazeville (Riou-Mort/Lot/Garonne River continuum) that affects the estuary and the inshore coastal areas. This historical pollution still persists due to heavy contamination of reservoir sediments that are important secondary sources of metals (Coynel et al., 2007). In addition, intensive agriculture and wine industry in the watershed are major Cu sources to the Gironde Estuary (Masson et al., 2006), as observed in other river systems (e.g. Brun et al., 1998; Pietrzak and McPhail, 2004; Fernández-Calviño et al., 2008). Moreover, wastewater treatment plants in the urban agglomeration of Bordeaux (~1 million habitants) contribute to a substantial increase of metal concentrations in the Garonne Branch, especially in periods of low freshwater discharges (Deycard et al., unpublished results).

The Garonne River is the third largest river in France in terms of flow, with a catchment area of 56,000 km² (over 10% of the area of France). It is the main contributor to the Gironde Estuary with ~60% of the total water flux (28 km³/yr) and ~75% of the total SPM fluxes (1.8 Mt/yr) entering the estuary, in average for the period 1999–2009 (Lanceleur et al., 2011). Asymmetrical progression of the tidal wave towards the upstream estuary results in the presence of a Maximum Turbidity Zone (MTZ) with suspended particulate matter (SPM) concentrations in surface water that exceed 1 g/l. In periods of low freshwater discharges the MTZ expands within the Garonne Branch inducing suboxic conditions in the water column. During spring and summer, in conjunction with low turbidities, intense phytoplanktonic blooms may develop upstream from

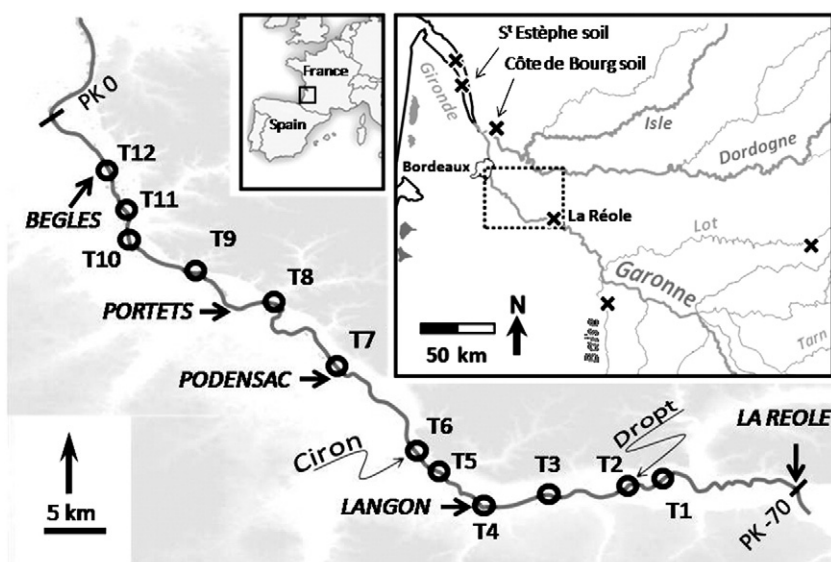


Fig. 1. Study area. Map of the Garonne–Gironde continuum and watershed with sampling locations (circles: longitudinal profile samples T1 to T12; crosses: watershed samples).

the turbidity gradient with particulate organic carbon concentrations (POC) as high as 14.9% (Etcheber et al., 2007). There is, however, efficient elimination of phytoplankton when entering the MTZ due to the lack of light and intense respiration by abundant bacterial communities carried on particles (Etcheber et al., 2007). The most recent estimates (Masson et al., 2006) suggest that the Garonne accounts for ~70% of the total (particulate + dissolved) Cu fluxes (192 T/yr) entering the estuary (period 1999–2002), with particulate Cu transport representing 75% to 90% of the annual total Cu (Cu_T) fluxes. Surveys performed in 2004, 2005 (Masson et al., 2011), 2008 (unpublished data) and 2011 (this study) in several sites along the Garonne Branch downstream from the La Réole site have shown the recurrent Cu addition during summer months, inducing a ~20% increase in annual dissolved Cu (Cu_D) fluxes, i.e. ~3.6 T/yr of Cu in 2004 (Masson et al., 2011).

3. Material and methods

3.1. Cleaning of labware and reagents

The physical and chemical treatments of samples and cleaning of all types of material and consumables were performed under an extraction hood and/or a laminar flow hood in a class 1000 laboratory. All dilutions were performed with 18.2 M Ω milli-Q (MQ) water. Acid cleaning was performed with 10% HNO₃ (made from 14 mol/L HNO₃ Baker Analyzed), for at least 72 h and rinsed thoroughly three times with MQ. High density polyethylene beakers and screw top Teflon beakers intended for the recovery of Cu after purification by anion exchange chromatography were cleaned in three sequential steps of 24 h at 125 °C (1) with HCl ~6 mol/L (made from 12 mol/L Baker Analyzed); (2) and (3) both with conc. HNO₃ and rinsed with abundant MQ between each step (Petit et al., 2008b). Polycarbonate filters were soaked in HNO₃ 1 mol/L in two successive bathes for 48 h then rinsed several times and stored in MQ (de Jong et al., 2007). Acids used for the mineralization of solid samples, the acidification of filtered river water and anion-exchange chromatography were of higher purity (22 mol/L Suprapur HF, 14 mol/L Ultrex HNO₃ and 12 mol/L instrA Baker Analyzed HCl), while isotopic measurements were performed using subboiled conc. HNO₃.

3.2. Sampling

The Garonne Branch (Fig. 1) was sampled along a 12 point (labeled T1–T12) longitudinal profile of ~70 km from near La Réole (upper limit of the dynamical tide) to Bègles (upper limit of the salinity gradient) on 27 September 2011, after a long period of low freshwater discharge (113 m³/s the day of the sampling). Sampling was performed at ~30 cm depth, in the main channel of the fluvial estuary during a single 4 h cruise onboard an inflatable boat following the flow of water masses. Together with physicochemical parameters measured at each station directly in the river with a multiparameter field probe (Crison), 5 to 6 L were sampled in PET bottles after rinsing with ambient water. Approximately ~15 mL was filtered on site through an acid cleaned syringe and disposable 0.2 μ m polycarbonate filters (Sartorius) and acidified with 100 μ L of conc. HNO₃ (Baker Ultrex) for the determination of dissolved Cu concentrations.

Additional soils, sediments and SPM samples from the Garonne watershed and Gironde Estuary (sample bank of TGM team) were also measured for Cu isotopic compositions. These samples were chosen according to their geochemical and environmental characteristics and spatial distribution in the Lot–Garonne–Gironde continuum (Fig. 1): (1) SPM of two major flood from the Garonne River (December 2003) and the Lot River (February 2003) sampled at La Réole (Coynel et al., 2007); (2) surface sediment from the Cajarc reservoir (Audry et al., 2004) in the Lot River; (3) SPM sample from the February 2003 flood at Nérac (Baise River); (4) SPM sample from the Gironde Estuary at

salinity 15; and (5) soil samples from vineyard areas contaminated by the use of Cu sulfate fungicides (Larrose et al., 2010).

Back in the laboratory, the ~5 L samples underwent repeated centrifugations (thermostated Jouan CR4-12, 10 min at 4000 rpm) carried in four acid-cleaned conic vials of 250 mL, following published methodologies (Schäfer et al., 2002). The centrifuged supernatant was filtered through 0.2 μ m polycarbonate acid cleaned filters (140 mm diameter). These large volumes of filtered water were acidified at pH ~2 with conc. HNO₃ (Ultrex) and stored in the dark. ~15 mL aliquots were taken to control the possible contamination in dissolved Cu by the filtration process and compared with samples filtered on site. The centrifuged SPM samples were recombined, dried at 50 °C and further crushed and homogenized in an agate mortar.

3.3. Determination of SPM and POC concentrations

The determination of SPM concentrations was performed by filtration of homogenous and precise volumes of water (between 1000 mL and 40 mL) through calcinated (50 °C; 4 h) and pre-weighed GFF filters (45 mm in diameter and 0.7 μ m in porosity), dried at 50 °C to constant weight and weighed again (Schäfer et al. 2002; Masson et al. 2011).

Particulate organic carbon (POC) concentrations were determined using a carbon analyser LECO CS-125, after complete carbonate removal achieved by repeated addition of HCl 2 mol/L (Baker analyzed) and drying at 60 °C (Etcheber et al., 2007). The accuracy of POC analyses were checked by repeated measurements of the CRM LECO 501–506 which agreed within 0.001% of the certified value.

3.4. Preconcentration, mineralization and purification

The preconcentration of large volumes (2–3 L) of filtered river water samples intended for Cu isotope measurements was performed by evaporation as in Vance et al. (2008). Each sample was repeatedly dry-evaporated in 4 pre-weighed acid-cleaned 50-mL polypropylene (PP) tubes (DigiTUBE®, SCP SCIENCE) at 100 °C in a temperature controlled digestion system (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE) under an extraction hood in a class 1000 clean lab facility. Finally, the 4 aliquots were recombined in 3 mL HCl 7 N (instrA) at 125 °C. These straightforward approaches provided low blanks of ~15 ng Cu obtained from the evaporation of 1300 mL of MQ, which is 2–3 orders of magnitude less than the amount of Cu recovered from the preconcentration of the samples.

The mineralization of solid samples was performed with the following protocol. Precise amounts of powdered samples were calcinated for 12 h at 550 °C in preweighted cleaned and closed ceramic crucible (Petit et al., 2008b). Between ~60 mg and ~400 mg of precisely weighted calcinated powder were digested in acid cleaned 50 mL PP tubes (DigiTUBE®, SCP SCIENCE) using 4 mL HF (Suprapur) and 2 mL aqua regia mixture (2/3 conc. HCl instrA and 1/3 conc. HNO₃ Ultrex, in v/v), heated at 110 °C for 2 h in a temperature controlled digestion system (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE) and evaporated to dryness. The residue was redissolved in 10 mL HCl 7 mol/L (instrA), repeatedly heated at 110 °C and ultrasonicated (Bransonic 2510E-NT) for 30 min until a clear solution was obtained. For the determination of Cu concentrations, a known aliquot of the solution was evaporated to dryness, redissolved in 100 μ L of conc. HNO₃ (Baker Ultrex) and evaporated again to eliminate chlorine ions. This residue was finally redissolved in 1 mL HNO₃ 1% (Baker Ultrex). The remaining solution was evaporated and stored for anion-exchange chromatography. The procedural blanks for mineralization of particulate samples were 6 ng and 0.014 ng for Cu_p and Th_p , which represented a contribution of less than 0.07% and 0.002% to the measured Cu and Th concentrations and were systematically subtracted.

The purification of Cu was performed by loading precise amounts equivalent to a maximum of 2000 ng of Cu in 2 mL of HCl 7 N on Biorad polyprep columns filled with 2 mL AG-MP1-M anion-exchange resin

and applying a double pass purification with the protocol of Mason (2003). Washing and conditioning of the resin batch were performed as described in de Jong et al. (2007). Full recovery of Cu was quantitatively checked using a 100 μL aliquot analyzed by Quadrupole ICPMS. The dried residue was then dissolved in 100 μL conc. HNO_3 (Ultrex) and dry-evaporated prior to isotopic measurements. The column blanks were ~ 12 ng Cu, while total blanks were always less than 30 ng Cu.

3.5. Quadrupole and multi-collector ICP-MS measurements

Concentrations of Cu and Th (used for the calculation of enrichment factors, see Section 3.6) in water samples and digestates were measured by Q-ICPMS on a Thermo X7 series II (ThermoScientific) at EPOC, Université de Bordeaux1. Working concentrations were at least 40 and 4000 times higher than the respective detection limits of 0.02 $\mu\text{g/L}$ for Cu_D and 0.001 $\mu\text{g/L}$ for Cu_P and Th_p. Samples that were measured in duplicate always agreed within less than 4% RSD for Cu_P and Th_p and 10% RSD for Cu_D . The accuracy of the analytical methodology (mineralization + analysis) was verified by parallel analyses of certified reference materials (MESS-2, NCSDC-317, SLRS-4 and SLRS-5). Particulate Cu concentrations measured in MESS-2 and NCS317 gave 42.1 $\mu\text{g/g}$ and 235 $\mu\text{g/g}$, respectively. Dissolved Cu concentrations measured in the SLRS-4 and SLRS-5 gave 1620 ± 30 ng/L ($n = 8$) and $16,400 \pm 90$ ng/L ($n = 6$), respectively. These measurements were always within 15% of the certified values and agreed with monthly quality-controls. Copper isotopic analyses were performed during two sessions on a Nu plasma 015 MC-ICP-MS (Nu Instruments) at G-Time (Université Libre de Bruxelles), following the methodology described in Petit et al. (2008b). Instrumental mass bias was corrected by sample standard bracketing and external normalization to a common Zn standard (Maréchal et al., 1999; Mason et al., 2004). The measurement of several Zn-normalized Cu isotope ratios allowed checking the consistency of $\delta^{65}\text{Cu}$ values and the absence of isobaric interferences affecting the analyte and the normalizing element (Petit et al., 2013). Samples were typically run at least in duplicate and bracketed by two standards. All Cu isotopic data reported in this study are expressed relative to the NIST SRM976 reference Cu standard. Average reproducibility (2 SD for n replicates, with $n \geq 2$) of samples measured during the first and second analytical sessions was $\delta^{65}\text{Cu} = 0.06$ and 0.08‰, respectively, which agreed with 0.06 and 0.07‰ obtained for the standards. A matrix-free Cu solution (Cu JMC310 from Alpha-Aesar) was used to verify the analytical repeatability over the two sessions and gave $\delta^{65}\text{Cu} = 0.96 \pm 0.02\%$ ($n = 4$) and $0.95 \pm 0.02\%$ ($n = 3$), similar to long-term average values of $1.00 \pm 0.05\%$ (Petit et al., 2008b). Replicates of the particulate sample T6 gave $\delta^{65}\text{Cu} = -0.27 \pm 0.06\%$ ($n = 4$) and $-0.25 \pm 0.03\%$ ($n = 4$), while replicates of dissolved sample T12 gave $-0.67 \pm 0.18\%$ ($n = 2$) and $-0.65 \pm 0.06\%$ ($n = 2$; Table 1). These quality control data indicate that the whole protocol (mineralization, ion-exchange chromatography and isotopic analyses) was repeatable and suggest that the main source of errors was related to the measurement rather than the chemistry.

3.6. Calculations

The fraction of particulate organic carbon (POC) due to phytoplankton, POC_φ , is calculated with the synthetic equation hereafter (Eq. (1), Etcheber et al., 2007)

$$\text{POC}_\varphi \left[\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \right] = \text{SPM} * \frac{\text{POC}}{100} * 1000 - \left(\left(\text{SPM} * \left(1 - \frac{\text{POM}}{100} \right) * \frac{\text{POC}_R}{100} \right) * 1000 \right) \quad (1)$$

where SPM is the suspended particulate matter concentration in mg/L, POM and POC_R are the particulate organic matter ($\text{POM} = 2 * \text{POC}$) and

the residual POC concentrations ($\text{POC}_R = 1.35\%$ typical value for the MTZ), respectively (Etcheber et al., 2007).

Typically showing grain-size dependence, particulate Cu concentrations (Cu_P) are commonly interpreted with enrichment factor EF_{Cu} (Eq. (2a)), obtained by normalizing Cu_P to Th_P (Coynel et al., 2007; Larosse et al., 2010), which is only related to geogenic sources. A regional background reference ratio $(\text{Cu}_P/\text{Th}_P)_{\text{bkg}}$ of 2.36 was chosen (Audry et al., 2004). “Geogenic” (Eq. (2b)) and “Excess” (Eq. (2c)) Cu concentrations, respectively Cu_G and Cu_E , are defined on the same principle. “Excess” Cu concentrations may result from natural or anthropogenic processes.

$$\text{EF}_{\text{Cu}} = \frac{\left(\frac{\text{Cu}_P}{\text{Th}_P} \right)}{\left(\frac{\text{Cu}_P}{\text{Th}_P} \right)_{\text{bkg}}} \quad (2a)$$

$$\text{Cu}_G = \left(\frac{\text{Cu}_P}{\text{Th}_P} \right)_{\text{bkg}} * \text{Th}_P \quad (2b)$$

$$\text{Cu}_E = \text{Cu}_P - \text{Cu}_G \quad (2c)$$

The Cu concentration in phytoplankton, Cu_φ , can be calculated from Eq. (3)

$$\text{Cu}_\varphi \left[\mu\text{mol/molC} \right] = \frac{\text{SPM} * \frac{\text{Cu}_P}{1000} - \left(\left(\text{SPM} * \left(1 - \frac{\text{POM}}{100} \right) * \frac{\text{Cu}_M}{1000} \right) * \frac{12.01}{63.55} \right)}{\text{POC}_\varphi * 1\text{E}(-6)} \quad (3)$$

where Cu_M is the average particulate Cu concentration in the MTZ.

The dissolved “Cu addition” at any point TX ($1 \leq X \leq 12$) of the profile is calculated by the difference between Cu_D concentrations measured at TX and at La Réole (LR). The “total Cu addition” refers to the difference obtained for T12 and LR. “Added Cu” corresponds to a step by step difference of Cu_D concentrations obtained from linear regression lines fitted to the data.

The Cu concentration of the mineralized organic matter, Cu_{OM} , can be calculated from Cu_D and POC concentrations at any point TX of the transect, according to Eq. (4), used in Masson et al. (2011).

$$\text{Cu}_{\text{OM}} \left[\mu\text{mol/molC} \right] = \left(\frac{\left(\text{Cu}_D^{\text{TX}} - \text{Cu}_D^{\text{LR}} \right)}{\left(\frac{\text{POC}^{\text{LR}} - \text{POC}^{\text{TX}}}{100} \right) * \text{SPM}^{\text{LR}}} \right) * \frac{12.01}{63.55} \quad (4)$$

The isotopic composition of total Cu ($\delta^{65}\text{Cu}_T$) is calculated using Eq. (5), involving parameters previously defined.

$$\delta^{65}\text{Cu}_T = \delta^{65}\text{Cu}_D * \left(\frac{\text{Cu}_D}{\text{Cu}_D + \text{Cu}_P * \text{SPM}} \right) + \delta^{65}\text{Cu}_P * \left(1 - \frac{\text{Cu}_D}{\text{Cu}_D + \text{Cu}_P * \text{SPM}} \right) \quad (5)$$

where $\delta^{65}\text{Cu}_D$ and $\delta^{65}\text{Cu}_P$ are the isotopic composition of Cu in the particulate and dissolved phases, respectively.

4. Results

Chemical, isotopic and environmental data for the longitudinal profile samples and the watershed samples are shown in Table 1, including additional data acquired during the monthly surveys at the La Réole site.

Table 1
Geochemical and Cu isotope data of the particulate and dissolved phases for samples from the watershed and samples from the La Réole-Bègles profile in the Garonne River, with relevant environmental variables. Errors are given as 2 SD based on “n” replicates.

Type	Localization	Particulate phase						Dissolved phase						Physicochemical data					
		Cup µg/g	Thp µg/g	EF _{Cu} EF _{Cu}	δ ⁶⁵ Cu _{6/4} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{6/4} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{8/7} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{8/7} ‰	n	CuD ng/L	n	δ ⁶⁵ Cu _{6/4} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{6/4} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{8/7} ‰	δ ⁶⁵ Cu _{8/7} ‰	n	SPM mg/L	POC %	O ₂ sat %
<i>Watershed samples</i>																			
Vineyard soils	Saint Estèphe	523	12.4	18	-0.28 ± 0.03	-0.33 ± 0.06		3											
	Cote de Bourg	115	9.0	5.4	-0.37 ± 0.06	-0.44 ± 0.06		2											
LOT surface sediment	Cajarc	42.5	14.9	1.2	-0.19 ± 0.01	-0.17 ± 0.08		2											
Gironde SPM (Salinity 15)	Pauillac	33.6	12.1	1.2	-0.22 ± 0.05	-0.27 ± 0.05		4											
Baise SPM (Upper Garonne river)	Nérac	49.7	n.d.		-0.19 ± 0.15	-0.22 ± 0.02		2											
Garonne SPM	La Réole																		
	December 2003	61.6	10.0	2.6	-0.2 ± 0.04	-0.23 ± 0.03		3											
	February 2003	44.1	n.d.		-0.22 ± 0.08	-0.31 ± 0.01		3											
	23/09/2011	101	n.d.						683						1.7		107	7.9	
	13/10/2011	133	9.0	6.2					733						7.0		106	8.3	
<i>Transect samples 27/09/2011</i>																			
T1	-58.5	181.3 ± 0.8	10.3 ± 0.1	7.5	-0.39 ± 0.04	-0.33 ± 0.01		4	815 ± 35	3	0.21 ± 0.10	0.27 ± 0.17		3	2.2	14.2	91	8.1	
T2	-55.3	111.7	11.8	4.0	-0.32 ± 0.12	-0.29 ± 0.14		4	914 ± 29	3	0.10 ± 0.05	0.02 ± 0.10		3	12.0	4.5	93	8.1	
T3	-50.4	45.3 ± 0.1	10.8 ± 0.3	1.8	-0.36 ± 0.01	-0.36 ± 0.05		4	956 ± 37	3	0.21 ± 0.06	0.26 ± 0.11		2	39.2	2.5	99	8.1	
T4	-46.4	35.1 ± 0.2	10.8 ± 0.5	1.4	-0.26 ± 0.05	-0.19 ± 0.12		4	1030 ± 30	2	0.20 ± 0.07	0.28 ± 0.10		2	413	1.6	91	8.0	
T5	-42.4	31.4 ± 0.1	11.6 ± 0.2	1.1	-0.15 ± 0.07	-0.17 ± 0.13		4	1050 ± 20	3	0.19 ± 0.02	0.26 ± 0.02		2	1170	1.6	88	7.9	
T6	-40.4	35.4	12.3	1.2	-0.27 ± 0.06	-0.27 ± 0.1		4	1110 ± 40	2	0.05 ± 0.05	0.11 ± 0.12		2	2120	1.6	82	7.9	
					-0.25 ± 0.03	-0.22 ± 0.13		4											
T7	-31.3	38.0	10.5	1.5	-0.17 ± 0.03	-0.11 ± 0.2		4	1170 ± 40	2	0.18 ± 0.09	0.23 ± 0.11		2	868	1.6	79	7.9	
T8	-23.0	36.4	11.5	1.3	-0.21 ± 0.11	-0.17 ± 0.21		4	1200 ± 40	2	0.06 ± 0.10	0.12 ± 0.16		2	1320	1.4	74	7.7	
T9	-17.0	36.5	9.9	1.6	n.d.	n.d.			1120 ± 30	2	n.d.	n.d.			1200	1.4	72	7.8	
T10	-12.1	34.7	10.0	1.5	n.d.	n.d.			1110 ± 50	2	-0.42 ± 0.07	-0.40 ± 0.12		2	3530	1.4	67	7.9	
T11	-9.5	34.7	12.0	1.2	-0.16 ± 0.07	-0.10 ± 0.14		4	1240 ± 30	2	-0.13 ± 0.11	-0.12 ± 0.17		3	1410	1.3	68	7.8	
T12	-6.0	34.5	10.9	1.3	-0.17 ± 0.02	-0.15 ± 0.2		4	1320 ± 30	2	-0.67 ± 0.18	-0.69 ± 0.07		2	1310	1.5	65	7.8	
											-0.65 ± 0.06	-0.58 ± 0.06		2					

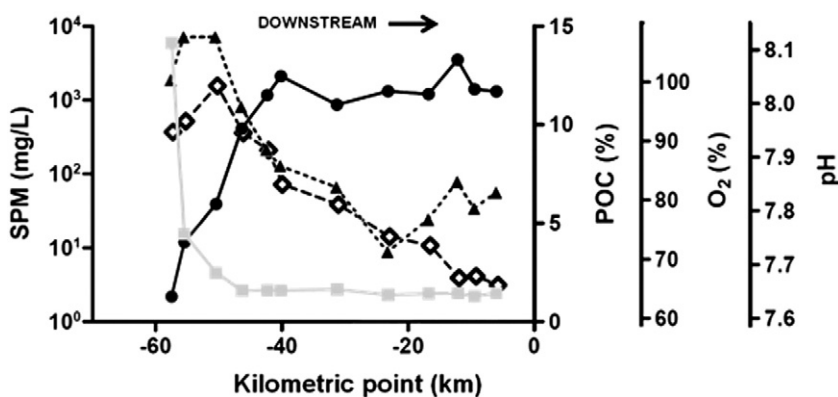


Fig. 2. Physicochemical parameters. SPM concentrations (dots), POC (squares), saturation in dissolved O₂ (diamonds) and pH (triangles) vs distance (kilometric point) values.

4.1. Physicochemical parameters

The SPM concentrations defined a sharp gradient with turbidities increasing from ~2 mg/L to ~1000 mg/L within a distance of 16 km only (Fig. 2). Turbidities within the MTZ were above 1600 mg/L in average but varied by factors 2–3 due to the naturally heterogeneous distribution of particles forming local turbid vortices in the fluvial estuary. The POC content decreased very sharply from ~14% for the less turbid sample to $1.5 \pm 0.1\%$ (1 SD) within the MTZ, similar to long-term and intra-seasonal values of the Gironde Estuary and representative of residual organic matter after degradation of labile fractions (Etcheber et al., 2007; Masson et al., 2011). For SPM concentrations lower than 40 mg/L; POC_f values increased from 300 at T1 to 475 µg/L at T3, representing from 93% of the POC at T1 to 49% at T3. Dissolved O₂ and pH reached 100% saturation and pH > 8 upstream from the MTZ and decreased rather continuously to 65% saturation and more acidic values of ~7.8 for pH in the MTZ. Suspended particulate matter, POC, dissolved O₂ concentrations and pH profiles were typical of a summer low freshwater discharge period in the fluvial Gironde Estuary (i.e. comparable to those in Masson et al., 2011).

4.2. Particulate Cu, Th and dissolved Cu concentrations

Soils, sediments and SPM from the Lot–Garonne–Gironde watershed showed $Cu_p = 46 \pm 10$ (1 SD) µg/g for all samples, except for the two Cu-contaminated soils, having higher Cu_p of 115 and 523 µg/g. In contrast, Th_p showed a lower range of variation from 10 to 15 µg/g. Along the profile, Cu_p decreased strongly from ~180 to ~45 µg/g at the onset of the turbidity gradient and reached a mean value of 35 ± 2 (1 SD) µg/g in the MTZ, while Th_p concentrations were constant along the whole profile with a mean value of 11 ± 1 (1 SD) µg/g. High Cu_p and Low Th_p concentrations measured on samples from the La Réole site were consistent with those from the profile (Table 1).

The comparison of on-board filtrations and filtrations performed in the lab from large volumes indicated that Cu_D concentrations were consistent, suggesting that transport, storage and handling effects were negligible. Dissolved Cu concentrations increased from ~800 ng/L (at T1) to ~1110 ng/L in the turbidity gradient (at T6) and reached ~1300 ng/L at T12 (Bègles). This increasing trend in Cu_D in the fluvial estuary was confirmed by the lowest values measured at the La Réole site (683 and 733 ng/L on September, 23 and October, 8, respectively) for the monthly surveys.

4.3. Cu stable isotope measurements and interference control

Residual amounts of matrix elements after a two-step purification could potentially produce isobaric interferences on Cu and Zn isotopes, and these could differ depending on the type of matrix. For particulate

samples, high amounts of residual Ti and Cr could form oxide and hydroxide species, while Mg and Na, forming argides in the plasma could be significant for dissolved samples. However, isobaric interferences on Cu and Zn isotopes from Ti (⁴⁸TiO on ⁶⁴Zn and ⁴⁸TiOH on ⁶⁵Cu), Cr (⁵²CrO on mass ⁶⁸Zn) and Mg (Ar²⁶Mg on ⁶⁶Zn and Ar²⁴Mg on ⁶⁴Zn) could be ruled out because $\delta^{65}Cu_{X/Y}$ values, obtained by external normalization with different $\delta^{65}Zn/\delta^{67}Zn$ isotope ratios were consistent (Petit et al., 2013). Indeed, all Cu isotope measurements fell on a linear array with a slope of 1 in a $\delta^{65}Cu_{6/4}$ vs. $\delta^{65}Cu_{8/7}$ plot (Fig. 3). Other potential isobaric interferences are not significant because their combination would also have produced isotopic data outside this trend. Interference from ²³NaAr on ⁶³Cu was addressed as follows: Cu isotopic measurements were acquired on a mixed Cu(Zn) standard solution spiked with 1 mg/L Na (with a Na/Cu ratio of 2, providing a ~2.3 V signal for ²³Na and ~1.5 V for ⁶³Cu) and suggested insignificant effect of Na with an inaccuracy of $\delta^{65}Cu_{6/4} = -0.01 \pm 0.04\%$ (2 SD, n = 3), as shown in Petit et al. (2008b). In samples purified from high total dissolved solids contents (e.g. T12), ²³Na ion beam intensities were checked and represented not more than ~20% of the ⁶³Cu ion beam intensity, which was less than the threshold of 1 mg/L for which no measurable effect occurred. These findings strongly suggested that isobaric interference of Ar²³Na on mass ⁶³Cu were insignificant.

The Cu isotopic compositions presented and discussed in the following sections correspond to $\delta^{65}Cu_{6/4}$ values (i.e. corrected by external normalization with the ⁶⁶Zn/⁶⁴Zn ratio). Isotopic compositions

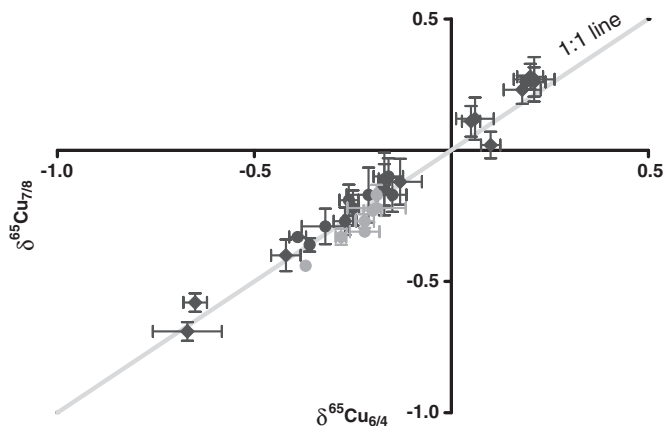


Fig. 3. Quality control for isobaric interferences. Cu isotopic compositions corrected by external normalization with the ⁶⁶Zn/⁶⁴Zn ratio against those corrected with the ⁶⁸Zn/⁶⁷Zn ratio, for dissolved (diamonds) and particulate (dots) Cu (black: longitudinal profile samples; gray: watershed samples). Error bars have a width of 2 SD.

of particulate Cu ($\delta^{65}\text{Cu}_p$) showed a smaller range of variation than those of dissolved Cu ($\delta^{65}\text{Cu}_d$) with variations of 0.24‰ (from -0.39 to -0.15 ‰) and 0.86‰ (from -0.66 to $+0.21$ ‰), respectively. All particulate Cu samples were depleted in heavy Cu isotope while dissolved Cu displayed mostly enrichments in heavy isotope of $\delta^{65}\text{Cu}_d = 0.12 \pm 0.08$ ‰ (1 SD), in average for T1 to T8; and a strong depletion towards the end of the profile (samples T10, T11 and T12). Particulate Cu showed contrasting isotopic compositions along the longitudinal profile: (1) depletion in heavy isotope with a mean of $\delta^{65}\text{Cu}_p = -0.36 \pm 0.03$ ‰ (1 SD, $n = 3$) at the onset of the turbidity gradient (sample T1, T2 and T3) and (2) an increase towards heavier and constant values in the MTZ with $\delta^{65}\text{Cu}_p = -0.20 \pm 0.05$ ‰ (1 SD, $n = 7$), in average. Watershed samples can also be divided in two groups: a first group encompassing all riverborne particulate materials (SPM and surface sediments, at different locations), displaying Cu isotope compositions of $\delta^{65}\text{Cu}_p = -0.20 \pm 0.02$ ‰ (1 SD, $n = 5$) and a second group consisting of the two Cu contaminated vineyard soils with lighter isotopic compositions of $\delta^{65}\text{Cu}_p = -0.37$ ‰ and -0.28 ‰.

5. Discussion

5.1. Anthropogenic vs natural Cu enrichment in particles

In the La Réole-to-Bègles profile, Cu_p concentrations were high in the less turbid waters and reach lower and constant values in the MTZ. In contrast, Th_p concentrations (i.e. a proxy for grain size in this system, Larrose et al., 2010) were constant in the whole profile, indicating that changes in Cu_p were not related to grain-size variations (Table 1). As a result, the relative amount of Cu_E and EF_{Cu} showed very abrupt decreases from ~90% ($\text{EF}_{\text{Cu}} = 7$ at T1) to 40% ($\text{EF}_{\text{Cu}} = 1.8$ at T3) upstream

from the MTZ and reached $23 \pm 11\%$ ($\text{EF}_{\text{Cu}} = 1.2 \pm 0.2$) in the MTZ (mean ± 1 SD), i.e. values close to the geochemical background. Such high EF_{Cu} , as observed in the upstream part of the profile, may arise from two processes: (1) anthropogenic inputs and (2) absorption by phytoplankton, or a combination of both.

High EF_{Cu} in suspended sediments from rivers draining vineyard areas are commonly interpreted as reflecting anthropogenic contamination by runoff from soils amended with Cu fungicides (Brun et al., 1998; Pietrzak and McPhail, 2004; Masson et al., 2006). Enrichment factors up to 18 have been observed for Cu-contaminated soils (Table 1), but the physical erosion of such soils and the lateral Cu_p fluxes (e.g. from the Ciron or the Dropt Rivers, see Fig. 1) in this section of the Garonne Branch should be negligible due to the long lasting lack of rain during low freshwater discharge periods. However, discharge of potentially contaminated surface aquifers directly into the Garonne River is probably a more relevant pathway of Cu contamination in the environmental context of the study.

The evolution of physicochemical properties (SPM, POC, pH, O_2 , see Fig. 2) along the La Réole-to-Bègles profile is consistent with the production and the mineralization of organic matter in the water column. At the onset of the turbidity gradient, where SPM concentrations are less than 40 mg/L, high POC (up to 14% for T1), high dissolved oxygen (100% saturation at T3) and high pH values (up to 8.1 at T3) are consistent with the intense production of autochthonous organic matter (Etcheber et al., 2007), with POC_ϕ representing between 92% of the total POC at T1 to 43% at T3. The very abrupt decrease in POC concentrations by physical mixing with particles from the MTZ indicates that primary production is suddenly inhibited by the drop in light availability. The regular decreases of dissolved O_2 and pH suggest a more progressive mineralization of dissolved/colloidal organic matter in the profile.

The similarity of Cu_p and POC longitudinal profiles suggests that Cu is bound to autochthonous organic matter, as commonly observed in oceanic, coastal and river systems (Monterroso et al., 2003; Rossi and Jamet, 2008; Semeniuk et al., 2009). Indeed, the linear relationship between Cu_E/Cu and $\text{POC}_\phi/\text{POC}$ (Fig. 4A) in the La Réole-to-Bègles profile suggests that Cu enrichments are consistent with uptake by phytoplankton. This relationship is not biased because Cu_p and POC concentrations are not related to grain size variations. Assuming a Cu concentration of 35.2 $\mu\text{g/g}$ (average value in the MTZ) for the mineral fraction of SPM, the Cu concentration in phytoplankton, Cu_ϕ , is estimated from Eq. (3) at an average of 291 ± 152 (1 SD) $\mu\text{molCu/molC}$ (mole of carbon) upstream from the turbidity gradient (averages for T1, T2 and T3), which is consistent with other published values (e.g. Rossi and Jamet, 2008; Semeniuk et al., 2009).

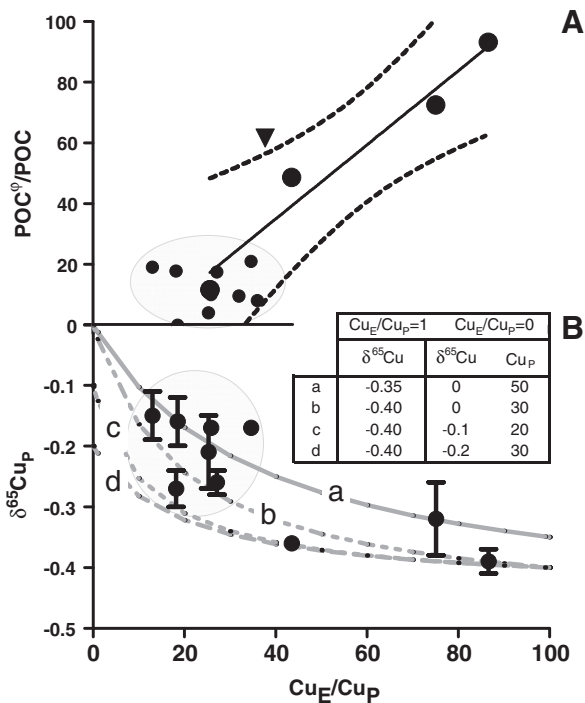


Fig. 4. Cu isotopes and enrichment factors. (A) Relative amount of phytoplanktonic POC ($\text{POC}_\phi/\text{POC}$) and (B) isotopic composition of particulate Cu ($\delta^{65}\text{Cu}_p$) vs. the relative Cu excess (Cu_E/Cu_p) in the fluvial estuary (dots). The patterned area represents the MTZ. For (A): additional data (triangle) from La Réole in 2005 (Masson et al., 2011). The regression line and 95% confidence interval are fitted to 4 points including the average value (large dots) of samples from the MTZ, represented by small dots. For (B): the different gray lines correspond to two-component mixing hyperbolas providing realistic envelopes a, b, c and d (parameters shown in inset, a value of 188 $\mu\text{g/g}$ was chosen for all scenarios at $\text{Cu}_E/\text{Cu}_p = 1$). Error bars have a width of 2 SD.

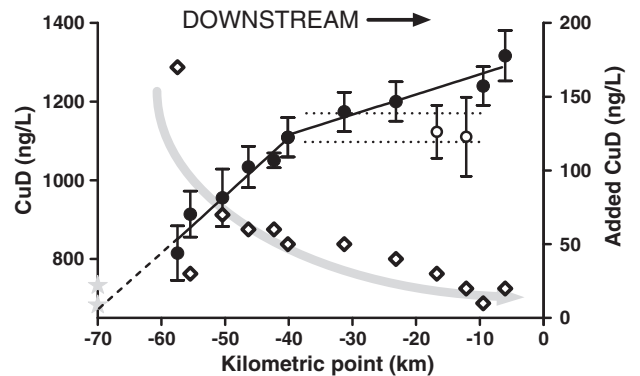


Fig. 5. Addition of Cu_p . Evolution of Cu_D concentrations (dots) in the Garonne Branch and Cu_D data at the La Réole site (KP = -70, stars). The continuous lines are linear regressions used to calculate added Cu_D concentrations (diamonds). Two values (circles) are omitted from the second regression. The dashed line is the extrapolation of the linear regression towards the La Réole site. The dotted line corresponds to the Cu_D concentration plateau (see text for explanations). Error bars are 2 SD for n replicates (Table 1).

5.2. Dissolved Cu addition in the Garonne Branch

Masson et al. (2011) demonstrated that organic matter mineralization in fluvial Gironde Estuary results in the increase of humification index and is accompanied by the addition of Cu_D . Our results support this interpretation by the rather continuous increase of Cu_D from the La Réole site ($683 \text{ ng/L} < \text{Cu}_D < 733 \text{ ng/L}$) to T6 ($\text{Cu}_D = 1110 \text{ ng/L}$), following a linear relationship with distance (Fig. 5). The Cu_D profile shows an inflection at kilometric point $\approx -40 \text{ km}$, followed (1) by a second linear relationship with distance (i.e. not accounting for T9 and T10) or (2) by a plateau (from T6 to T10) and a final increase (T11 and T12) near Bordeaux, attributed to wastewater treatment plant effluents. For the first case, the whole profile exhibits stepwise decreasing amounts of Cu_D added with distance, varying from $\sim 170 \text{ ng/L}$ at T1 to $\sim 20 \text{ ng/L}$ at T12 (see Fig. 5). This evolution of Cu_D concentrations suggests that organic matter is progressively mineralized and becomes enriched in refractory components, indicating that the release of Cu towards the dissolved phase by the mineralization of organic matter is driven towards completion in the MTZ. The related total Cu_D addition (difference between Cu_D concentrations at La Réole and T12 sites) of 587 to 637 ng/L corresponds to the mineralization of a particulate organic matter with Cu_{OM} of 389 to 422 $\mu\text{molCu/molC}$, calculated from Eq. (4) (after Masson et al., 2011).

The Cu concentrations of the mineralized organic matter, Cu_{OM} , and the phytoplankton, Cu_ϕ (see Section 5.1) are in very good agreement accounting for the different timescales and transiency of biogeochemical processes involved in this very dynamic fluvial estuary. Moreover, compared to the 2005 data (Masson et al., 2011), the lower Cu_D concentrations upstream from the turbidity gradient are consistent with the higher Cu_P and POC_ϕ , sustaining again the role of phytoplankton in the uptake of dissolved Cu upstream from the turbidity gradient. These data support the idea that the addition of Cu_D in the turbidity gradient and MTZ originates mainly from phytoplankton degradation, i.e. discharges of Cu_D from contaminated surface aquifers are not mandatory to explain the observed Cu_D concentration profile.

However, wastewater treatment plant effluents probably contribute to high concentrations observed at T11 and T12 (Deycard et al., unpublished results). Local wastewater discharges and Cu_D concentrations of 1.5 to 3 m^3/s and 6700 ng/L near the Bègles site combined with a freshwater discharge as low as 113 m^3/s (daily value) and 708 ng/L (average at La Réole station, see Table 1) may explain ~ 10 to

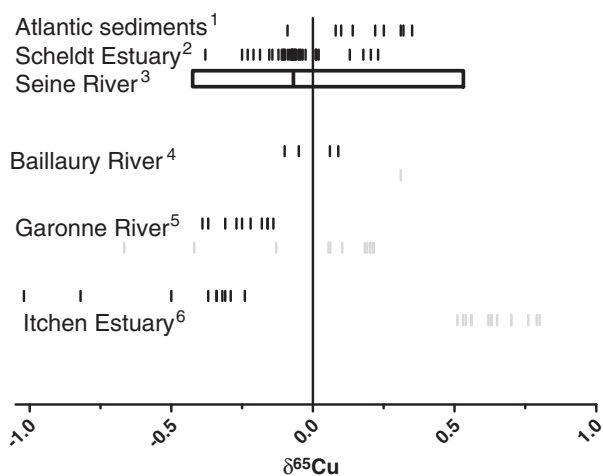


Fig. 6. Compilation of Cu isotope data. Sedimentary materials (SPM and sediments) and corresponding dissolved phase of river samples from (1) Maréchal et al. (1999); (2) Petit et al. (2008a, 2008b, 2013); (3) Chen et al. (2008), given as average, minimum and maximum values of the dataset; (4) El Azzi et al. (2013); (5) this study; and (6) Vance et al. (2008). Black: particulate Cu; gray: dissolved Cu.

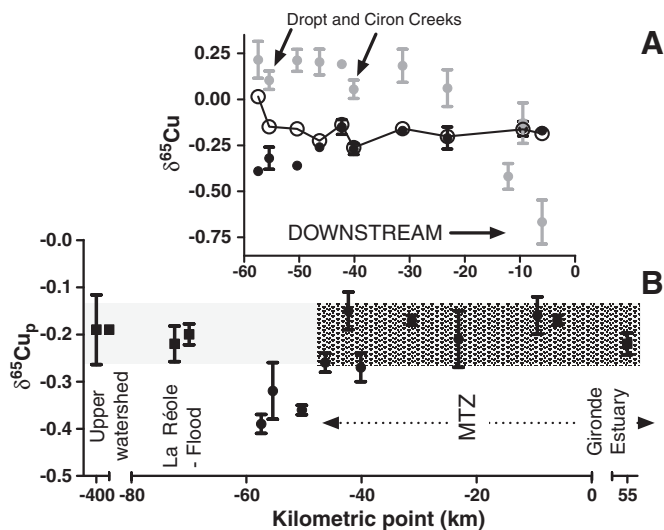


Fig. 7. Cu isotope data. (A) Cu_P (black dots), Cu_D (gray dots) and Cu_T (circles) isotopic compositions in the Garonne Branch. (B) Cu_P isotope data in the Garonne-Gironde Continuum and Watershed. Upper watershed kilometric point values are indicative. The gray area represents the Cu isotope composition of geogenic materials. The patterned area indicates the localization of the MTZ. Error bars have a width of 2 SD.

20% of Cu_D concentrations in the Garonne Branch. This estimate is consistent with the difference between 1280 ng/L (average of T11 and T12) and 1140 $\pm 40 \text{ ng/L}$ (average of samples T6 to T10 $\pm 1 \text{ SD}$). Using this average value, the Cu_{OM} concentration is re-estimated between 270 and 305 $\mu\text{molCu/molC}$ (Eq. (4)), closer to the previous estimate of Cu_ϕ . According to this mass balance the two parts of the Cu_D profile were attributed to two processes of the degradation of organic matter (LR-T10) and Bordeaux wastewater treatment plant effluents (T11-T12).

5.3. Insights from Cu isotopes

5.3.1. Comparison with existing data

Particles in the Garonne Branch exhibit a clearly smaller enrichment in light isotopes ($\delta^{65}\text{Cu}_P = -0.26 \pm 0.09$ (1 SD) in average) compared to those in the Itchen Estuary ($\delta^{65}\text{Cu}_P = -0.48 \pm 0.21$ (1 SD) in average). However, the Garonne Branch data are closer to other sedimentary materials such as SPM and sediments of the Seine River (Chen et al., 2008), the Scheldt Estuary (Petit et al., 2008a, 2008b, 2013), the Baillaury River, a small Mediterranean catchment (El Azzi et al., 2013) as well as the Atlantic Ocean (Maréchal et al., 1999), as seen in Fig. 6. Current Cu isotopic data show that it is difficult to draw a general picture for sedimentary materials, although small variations around 0‰ should be expected most of the time. Dissolved Cu displayed positive $\delta^{65}\text{Cu}_D$ values with the exceptions of T10, T11 and T12 showing stronger depletion in heavy Cu isotope (Fig. 7A). This is roughly consistent with the view that chemical equilibrium in surface environments promotes heavy Cu isotopes in solution (Vance et al., 2008), interpreted by the presence of strong binding dissolved organic ligands. Accounting for the above exceptions, dissolved Cu isotope data in the Garonne River (average $\delta^{65}\text{Cu}_D = 0.12 \pm 0.07$, 1 SD) differ also from those of the Itchen Estuary $\delta^{65}\text{Cu}_D = 0.63 \pm 0.09$. The mean absolute difference between $\delta^{65}\text{Cu}_D$ and $\delta^{65}\text{Cu}_P$ values of $\sim 0.38\%$ obtained for the Garonne River is lower than $\sim 1.1\%$ for the Itchen Estuary, but much closer to $\sim 0.22\%$ measured for the Baillaury River (El Azzi et al., 2013). The isotopic composition of total Cu ($\delta^{65}\text{Cu}_T$, Eq. (5)) exhibits mostly a constant value of $\delta^{65}\text{Cu}_T = -0.16 \pm 0.07\%$ (1 SD) along the Garonne Branch (Fig. 7A), i.e. lighter than $\delta^{65}\text{Cu}_T = 0.14 \pm 0.17\%$ for the salinity gradient in the Itchen Estuary (Vance et al., 2008). Such differences are hard to interpret but may be related to (1) the higher proportion of

particulate Cu, due to much higher SPM concentrations in the Garonne Branch; (2) possible different regional geogenic signatures and/or (3) differences in analytical protocols for the recovery of particulate Cu (e.g. leaching vs bulk mineralization, filtration cut-off, sampling strategy, etc.).

5.3.2. Particulate Cu isotopes

5.3.2.1. Evidences for transient Cu isotope signatures. All particulate samples from the watershed (with the exception of the two soil samples) shown in Fig. 7B display Cu isotopic compositions not statistically different from those in the MTZ (Mann–Whitney U test with $p = 0.8 > 0.05$), as well as low Cu concentrations and EF_{Cu} . The similar Cu isotopic signatures from (I) the Pyrenean Mountains (SPM sample from the Baïse River at Nérac and SPM sampled at La Réole, attributed to a flood from the Garonne River in February 2003) and (II) the Massif Central (Lot River surface sediment and SPM sampled at La Réole, attributed to a flood from the Lot river in December 2003); suggest that a $\delta^{65}Cu_p \approx -0.2\text{‰}$ can be defined for the regional background (i.e. the “geogenic” source component). The potential reactivity of Cu_p in the MTZ and brackish waters more downstream in the estuary (up to salinity 15) does not modify $\delta^{65}Cu_p$ signatures.

In contrast, $\delta^{65}Cu_p$ values upstream from the turbidity gradient (samples T1 to T3 with SPM < 40 mg/L) show enrichments in light Cu isotope by $\sim 0.16\text{‰}$ compared to the heavier Cu isotopic composition in the MTZ (Fig. 7B). Although small, this difference is both statistically meaningful (Mann–Whitney U -test with $p = 0.01 < 0.05$) and significant with respect to the analytical errors.

Therefore, Cu isotopic compositions and concentrations at the La Réole site exhibit transient behaviors with respect to freshwater and/or SPM fluxes. In flood periods, Cu_p concentrations are low and $\delta^{65}Cu_p$ values show a geogenic signature. In contrast, when the freshwater discharge is low, more negative $\delta^{65}Cu_p$ values and higher Cu_p concentrations occur upstream from the turbidity gradient. The physical mixing of particles in the La Réole-to-Bègles longitudinal profile is consistent, with different 2-component mixing scenarios (Fig. 4B) when using the Cu_E/Cu_p ratio as the master variable.

As discussed above, this Cu enrichment in suspended particles may originate from two processes that arise simultaneously in the environmental context of the sampling: (1) from anthropogenic inputs related to the use of Cu sulfate fungicides in the vineyards surrounding the fluvial–estuarine system (2) through biological uptake of dissolved Cu by the phytoplankton, or both.

5.3.2.2. Anthropogenic inputs. The possible contribution of Cu sulfate fungicides upstream from the turbidity gradient (hypothesis 2) is consistent with both high enrichment factors and clearly more negative Cu signatures in the two vineyard soils ($\delta^{65}Cu_p = -0.37\text{‰}$ and -0.28‰). Similar light Cu isotope signatures have been observed for Cu-based pesticides ($\delta^{65}Cu = -0.35\text{‰}$; El Azzi et al., 2013) and Cu contaminated floodplain sediments of the Seine River (Chen et al., 2008). Despite our yet limited understanding on Cu_D fluxes and processes at the aquifer/river interface in the Garonne Branch, the reaction paths must be accompanied by very small fractionation factors in order to transpose the Cu isotopic signature of contaminated soils to those of SPM via the dissolved phase.

5.3.2.3. Uptake by phytoplankton. The three samples showing Cu enrichment and high POC due to phytoplankton are also those enriched in light Cu isotopes (Fig. 4A). To date, direct field evidence for the preferential uptake of light Cu isotopes by phytoplankton (hypothesis 1) is lacking in the scientific literature. Experimental approaches suggested that Cu uptake by different diatom species favored light isotopes in most of the cases, but the isotopic shifts were small and within the error of isotopic measurements (Pokrovsky et al., 2008). This lack of data contrasts with the understanding of Cu isotopic

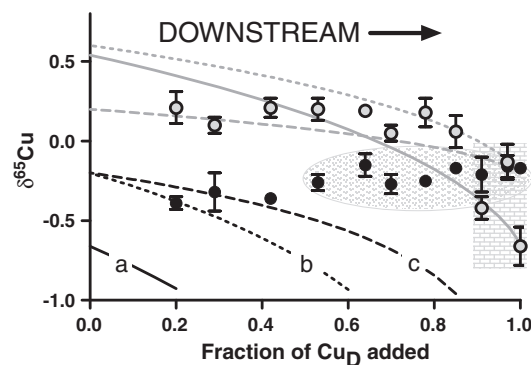


Fig. 8. Rayleigh Model. Measured (dots) and modeled (lines) $\delta^{65}Cu_D$ (gray) and $\delta^{65}Cu_p$ (black) values as a function of the relative amount of Cu_D added in the Garonne Branch from La Réole to Bègles sites (see Fig. 5). Modeled Cu isotopic compositions are obtained with the following set of parameters for α_{D-P} and initial $\delta^{65}Cu_p$: (a) 1.0012, -0.66‰ ; (b) 1.00080, -0.2‰ and (c) 1.00040, -0.2‰ . Error bars are 2 SD. The patterned areas correspond to the MTZ (v-marks) and dissolved samples potentially influenced by wastewater treatment plant effluents (brick-marks).

fractionation mechanisms by bacteria showing enrichment in the heavy Cu isotope in extracellular precipitates (Mathur et al., 2005; Kimball et al., 2009; Navarrete et al., 2011) but light Cu isotopes within the cell membrane (Navarrete et al., 2011; Pokrovsky et al., 2008). This duality was evidenced for the assimilation of Zn isotopes by phytoplankton (John et al., 2007) and may explain the inconsistent behavior of Zn isotopes observed in field data showing directly the effect of phytoplankton on Zn isotope fractionation (Maréchal et al., 2000; Cloquet et al., 2008).

Alternatively (combination of hypotheses 1 and 2), the light isotopic signature of Cu-based fungicides, which are the most likely source of bioavailable Cu in this area (Masson et al., 2011) may be transposed to phytoplankton without significant biologically driven isotopic fractionation (Pokrovsky et al., 2008).

Although it remains unclear whether Cu isotope biosignatures are actively or passively acquired during primary production, consistent Cu_ϕ and Cu_{OM} values (calculated from Eqs. (3) and (4), respectively) strongly suggest that the uptake of Cu by the phytoplankton upstream from the MTZ and the release of Cu by the degradation of organic matter in the turbidity gradient and MTZ are closely related in the system.

5.3.3. Dissolved Cu isotopes

5.3.3.1. Biogeochemical reactivity. The good agreement between Cu_{OM} and Cu_ϕ values and the evolution of Cu_D with distance, as described in Section 5.2 suggest that organic matter mineralization and Cu_D addition are driven towards completion in the profile. Based on Masson et al. (2011), the release of Cu occurs essentially in the truly dissolved fraction ($<0.02 \mu m$), whereas Cu bound to colloidal dissolved organic ligands ($0.02\text{--}0.2 \mu m$) exhibit constant concentrations in the profile. This suggests that a dynamic equilibrium is established between the mineralization and the production of dissolved organic ligands from reactive particulate organic matter. Consequently, the Cu_D addition may proceed by the release of Cu bound to dissolved organic ligands followed by its conversion as free Cu ion when they are mineralized as CO_2 . In this process, the degradation of organic matter involved in Cu_D addition is driven towards completion by the export of CO_2 to the atmosphere, suggesting that a Rayleigh process may account for the evolution of Cu_D isotope signatures and contribute to the strong enrichment in light isotopes at the end of the profile. We have tested this hypothesis (Fig. 8), assuming that each sampling site in the river is a step in the advancement of the reaction described above and is complete at T12. Then, the cumulative amount of Cu_D added stepwisely can be used as the master variable of the Rayleigh equation. Heavy

$\delta^{65}\text{Cu}_D$ values in most of the profile are consistent with the presence of strong dissolved organic ligands, favoring the transfer of heavy isotopes in solution (Vance et al., 2008) from a pool of “labile” Cu_P becoming progressively more enriched in light Cu isotope as the reaction proceeds. This “labile” Cu_P pool is very small (between ~0.02% in the MTZ and ~10% near La Réole) compared to the amount of particulate Cu, indicating that changes in the isotopic composition of Cu_P due to the mineralization of reactive organic matter are masked by the isotopic signature of geogenic Cu, dominant in particles of the MTZ.

Using different parameters (initial $\delta^{65}\text{Cu}_P$ and fractionation factors α_{D-P}), Rayleigh models provide reasonable qualitative fitting with the data. This seems satisfactory accounting for the highly dynamical behavior of the system and possible kinetic-related differences from chemical and isotopic equilibrium conditions.

5.3.3.2. Anthropogenic inputs. The alternative explanation for higher Cu_D concentrations observed at T11 and T12 (Fig. 5) compared to those from the MTZ suggested the influence of wastewater treatment plant effluents accounting for a ~10 to 20% increase in Cu_D concentrations (see Section 5.2). Considering an average $\delta^{65}\text{Cu}_D = 0.12\text{‰}$ for the MTZ, mass balance calculations suggest that the dissolved phase of urban treated wastewaters should have a Cu isotopic signature as low as -3.8 to -7.6‰ to explain the signatures observed at T12. Although no current scientific data support these extremely light Cu anthropogenic signatures, they are in the range of measured values for Cu isotopes (Gale et al., 1999). Although this explanation seems suitable to explain the data, one cannot exclude that the biogeochemical reactivity of Cu as described above may also contribute to the light $\delta^{65}\text{Cu}_D$ signatures observed in the Garonne Branch.

Furthermore, the relatively light dissolved Cu isotope signatures in two samples (T2 and T6) from the confluences of the Dropt and Ciron Creeks, respectively (see Figs. 1 and 7A), support the idea of anthropogenic sources with light Cu signatures. Both creeks drain small watersheds with intense wine farming. Although there is no change in Cu_D concentration in the Garonne Branch at these sites due to the mixing proportions, the local dissolved isotopic data near these confluences clearly support the idea that creeks draining vineyards have much lighter Cu isotopic signatures, reflecting an anthropogenic signal.

6. Conclusions

This is the first dataset on particulate and dissolved Cu stable isotopes in a major fluvial estuary characterized by strong biogeochemical reactivity and anthropogenic contamination. The data show strong genetic links between phytoplankton activity, Cu_P enrichment, mineralization of organic matter and non-conservative addition of Cu_D .

The study provides also the first field evidence for transient (flood vs. low freshwater discharge samples) Cu isotopes (bio)signatures related either to the uptake of light Cu isotopes by phytoplankton or anthropogenic contamination. The resulting isotopic compositions, lighter by $\delta^{65}\text{Cu} = 0.16\text{‰}$ compared to a typical geogenic value of $\delta^{65}\text{Cu} = -0.20\text{‰}$, may originate from an active isotopic fractionation by phytoplankton and/or the transposition of Cu isotope signature from Cu-based fungicides, also likely enriched in light Cu isotope (down to $\delta^{65}\text{Cu} = -0.37\text{‰}$ for vineyard soils). The evolutions of Cu_P isotopes and concentrations in the Garonne Branch of the fluvial Gironde Estuary are consistent with two-component mixing scenarios.

The mineralization of organic matter results in a continuous non-conservative Cu_D addition, associated with heavy Cu isotopic compositions (up to $\delta^{65}\text{Cu} = +0.21\text{‰}$). This biogeochemical reaction goes towards completion in the MTZ. A very late stage of organic matter mineralization, roughly following a Rayleigh process, was explored to interpret isotopic signatures as negative as $\delta^{65}\text{Cu}_D = -0.66\text{‰}$. However, a contribution of 10–20% from wastewater treatment plant effluents of Bordeaux City to the observed Cu_D concentrations in the

river may also explain these very light Cu_D isotopic compositions. In this case, the signatures of this source should be as light as $\delta^{65}\text{Cu}_D = -3.8$ to -7.6‰ , which is yet to be elucidated.

As a whole, particulate and dissolved Cu isotopes suggest that both anthropogenic Cu related to viticulture or urban wastewaters and biogeochemical reactivity of Cu (uptake by phytoplankton and release by the mineralization of organic matter) may result in light Cu isotope signatures. Therefore, additional work is necessary to confirm the active or passive isotope fractionation of Cu by phytoplankton and/or characterize Cu isotope signatures in urban effluents and vineyard drains. Owing to the very dynamical behavior of such systems, a higher resolution sampling is probably necessary to improve the understanding on the biogeochemical reactivity of Cu isotopes and provide a better assessment of their promising potential to discriminate natural and anthropogenic processes in complex natural systems.

Acknowledgments

This study was funded by a regional grant (Bourse Région #2101205009) in the frame of the GAGILAU/PERIMETRE project and by the Marie Curie Individual Fellowship (FP7-PEOPLE-2011-IEF #302505 ISOGIRE). Dr. Henri Etcheber and Laureline Gorse are acknowledged for their supervision on the LECO carbon analyzer. The authors are greatly appreciative for the constructive reviews from Pr. D. Borrok and an anonymous reviewer.

References

- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot–Garonne fluvial system (France). *Appl. Geochem.* 19, 769–786.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Chaillou, G., Robert, S., 2006. Early diagenesis of trace metals (Cd, Cu, Co, Ni, U, Mo, and V) in the freshwater reaches of a macrotidal estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 2264–2282.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guérin, F., Masson, M., Robert, S., 2007. Budgets of Mn, Cd and Cu in the macrotidal Gironde estuary (SW France). *Mar. Chem.* 107, 433–448.
- Balistrieri, L.S., Borrok, D.M., Wanty, R.B., Ridley, W.I., 2008. Fractionation of Cu and Zn isotopes during adsorption onto amorphous Fe(III) oxyhydroxide: experimental mixing of acid rock drainage and ambient river water. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 311–328.
- Bigalke, M., Weyer, S., Kobza, J., Wilcke, W., 2010. Stable Cu and Zn isotope ratios as tracers of sources and transport of Cu and Zn in contaminated soil. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 6801–6813.
- Bigalke, M., Weyer, S., Wilcke, W., 2011. Stable Cu isotope fractionation in soils during oxic weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 3119–3134.
- Brun, L., Maillet, J., Richarte, J., Herrmann, P., Remy, J., 1998. Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environ. Pollut.* 102, 151–161.
- Chen, J.-B., Gaillardet, J., Louvat, P., 2008. Multi-isotopic (Zn, Cu) approach for anthropogenic contamination of suspended sediments of the Seine River, France. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72 (12S), A155.
- Cloquet, C., Carignan, J., Lehmann, M.F., Vanhaecke, F., 2008. Variation in the isotopic composition of zinc in the natural environment and the use of zinc isotopes in biogeosciences: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 390, 451–463.
- Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloids transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Appl. Geochem.* 22, 821–836.
- de Jong, J., Schoemann, V., Tison, J.-L., Becquevort, S., Masson, F., Lannuzel, D., Petit, J., Chou, L., Weis, D., Mattielli, N., 2007. Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS). *Anal. Chim. Acta.* 589, 105–119.
- de Oliveira-Filho, E.C., Lopes, R.M., Paumgarten, F.J.R., 2004. Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. *Chemosphere* 56, 369–374.
- Deycard, V.N., Schäfer, J., Blanc, G., Coynel, A., Lancelot, L., Petit, J.C.J., Bossy, C., Ventura A., unpublished results. Contribution of urban wastewater inputs to metal (Ag, As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Zn) fluxes in the fluvial Gironde estuary (Garonne Branch).
- El Azzi, D., Viers, J., Guirresse, M., Probst, A., Aubert, D., Caparros, J., Charles, F., Guizien, K., Probst, J.L., 2013. Origin and fate of copper in a small Mediterranean vineyard catchment: new insights from combined chemical extraction and $\delta^{65}\text{Cu}$ isotopic composition. *Sci. Total Environ.* 463–464, 91–101.
- 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.
- Fernández-Calviño, D., Rodríguez-Suárez, J.A., López-Periágo, E., Arias-Estévez, M., Simal-Gándara, J., 2008. Copper content of soils and river sediments in a winegrowing area, and its distribution among soil or sediment components. *Geoderma* 145, 91–97.

- Gale, N.H., Woodhead, A.P., Stos-Gale, Z.A., Walder, A., 1999. Natural variations detected in the isotopic composition of copper: possible applications to archaeology and geochemistry. *Int. J. Mass Spectrom.* 184, 1–9.
- Gerringa, L.J., Hummel, H., Moerdijk-Poortvliet, T.C.W., 1998. Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelde and Westerschelde, Netherlands. *J. Sea Res.* 40, 193–203.
- Iliina, S.M., Viers, J., Lapitsky, S.A., Mialle, S., Mavromatis, V., Chmeleff, J., Brunet, P., Alekhin, Y.V., Isnard, 2013. Stable (Cu, Mg) and radiogenic (Sr, Nd) isotope fractionation in colloids of boreal organic-rich waters. *Chem. Geol.* 342, 63–75.
- Jarvie, H., Neal, C., Tappin, A., Burton, J., Harrow, M., Hill, L., Neal, M., 2000. The water quality of the River Trent: from the lower non-tidal reaches to the freshwater tidal zone. *Sci. Total Environ.* 251–252, 335–367.
- John, S., Geis, R., Saito, M., Boyle, E., 2007. Zinc isotope fractionation during high-affinity and low-affinity zinc transport by the marine diatom *Thalassiosira oceanica*. *Limnol. Oceanogr.* 52, 2710–2714.
- Kimball, B.E., Mathur, R., Dohnalkova, C., Wall, J., Runkel, R.L., Brantley, S.L., 2009. Copper isotope fractionation in acid mine drainage. *Geochim. Cosmochim. Acta* 73, 1247–1263.
- Lancelot, L., Schäfer, J., Bossy, C., Coynel, A., Larrose, A., Masson, M., Blanc, G., 2011. Silver fluxes to the Gironde Estuary – eleven years (1999–2009) of monitoring at the watershed scale. *Appl. Geochem.* 26, 797–808.
- Larrose, A., Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Massé, L., Maneux, E., 2010. Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. *Appl. Geochem.* 25 (12), 1912–1923.
- Maréchal, C., Télouk, P., Albarède, F., 1999. Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry. *Chem. Geol.* 156, 251–273.
- Maréchal, C.N., Nicolas, E., Douchet, C., Albaredé, F., 2000. Abundance of zinc isotopes as a marine biogeochemical tracer. *Geochem. Geophys. Geosyst.* 1 (1999GC000029).
- Mason, T.F.D., 2003. High-precision Transition Metal Isotope Analysis by Plasma-source Mass Spectrometry and Implications for Low Temperature Geochemistry. (Ph.D. Thesis) University of London, London (287 pp.).
- Mason, T.F.D., Weiss, D.J., Horstwood, M., Parrish, R.R., Russell, S.S., Coles, B.J., 2004. High-precision Cu and Zn isotope analysis by plasma source mass spectrometry. Part 1. Spectral interferences and their correction. *J. Anal. At. Spectrom.* 19, 209–217.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Sci. Total Environ.* 370, 133–146.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., Parlanti, E., Le Coustumer, P., 2011. Copper addition by organic matter degradation in the freshwater reaches of a turbid estuary. *Sci. Total Environ.* 409, 1539–1549.
- Mathur, R., Ruiz, J., Tittley, S., Liermann, L., Buss, H., Brantley, S., 2005. Cu isotopic fractionation in the supergene environment with and without bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, 5233–5246.
- Monterroso, P., Abreu, S., Pereira, E., Vale, C., Duarte, A., 2003. Estimation of Cu, Cd and Hg transported by plankton from a contaminated area (Ria de Aveiro). *Acta Oecol.* 24, S351–S357.
- Navarrete, J.U., Borrok, D.M., Viveros, M., Ellzey, J.T., 2011. Copper isotope fractionation during surface adsorption and intracellular incorporation by bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 784–799.
- Petit, J., Tailleux, A., Verheyden, S., Chou, L., Mattielli, N., 2008a. Cu and Zn isotopic changes from 1972 to present in the Scheldt estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72 (12S), A739.
- Petit, J.C.J., de Jong, J., Chou, L., Mattielli, N., 2008b. Development of Cu and Zn isotope MC-ICP-MS measurements: application to suspended particulate matter and sediments from the Scheldt estuary. *Geostand. Geoanal. Res.* 32, 149–166.
- Petit, J.C.J., Bouezmami, M., Roevros, N., Chou, L., 2009. The use of acidimetric titration as a novel approach to study particulate trace metal speciation and mobility: application to sediments of the Scheldt estuary. *Appl. Geochem.* 24, 1875–1888.
- Petit, J.C.J., Tailleux, A., Mattielli, N., 2013. A case study of spectral and non-spectral interferences on copper isotope measurements by multi-collector ICP-MS (wet plasma). *Geostand. Geoanal. Res.* <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-908x.2012.00187.x>.
- Pietrzak, U., McPhail, D.C., 2004. Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. *Geoderma* 122, 151–166.
- Pokrovsky, O.S., Viers, J., Emnova, E.E., Kompantseva, E.I., Freydisier, R., 2008. Copper isotope fractionation during its interaction with soil and aquatic microorganisms and metal oxy(hydr)oxides: possible structural control. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 1742–1757.
- Rossi, N., Jamet, J.-L., 2008. In situ heavy metals (copper, lead and cadmium) in different plankton compartments and suspended particulate matter in two coupled Mediterranean coastal ecosystems (Toulon Bay, France). *Mar. Pollut. Bull.* 56, 1862–1870.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Mar. Chem.* 79, 229–242.
- Semeniuk, D.M., Cullen, J.T., Johnson, W.K., Gagnon, K., Ruth, T.J., Maldonado, M.T., 2009. Plankton copper requirements and uptake in the subarctic Northeast Pacific Ocean. *Deep Sea Res. I: Oceanogr. Res. Pap.* 56, 1130–1142.
- Serra, A., Guasch, H., 2009. Effects of chronic copper exposure on fluvial systems: linking structural and physiological changes of fluvial biofilms with the in-stream copper retention. *Sci. Total Environ.* 407, 5274–5282.
- Shank, G.C., Skrabal, S., Whitehead, R.F., Kieber, R.J., 2004. Strong copper complexation in an organic-rich estuary: the importance of allochthonous dissolved organic matter. *Mar. Chem.* 88, 21–39.
- Thapalia, A., Borrok, D.M., Van Metre, P.C., Musgrove, M., Landa, E.R., 2010. Zn and Cu isotopes as tracers of anthropogenic contamination in a sediment core from an urban lake. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1544–1550.
- Vance, D., Archer, C., Bermin, J., Perkins, J., Statham, P.J., Lohan, M.C., Ellwood, M.J., Mills, R., 2008. The copper isotope geochemistry of rivers and the oceans. *Earth Planet. Sci. Lett.* 274, 204–213.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005. Seasonal variations of dissolved and particulate copper species in estuarine waters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 62, 313–323.
- Wells, M.L., Kozelka, P.B., Bruland, K.W., 1998. The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Mar. Chem.* 62, 203–217.

Annexe 4

Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J., Kessaci K., Lancelleur L., Dutruch L., Bossy C.

Inputs, dynamics and potential impacts of Silver (Ag) from urban wastewater into the Gironde Estuary (France).

En préparation pour Geochemistry (Chemie der Erde).

Inputs, dynamics and potential impacts of Silver (Ag) from urban wastewater into the Gironde Estuary (France)

Victoria N. DEYCARD¹, *JörgSCHÄFER¹, Gérard BLANC¹, Alexandra COYNEL¹, JérômeC.J. PETIT¹, KahinaKESSACI¹, LaurentLANCELEUR¹, Lionel DUTRUCH¹, Cécile BOSSY¹

¹Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC-OASU, *Allée Geoffroy Saint-Hilaire 33615Pessac Cedex, France*

² Lyonnaise des Eaux, Agence Diagnostic Assainissement, Centre Régional Aquitaine, F-33029 Bordeaux

Abstract

Although silver (Ag) is listed as a priority contaminant for the aquatic environment according to the Water Framework Directive of the European Union (2000/60/EC), the use of products with antimicrobial effects based on Ag is increasing in Europe, as well as North America and Asia. This study investigates personal care products (PCP)s as a potential source of Ag in wastewater, as well as, the dynamics and fate of Ag in the influent and effluent of a wastewater treatment plant (WWTP) located on the fluvial part of the Gironde Estuary. The Gironde Estuary, in the south-west of France, is known for high concentrations of heavy metals, particularly Cd and Ag, found in wild oysters near the mouth of the estuary. The results of this study show that higher wastewater influent Ag concentrations are generally found during working hours and mid-week, while Ag concentrations decrease during the night and on weekends. A strong morning peak of Ag occurred, possibly coming from a mix of PCPs containing Ag. Household PCPs marked as using Ag contained concentrations up to 0.4 mg/kg, making them likely contributors to urban Ag concentrations. Due to a high affinity to particle surfaces, up to 90 % of the total Ag in wastewater was in the particulate fraction. The total removal of Ag from wastewater (> 80) depended strongly on the physical reduction of the suspended particulate matter (SPM) during the different treatment stages. Despite this high removal efficiency of overall Ag concentrations, approximately 20 % of Ag is still released into the fluvial estuary. Therefore it remains questionable if the Ag concentrations in WWTP discharge affect the receiving aquatic environment due to immediate localized outfall increases in available dissolved monovalent Ag⁺ and/or the uptake and transport of this Ag source on estuarine particles released as dissolved AgCl⁰ within the salinity gradient. In addition, Ag concentrations in wastewater effluent exceeded background estuarine concentrations increasing probable risk for flora and fauna of the aquatic environment.

Keywords: silver, bioavailability, urban trace elements, fluxes, wastewater, anthropogenic pollution, emerging pollutants, Gironde Estuary

Annexe 5

Dindinaud F., Chaalali A., David C., Chevillot X., Savoye N., Bachelet G., Sautour B.

Intra - annual dynamic of the calanoid copepod *Eurytemora affinis* in the fluvial section of the Gironde Estuary: (France).

En préparation pour Estuarine Coastal and Shelf Estuary.

Intra - annual dynamic of the calanoid copepod *Eurytemoraaffinis* in the fluvial section of the Gironde Estuary: (France)

François Dindinaud^{1*}, Aurélie Chaalali², Valérie David¹, Xavier Chevillot³, Nicolas Savoye¹, Guy Bachelet¹, Benoit Sautour¹

Abstract

The Gironde estuary (South-West of France) is one of the largest macrotidal estuaries of Europe. Its oligo- and mesohaline zones are highly monitored but, as it is classically observed at the scale of quite all estuarine systems, its the oligo-haline/freshwater section was poorly studied, especially at a biological/ecological point of view. This study assesses the intra-annual environmental variability of this area in order to provide a better understanding of the population dynamics of the dominant and native copepod species *Eurytemoraaffinis*(classically observed downstream) in the whole estuary. An environmental envelope model as the ecological niche of this calanoid copepod was previously established in the halineestuarine section. The same model was firstly tested in our study in the [oligohaline/freshwater section] with data obtained during one sampling year (2011).Our results show that in this area of very low salinities, the raw species abundances were higher than the one estimated by the envelope model. It suggests that, as expected, salinity does not determine species realized nichein this area. This result confirms the strong and powerful osmoregulatory potential of *Eurytemoraaffinis*making this species highly adaptable to very low salinities or freshwater. Even ifour results donot question the previous envelope based on salinity and temperature, they suggest that other parameters are of importance there. Indeed, phaeopigment concentration is shown as a parameter to consider in addition to temperature in order to explain the distribution and the intra-annual dynamics of *E. affinis*. A new environmental envelope of the species is therefore proposed as a function of phaeopigments and temperature. This model provides estimations that are coherent with raw data of the whole estuary, without taking salinity into account. It demonstrates that it is necessary to consider the whole estuary to well understand the distribution of *Eurytemoraaffinis*and its adaptation to estuarine conditions.

Keywords: environmental envelope, ecological niche, *Eurytemoraaffinis*, Gironde estuary, environmental parameters.

Annexe 6

POSTER + RESUME

Lanoux A., Etcheber H., Sottolichio A., Schmidt S., Chambolle M., Litrico X. & Abril G. (2013)

Impact of wastewater discharge from the city of Bordeaux on summer oxygenation of the Garonne tidal River.

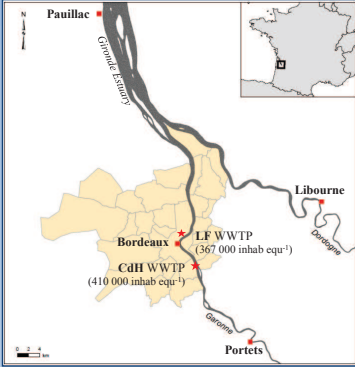
10th IWA Leading Edge Technology Conference on Water and Wastewater Technologies, Juin 2013, Bordeaux, France.

Impact of wastewater discharge from the city of Bordeaux on summer oxygenation of the Garonne tidal River

Aurélien Lanoux^{1,2}, Henri Etcheber¹, Aldo Sottolichio¹, Sabine Schmidt¹, Mélodie Chambolle², Xavier Litrico² and Gwenaél Abril¹

(1) Université Bordeaux I, UMR 5805 EPOC, 33405 Talence (France) - (2) LyRE, Centre de recherche de Lyonnaise des Eaux, Université Bordeaux I, France

aurélien.lanoux@lyonnaise-des-eaux.fr



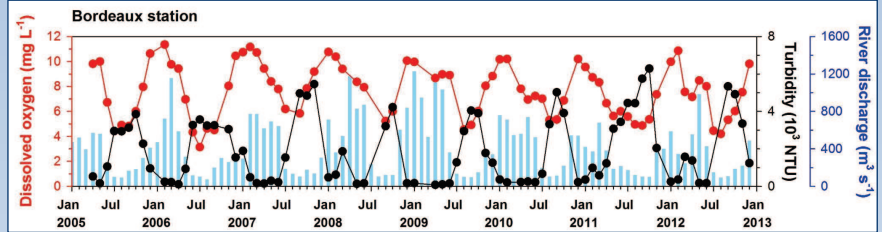
CONTEXT

- European macrotidal estuaries are characterized by long residence times both for water and suspended matters, due to tidal influence, which induce the development of an Estuarine Turbidity Maximum (ETM) development. In the ETM area, heterotrophy by far dominates autotrophy¹ and consequences on the dissolved oxygen content of waters are very important.
- In the Gironde estuary (S-W France), events of low dissolved oxygen have been observed over the last decades in this area during summer. The high-frequency monitoring network that records since 2005 water quality along the Gironde Estuary² demonstrates the lowest dissolved oxygen content are always observed in the fluvial section close to the city of Bordeaux.
- The ETIAGE program was launched in order to clarify the real impact of wastewaters on the dissolved oxygen decrease, behaviour of pollutants and response of biological populations.

MATERIALS & METHODS

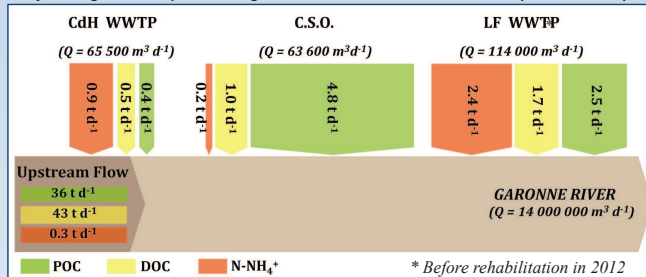
- The four automated stations of the MAGEST network provide real-time measurement of temperature, salinity, turbidity and dissolved oxygen of estuarine waters. Water is pumped 1m below the surface and circulates through a measuring cell containing the probes. Tidal, daily and seasonal variations of these parameters allow precisely understanding the major factors that induce hypoxic events³.
- Raw and treated waters from the two most important WWTP of Bordeaux, Louis Fargue (LF) and Clos de Hilde (CdH) were characterized from 24h-averaged samples collected between 2010-2012. Dissolved and particulate organic carbon (DOC, POC) and nutrients (nitrogen, phosphorus) were measured on these samples.

Monthly-averaged variations of dissolved oxygen and turbidity at Bordeaux, with the Garonne River discharge.

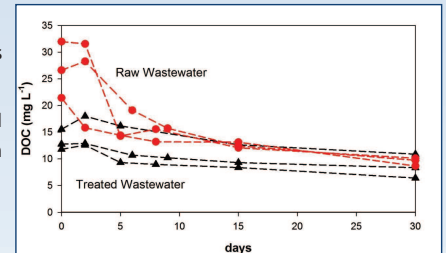


RESULTS & DISCUSSION

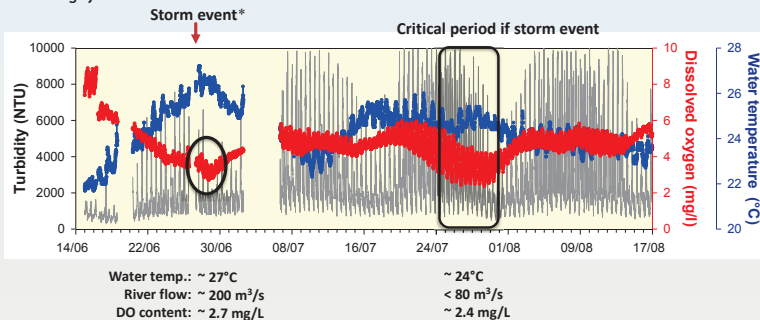
Daily-averaged WWTP flows during wet weather in summer 2010 in comparison with upstream flows.



- Average reduction higher than 90% for particulate, 75% for the DOC and 50% for NH₄⁺.
Treatment of DISSOLVED material → less efficient than for PARTICULATE material
 - Until the end of 2012, NH₄⁺, POC and DOC outflows from Louis Fargue WWTP (activated sludge) were higher than those from Clos de Hilde WWTP (biofiltration).
BIOFILTRATION → more efficient than ACTIVATED SLUDGE
 - Louis Fargue currently treats wastewater with biofiltration process and presents results close to those obtained at Clos de Hilde.
- Incubation tests of influent and effluent



Recordings from Bordeaux station in summer 2008



CONCLUSION

- The main factors influencing dissolved oxygen in the Garonne section of the Gironde estuary are:
Water temperature - Turbidity - River discharge - Sewage loads
- Similar processes have been observed in other large and highly turbid European estuaries (Loire, Seine) where the impacts of wastewaters could increase in a context of climate change and population growth.
- Some recommendations are proposed in order to minimize the impacts such as the improvement of wastewater treatment efficiency and the limitation of river water uptake by agriculture on the Garonne watershed during severe droughts.

Impact of wastewater discharge from the city of Bordeaux on summer oxygenation of the Garonne tidal River

Aurélie Lanoux*, Henri Etcheber*, Aldo Sottolichio*, Sabine Schmidt*, Mélodie Chambolle**, Xavier Litrico** and Gwenaël Abril***

* Laboratoire Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC), CNRS-UMR 5805, Université de Bordeaux, France

** LyRE, Centre de recherche de Lyonnaise des Eaux, Université Bordeaux 1, France

Abstract:

Owing to their high turbidity and their long water residence time, upstream reaches of macrotidal estuaries are naturally oxygen-depleted. Here we evaluate the potential for occurrence of severe hypoxia in the Garonne tidal river and the additional impact of wastewater loads from the city of Bordeaux through three complementary approaches: (1) a high frequency water quality monitoring at various stations in the tidal river; (2) a quantification of fluxes of oxygen-consuming compounds (biodegradable organic matter and ammonia) in and at the outlet of wastewater networks; (3) an oxygen mass balance in the urbanized river section, accounting for aeration, respiration and nitrification. We show that wastewaters have a significant impact on water oxygenation in the tidal river. When combined to high river temperature and turbidity and low river flow, wastewater discharge contributes to episodic hypoxic conditions in summer. We conclude that in order to avoid severe summer hypoxia in the future context of global change, two concomitant actions will probably be necessary: (1) improvement of wastewater treatment efficiency and in particular management of summer storms; (2) limitation of river water uptake by agriculture on the Garonne watershed in order to maintain a minimum freshwater inflow during critical periods.

Keywords: hypoxia; wastewater loads; Garonne River

Introduction

The Gironde macrotidal estuary (SW France) is one of the largest European estuary and is characterized by long residence times of waters and suspended matter 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 contents of waters are very important. Raw water and treated water have been characterized on the most important wastewater treatment plants (WWTP) of Bordeaux. For a long time, hypoxic events of waters have been observed in this area during summer. A high-frequency monitoring network has been setup in 2005 to monitor continuously water temperature, salinity, turbidity and oxygen at four stations along the Gironde Estuary. Tidal, daily and seasonal variations of these parameters allow precisely understanding the major factors that induce hypoxic events, and predict the risks of asphyxia of biological communities.

Material and Methods

The automated continuous monitoring network, MAGEST (MAREL Gironde Estuary), provides real-time measurement of the water quality in the Gironde Estuary. The four stations are located along the Gironde Estuary, including the Garonne and Dordogne tidal Rivers and the central estuary downstream their confluence. All are based on the same principle: water is pumped 1 m below the surface and circulates through a measuring cell including dissolved oxygen, temperature, turbidity and conductivity probes. An ultrasonic level controller also measures the water depth.

Raw and treated waters from the two most important WWTP of Bordeaux are characterized from samples averaged 24 hours collected at different days. Different parameters are studied such as dissolved and particulate organic carbon and nutrients.

Results and Conclusions

Results reveal that treatment of dissolved material entering the WWTP is less efficient than for the particulate phase: average decrease of 75% for the dissolved organic carbon (DOC), 50% for ammonium nitrogen and > 90% for particulate matter. Incubation tests reveal that respectively 70% and 50% of influent and effluent DOC are biodegradable in less than five days. The waste of such a labile material can be problematic in the event of a dumping of raw water, resulting in oxygen consumption, depending on the time of the year. The MAGEST network recorded the consequence of a decennial storm event occurred at the end of June 2005 with an oxygen decrease of about 1 mg L⁻¹ (Fig.1). Moreover, this network has recorded the critical event of summer 2006 in Bordeaux where the dissolved oxygen was lower than 2 mg L⁻¹ for several hours per day.

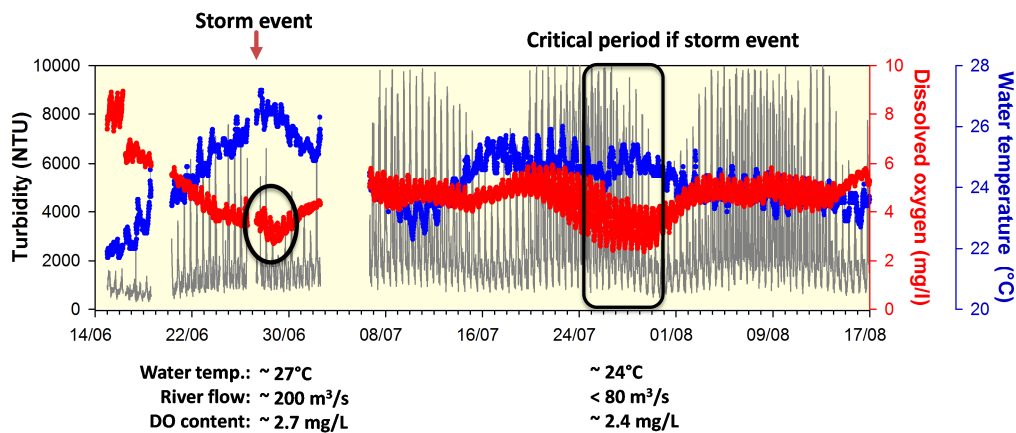


Figure1. Impact of a storm event (27 June 2005) recorded by the MAGEST network at Bordeaux.

Such sudden oxygen decrease is observed in specific conditions: high water temperature, presence of the ETM, low river discharge leading to a numerous and limited oscillations of waters around the studied site with constant supply of effluents. In comparison, same processes have been described in other European estuaries (Loire, Seine) where, in a context of climate change and population growth, the impacts of wastewaters could increase. Thus, some recommendations are proposed in order to minimize the impacts such as improvement of wastewater treatment efficiency and the limitation of river water uptake by agriculture on the Garonne watershed during sever droughts.

Annexe 7

POSTER

Deycard V.N., Schäfer J., Blanc G., Coynel A., Petit J.C. J., Lancelier L., Bossy C., Dutruch L., Ventura A. (2012)

Silver in urban waste water discharged into the fluvial Gironde Estuary: Concentrations, fluxes and potential impact.

29th International Conference of the Society for Environmental Geochemistry and Health., 8th-12th July 2013, Toulouse, France.

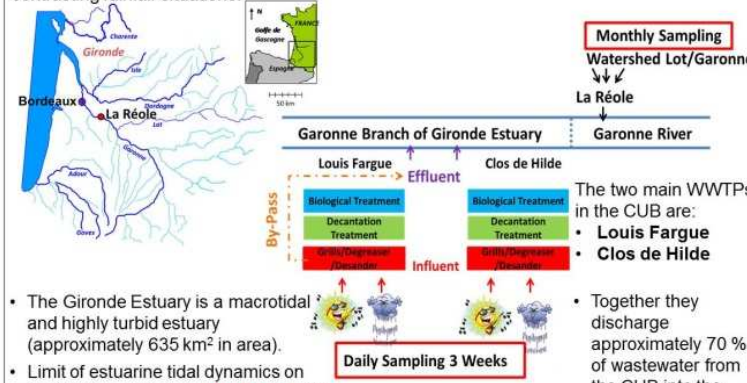
Silver in urban wastewater discharged into the fluvial Gironde Estuary: Concentrations, fluxes and potential impact.

VICTORIA N. DEYCARD¹, JÖRG SCHÄFER¹, GERARD BLANC¹, ALEXANRA COYNEL¹
 LAURENT LANCELEUR¹, JEROME C. J. PETIT¹, CECILE BOSSY¹, LIONEL DUTRUCH¹, ALEXANDRE VENTURA

(1) Université de Bordeaux, Equipe "TGM" (Transferts Géochimiques des Métaux) de l'UMR EPOC 5805. (2) Lyonnaise des Eaux, Agence Diagnostic Assainissement, Centre Régional Aquitaine, F-33029 Bordeaux.

INTRODUCTION, STUDY SITE & METHODS

Based on daily (24 hour-cumulated, flow-weighted) samples from the entries and the outlets of two major Wastewater Treatment Plants (WWTPs) in the Bordeaux urban agglomeration (CUB) covering three weeks and monthly river sampling, we evaluated dissolved and particulate concentrations, fluxes, and removal performance of Silver (Ag) in contrasting rainfall situations.



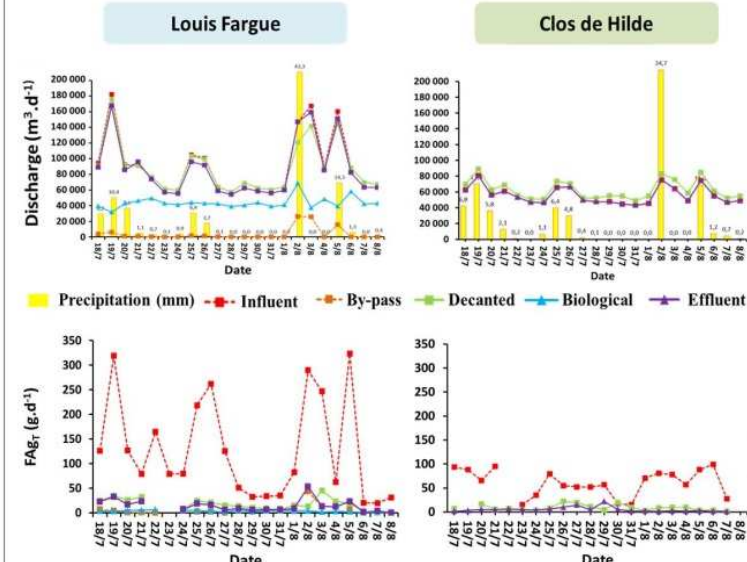
- The Gironde Estuary is a macrotidal and highly turbid estuary (approximately 635 km² in area).
- Limit of estuarine tidal dynamics on the Garonne River is at La Réole ~70 km upstream from Bordeaux. (Audry et al. 2004; Coynel et al. 2007; Schäfer et al. 2002).
- Total and dissolved element concentrations in wastewater, riverwater and sediment digests were measured using ICP-MS (Thermo-Fisher X-series).
- Particulate concentrations were calculated as the difference between total and dissolved concentrations (Buzier et al., 2006).
- Together they discharge approximately 70 % of wastewater from the CUB into the Garonne River.

RESULTS Ag Concentrations and Daily Fluxes

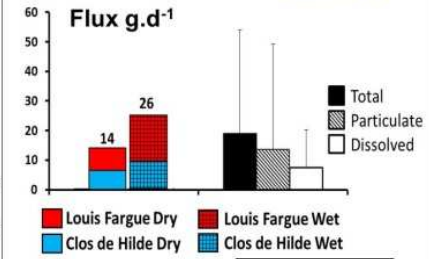
Metal	La Réole			WWTPs Influent			WWTPs Effluent		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Ag _p	1	0.5	5	4.6	0.94	12	2.6	<0.05	9
Ag _d	0.002	<0.0005	0.005	0.14	<0.0004	0.47	0.06	<0.0004	0.4

Concentration values at La Réole 2011 and WWTPs for particulate (mg/kg) and dissolved (µg/L) Ag (p = particulate and d = dissolved).

Flux = Concentration (µg/L) x Discharge (m³/day)



RESULTS Cont.



Daily metal fluxes of effluent water during dry periods (0 to 1 mm precipitation) and wet periods (> 1 mm of precipitation).

Average daily effluent metal flux from the two wastewater treatment plants with maximum values denoted by capped error bar.

CONCLUSIONS

- WWTP effluent concentrations were up to 30 times higher for dissolved Ag than measured at the La Réole site.
- During rain events up to 48% increase of Ag fluxes entering the Gironde.
- Total Ag entering the Garonne Branch of the Gironde Estuary is represented largely by the particulate fraction.
- During periods of low river discharge Ag from WWTPs may significantly increase concentrations and fluxes.

REFERENCES

Buzier, R., Tusseau-Vuillemin, M., Martin dit Menadec, C., Rousselot, O., Mouchel, J.M., 2006. Chemosphere 65, 2419-2426.
 Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Sci. Total Environ. 319, 197-213.
 Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Appl. Geochem. 22, 821-836.
 Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Mallet, N., Maneaux, E., Etcheber, H., 2002. Mar. Chem. 79, 229-242.

ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge Dr. H. Etcheber, A. Lanoux, Y. Aminot, D. Merliac, E. Cottin, and C. Deycard for sampling, analytical support, and field assistance. This study was financially supported by 'Suez-Lyonnaise des Eaux', Agence de l'Eau Adour-Garonne (AEAG Conseil Général de Gironde (CG-33)), and the Agence Nationale de la Recherche ANR-07-VULN-03).

Annexe 8

POSTER

Dindinaud F., Sautour, B., Bachelet, G. (2012).

Dynamics and quantitative distribution of meiofauna in low salinity areas of the Gironde Estuary.

JILO 2012; Journée Internationale de Limnologie et d'Océanographie, 17-19 octobre 2012, Clermont-Ferrand, France.

Dynamics and quantitative distribution of meiofauna in low salinity areas of the Gironde Estuary



Dindinaud François¹, Sautour Benoit¹, Bachelet Guy¹

¹UMR 5805 Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux, CNRS & Université Bordeaux 1, Station Marine d'Arcachon

Introduction

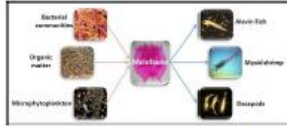


Figure 1: Relations between meiofauna and both lower and higher trophic links

Nowadays the clues of global warming have become obvious in the coastal environments. Added to these changes, the increase of anthropogenic pressures within these environments is also now well documented as an other factor responsible for the distribution and the dynamics of many biological compartments. In an estuarine system, such as the Gironde Estuary, which is the largest European estuary characterized by a strong spatio-temporal variability of environmental parameters, it is essential to know and survey the communities present in this zone. Especially within the fluvial part of the Gironde estuary which received the inputs of Bordeaux and characterized by a maximum turbidity zone during the period of low water level. Meiofauna (i.e. those benthic metazoans bigger than 0,1mm and smaller than 1 mm) is a substantial component of benthic heterotrophic assemblages; however, it is little studied. It represents an important link between primary producers (microphytobenthos) and higher trophic levels (macrofauna and juvenile fish) (Figure 1).

The objectives are...

- to describe and to compare the meiofaunal communities in the Garonne and Dordogne rivers especially in the river part of the Gironde estuary,
- to identify the environmental key variables responsible for the meiofaunal variability on a spatio-temporal scale.

Materials & Methods

The Gironde Estuary is formed by the junction of the Garonne and Dordogne rivers. Sampling was carried out in the fluvial part (salinity ≤ 5) of the Gironde estuary in the intertidal zone of the Garonne and Dordogne rivers (Figure 2). Five stations on the Garonne river and four on the Dordogne river were sampled every month (from February to November). Three replicates of the top 2 cm of sediment were taken with a corer (3 cm diameter). Samples were centrifuged (300 t/min) in the laboratory and sieved on a 63 μm mesh before sorting and identification to the zoological group level. The physico-chemical and biological parameters as microphytobenthos (chlorophyll a, b, c), phaeopigments, particulate organic carbon, nitrogen and sediment (i.e. particles sizes) were sampled with a corer. The relations between physico-chemical and biological parameters were analyzed using multivariate methods.



Figure 2: Sampling area: Stations on the Garonne, Stations on the Dordogne. G1= Ambès, G2=Basalen, G3=Chantier Nicolas (Bordeaux), G4= Sègles, G5=Langouan, D1= Ambès, D2=Cubzac les ports, D3= Izon, D4= Libourne

Results I ... Meiofaunal communities

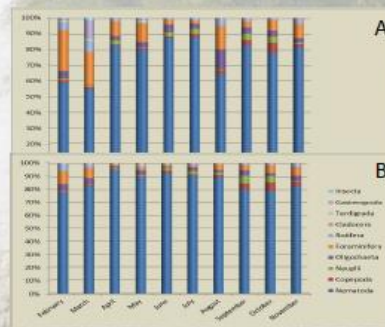
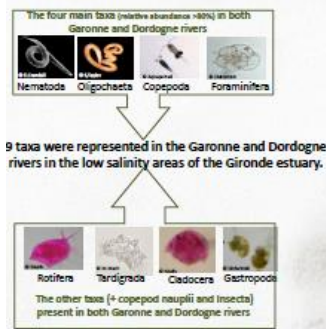
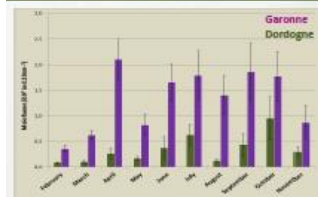


Figure 3: Contribution of each taxon to the total meiofaunal abundance in the Dordogne (A) and Garonne (B) rivers

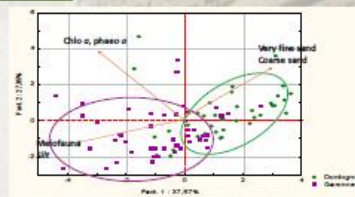
Meiofauna was mainly dominated by Nematoda, Oligochaeta, Copepoda and Foraminifera (Figure 3). Rotifera, Cladocera, Tardigrada, Gastropoda and Insecta were present with a lower contribution in both rivers. Nematoda relative abundance increased from spring until the end of summer. For other taxa such as Foraminifera, Copepoda and Oligochaeta, the maximal contribution was during autumn and winter.

Results II ... Spatio-temporal variability of Meiofauna



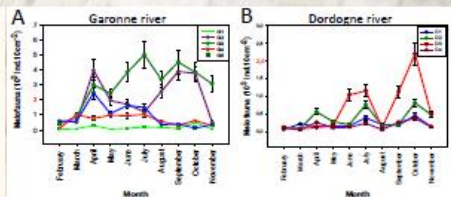
Spatio-temporal variability of the total meiofauna abundance (mean value of all stations \pm SD) in the Garonne and Dordogne rivers

Meiofauna was significantly more abundant in the Garonne river than in the Dordogne river, especially during summer and early autumn (Kruskal-wallis, pairwise, $p < 0,05$). Total abundances were low during winter in both rivers. The temporal variability of total meiofauna was more marked in the Garonne river ($1324 \text{ ind.}10 \text{ cm}^{-2} \pm 334 \text{ SD}$) than in the Dordogne river ($347 \text{ ind.}10 \text{ cm}^{-2} \pm 139 \text{ SD}$). In both rivers the lowest abundance occurred during winter.



Principal Component Analysis (PCA) based on the environmental and biological parameters represented by a contribution of the $\text{cov}^2 > 50\%$. Plots are meiofaunal abundances (Nematoda+Copepoda+nauplii+Oligochaeta) in the Garonne and Dordogne rivers. Silt (<63 μm), very fine sand (63-125 μm), coarse sand (>100 μm), phaeo a = phaeopigments a, chlo a or chlorophyll a

A Principal Component Analysis (PCA) separated the Garonne and Dordogne rivers along axis 1 (37.57% of the total variance). In this analysis meiofauna was linked to the silt (<63 μm) content of sediment in the Garonne river and to coarser sediment (i.e. very fine sand (63-125 μm) and coarse sand (>100 μm)) in the Dordogne river.



Spatio-temporal variability of the total meiofauna abundance (\pm SD) in the Garonne (A) and Dordogne (B) rivers. G1= Ambès, G2= Basalen, G3= Chantier Nicolas (Bordeaux), G4= Sègles, G5= Langouan, D1= Ambès, D2= Cubzac les ports, D3= Izon, D4= Libourne

Meiofauna abundance was generally highest at the intermediate stations in each branch of the estuary, i.e. at stations G2 and G3 in the Garonne river and at stations D2 and D3 in the Dordogne river.

Conclusion

The meiofaunal community in the fluvial part of the Gironde estuary is represented by 9 taxa. The main groups, with a contribution of more than 80% to the total abundance in both rivers, are Nematoda, Copepoda, Oligochaeta and Foraminifera. The abundance of meiofauna is significantly higher (1) in the Garonne than in the Dordogne river and (2) in the median region of both branches of the fluvial estuary (in particular around the city of Bordeaux in the Garonne river). It is four times lower than in the upper part of the Gironde estuary. It also shows a high seasonal variability, with higher values in summer and autumn.

Annexe 9

POSTER + RESUME

Dindinaud F., Sautour B., Bachelet G. (2014)

Structure and dynamics of meiofauna and macrofauna communities in low salinity areas of the Gironde Estuary.

ECSCA 54 – Coastal systems under change: tuning assessment and management tools, 12 – 16- May 2014, Sesimbra, Portugal.

Dindinaud F., Sautour, B., Bachelet, G. (2014)

Structure and dynamics of meiofauna and macrofauna communities in low salinity areas of the Gironde Estuary.

ISOBAY 14, XIV International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay, 10-13 June 2014, Bordeaux, France.

François Dindinaud, Benoit Sautour, Guy Bachelet

UMR 5805 EPOC, CNRS & Université de Bordeaux, Station Marine d'Arcachon, 2 rue du Professeur Jolyet, 33120 Arcachon, France
f.dindinaud@epoc.u-bordeaux1.fr

Introduction

Benthic meiofauna and macrofauna constitute fundamental components of heterotrophic aquatic assemblages by influencing carbon transfer through the food web, and represent an important link between primary producers and higher trophic levels. While these benthic compartments are generally well known in the haline parts of estuaries, they are much less documented in the upper parts of tidal estuaries, i.e. where the oligohaline or freshwater masses are submitted to tides. This is especially the case in the Gironde Estuary (SW France, Bay of Biscay), which is the largest European estuary, and where benthic fauna has never been investigated in the low salinity areas.

The objectives of the present study were thus:

- (1) to obtain the first qualitative and quantitative data on meio- and macrobenthos in both subtidal and intertidal domains of the low salinity areas of the Gironde Estuary;
- (2) to study the spatial and annual variability of benthic communities in these areas.

Materials & Methods

Sampling was carried out in the tidal freshwater section of the Gironde Estuary, i.e. in the ca. 40-km downstream parts of the Dordogne and Garonne Rivers (Fig. 1). Five stations on the Garonne River (G1-G5) and four on the Dordogne River (D1-D4) were sampled monthly from February 2011 to February 2012 for meiofauna, and in June, August, and October 2011 for macrofauna. Intertidal samples were collected at low tide at mean tidal level with a 0.0074-m²-PVC hand corer (5 replicates, 15 cm deep) for macrofauna, and with a 7-cm³-plastic syringe (3 replicates, 2 cm deep) for meiofauna. Subtidal samples were collected at < 5 m water depth with a 0.1-m²-Van Veen grab; 5 replicates for macrofauna, and 3 replicates taken with a 7-cm³ syringe within separate grabs for meiofauna. Sediment was sieved on a 0.5-mm mesh to collect macrofauna. Samples for meiofauna were pre-sieved on a 0.5-mm mesh, then centrifuged (300 t min⁻¹) in a Ludox HS40 solution, and finally sieved on a 63- m mesh. Organisms were identified at the species level for macrofauna, and at the zoological group level for meiofauna.

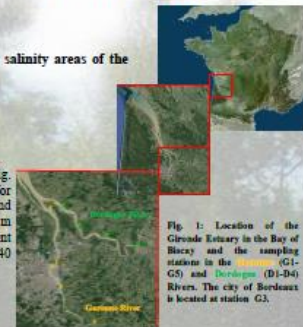


Fig. 1: Location of the Gironde Estuary in the Bay of Biscay and the sampling stations in the Garonne (G1-G5) and Dordogne (D1-D4) Rivers. The city of Bordeaux is located at station G3.

Benthic diversity

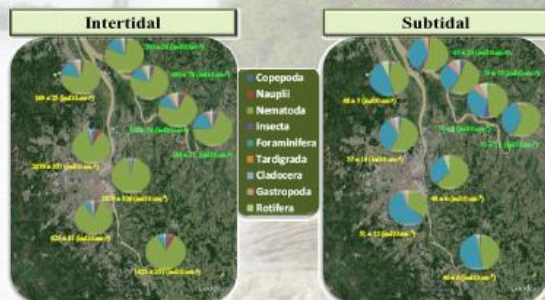


Fig. 2: Mean annual percentage contribution of the different taxa to the abundance (annual mean \pm SE) of total meiofauna in intertidal (left) and subtidal (right) stations.

Meiofauna was mainly composed of Nematoda, Foraminifera and Copepoda (incl. nauplii stages) in both intertidal (Fig. 2, left) and subtidal (Fig. 2, right) domains. Abundances of intertidal meiofauna were significantly higher in the Garonne River than in the Dordogne River. Abundances of subtidal meiofauna were equivalent between both estuarine branches.

Macrofauna



Fig. 3: Mean annual percentage contribution of the different taxa to the abundance (annual mean \pm SE) of total macrofauna in intertidal (left) and subtidal (right) stations. "PK" indicates the distance (in km) from Bordeaux.

In both branches of the fluvial estuary, macrofauna was composed exclusively of Annelida Oligochaeta (mainly *Limnodrilus hoffmeisteri*) in intertidal areas (Fig. 3, left), whereas it was totally absent in subtidal areas (Fig. 3, right). Intertidal macrofauna was more abundant in the Garonne River than in the Dordogne River. The abundances of intertidal macrofauna in the fluvial estuary are similar to those in the downstream (haline) estuary, except for stations G1 and G5 in the Garonne River and for all stations in the Dordogne River.

Temporal variability of intertidal meiofauna

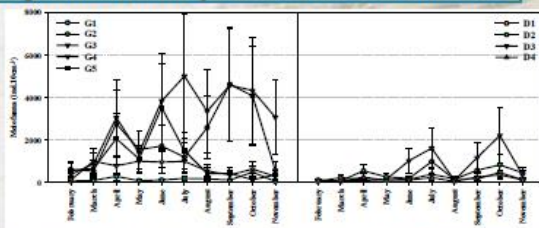


Fig. 4: Spatio-temporal variability of total intertidal meiofauna abundances (\pm SD) in the Garonne (left) and Dordogne (right) Rivers.

Intertidal meiofauna was more abundant in the Garonne River (annual mean: 1328 ± 134 ind.10 cm⁻²) than in the Dordogne River (annual mean: 349 ± 45 ind.10 cm⁻²) (Fig. 4). In the Garonne branch of the estuary, abundance was highest at the intermediate stations G3 and G2, i.e. at Bordeaux and immediately downstream of Bordeaux, which might indicate an impact of urban wastes from the city of Bordeaux. However, in the Dordogne branch, meiofauna abundance was also highest in the intermediate stations D2 and D3.

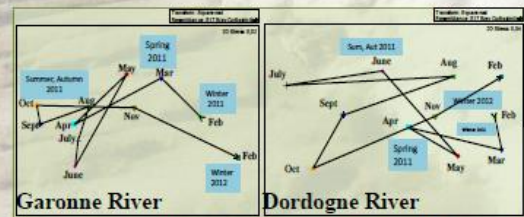


Fig. 5: nMDS with two dimensions representing the temporal variability (temporal trajectory of the system) based on the matrix of similarity (calculated from the coefficient of similarity of Bray-Curtis) of abundances of the various zoological groups of the meiofauna from February 2011 to February 2012.

Nonmetric Multidimensional Scaling analysis on abundances of intertidal meiofauna shows that the communities in both Garonne and Dordogne Rivers were highly disturbed in summer and autumn but came back to their initial state during the next winter (Fig. 5).

Conclusion

Two striking conclusions arise from this first study on benthic fauna in the low salinity areas of the Gironde Estuary: (1) macrofauna is totally absent in the subtidal domain and is composed exclusively of oligochaetes in the intertidal domain, and (2) the abundance of intertidal meiofauna is the highest in the median part of the fluvial estuary, especially around the city of Bordeaux in the Garonne branch. Correlations between faunal data and environmental parameters should be studied in a next step to explain such distributional patterns of benthic fauna.

Financing: Bachelet G. & Lacroix M. (2012) Macrofaune benthique. In: Oubine J.Y. (coord.) et al., Surveillance biologique du site du Ryzac, année 2011. Rep. SPREMER RST DIVERCO/AG13-01, pp. 183-212.

Acknowledgements: This study was conducted within the STAGE project (Etude intégrée de l'effet des Apports azot s et locaux sur le Fonctionnement de la Gironde Tertiaire) financ e par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, Comissariat Urbain de Bordeaux, Parc Environnement - Espace de l'Eau, and IRD/OSU.

Dindinaud F., Sautour B. , Bachelet G.**ABSTRACT**

Benthic meiofauna and macrofauna constitute fundamental components of heterotrophic aquatic assemblages by influencing carbon transfer through the food web, and represent an important link between primary producers and higher trophic levels. However, these compartments are poorly known in the upper parts of tidal estuaries, where the freshwater masses are submitted to tides. In the present study, meio- and macrofauna communities were investigated in the tidal freshwater sections of the Gironde Estuary, i.e. in the 40-km lower parts of the Garonne and Dordogne Rivers. Both rivers are characterized by a strong seasonal variability of environmental parameters and are also submitted to anthropogenic pressures, mainly from the city of Bordeaux on the Garonne.

In both branches of the fluvial estuary, macrofauna (> 1 mm) was composed exclusively of oligochaetes in intertidal areas, whereas it was totally absent in subtidal areas. Meiofauna was mainly composed of nematodes, foraminiferans and copepods in both subtidal and intertidal domains. MDS analyses showed that meiofaunal community structure was highly modified between May and October in both estuarine rivers but then returned to its initial stage. Abundance and composition of both benthic communities were not impacted by the Bordeaux water treatment plants.

Annexe 10

POSTER

Kessaci K., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Derriennic H., Schäfer J. (2014)

Impacts of anthropogenic pressures on the water quality of the Gironde Estuary (SW France) from the Urban Agglomeration of Bordeaux: spatial characterization and inputs of trace metal elements (Ag, As, Cd, Cu, Pb and Zn).

EGU2014-10196-3, EGU General Assembly, 27 April – 2 May 2014, Vienna, Austria.



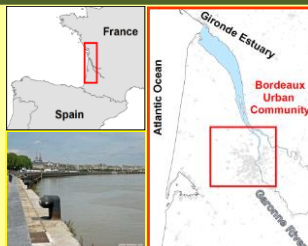
IMPACTS OF ANTHROPOGENIC PRESSURES ON THE WATER QUALITY OF THE GIRONDE ESTUARY (SW FRANCE) FROM THE URBAN AGGLOMERATION OF BORDEAUX: SPATIAL CHARACTERIZATION AND INPUTS OF TRACE METAL ELEMENTS (Ag, As, Cd, Cu, Pb and Zn)



KESSACI Kahina, COYNEL Alexandra, BLANC Gérard, DEYCARD Victoria Nicole, DERRIENNIC Hervé, and SCHÄFER Jörg
Univ. Bordeaux, UMR CNRS 5805 EPOC, 33405 Talence, France; *k.kessaci@epoc.u-bordeaux.fr

INTRODUCTION

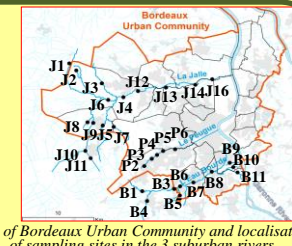
Urban metal inputs into hydrosystems are of increasing interest to both scientists and managers facing restrictive environmental protection policies. The Gironde Estuary (SW France; 625 km²) is known for its polymetallic pollution originating from both industrial (e.g. Cd, Zn, Cu) and agricultural sources (e.g. Cu) in the main fluvial tributaries (Garonne and Dordogne Rivers). However, few peer-reviewed scientific works have addressed the impact of urban sources in the Gironde Estuary, especially in the Bordeaux Urban Community (CUB) located on the downstream branch of the Garonne River which is characterized by a high urban population (~1 million inhabitants).



OBJECTIVES

- Establish the local geochemical background for ETM in the CUB
- Map the spatial ETM distribution for 3 suburban rivers : localize geochemical anomalies and identify sources → 1 snapshot campaign
- Present a first estimate of ETM fluxes for a representative river (the Jalle River) → hydrogeochemical monitoring in 1 site

Evaluate the impact of urban metal pollution (suburban rivers and waste water treatment plants ; WWTPs) in the Gironde Estuary



METHODS

1-Sampling campaigns

- Long sedimentary core (L=492 cm) at the outlet of the Jalle River
- 30 samples (surface sediments and water) in the 3 suburban watersheds, located in the left bank of the Garonne River (15 in the Jalle, 5 in the Peugeot, and 10 in the Eau Bourde Rivers).



2-Sedimentary and ETM analyses

- Photography by radioscapy BX internal sedimentary structure
- Characterization of particulate metal concentrations using metal digestion (HCl, HNO₃ and HF) and ICP-MS.



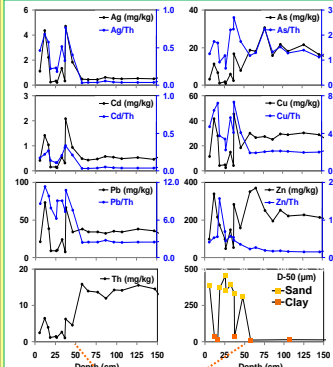
3-Flux estimates for a suburban river

- Hydro-geochemical monitoring at the outlet of the main suburban river (Jalle) using an automatic sampler Sigma 900
- Annual dissolved and particulate ETM fluxes estimated from daily water discharge (Q) and Q-weighted ETM concentrations



RESULTS

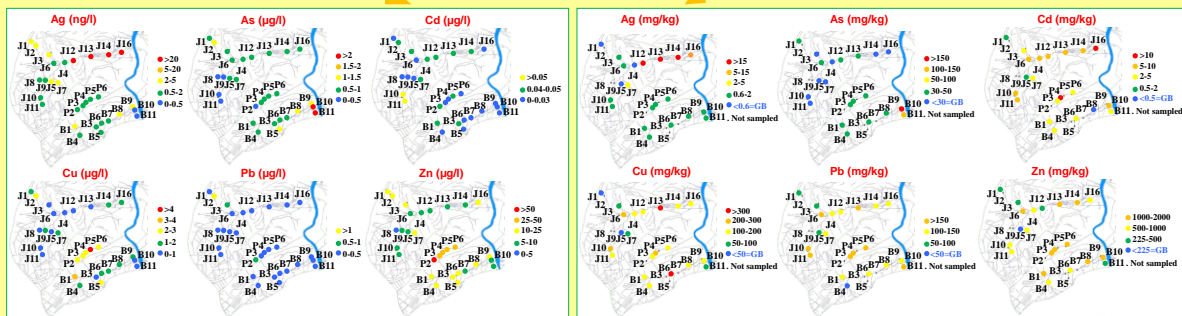
Sedimentary record



Vertical profiles of median grain-size (D50) and particulate ETM concentrations in the sedimentary core in the Jalle River

- 2 units with contrasting profiles: Surface unit [0-50 cm]; sand with high ETM concentrations
Deeper unit [>50 cm]; clay with stable ETM concentrations → Geochemical background values

Spatial distribution of dissolved and particulate ETM concentrations

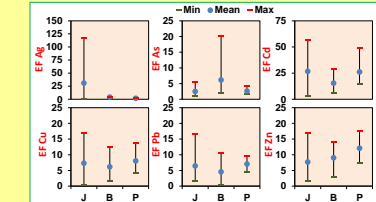


► High concentrations compared to the geochemical background (GB) for Ag in the Jalle, Zn and Cu in the Peugeot and As in the Eau Bourde; Anomalies on particulate Cd and Pb for the 3 suburban rivers

Enrichment Factor (EF):

$$EF = \frac{(C_{Me} / C_{Th})_{sample}}{(C_{Me} / C_{Th})_{reference}}$$

- EF max values
- EF max of Ag = 117
- EF max of As = 20
- EF max of Cd = 57
- EF max of Cu = 17
- EF max of Pb = 17
- EF max of Zn = 17



Statistical distribution of EF for the ETM in the three suburban watersheds (J: Jalle, B: Bourde and P: Peugeot)

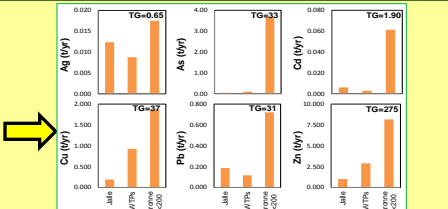
Extremely severe enrichment for Ag and Cd
Ag and Cd : industrial activities ?

Severe enrichment for Zn, Pb and Cu
Zn, Pb and Cu : urban habitation runoff ?

Severe enrichment for As
As : industrial incinerator ?

ETM Flux estimation

- During low river discharges (Q<200 m³/s), Ag from suburban rivers and WWTPs may significantly increase flux in the Garonne-Gironde System; moderate contribution for Cu, Zn and Pb.
- weak impact for As and Cd coming essentially from the Garonne watershed whatever water discharges
- During moderate to high river discharges : insignificant urban impact whatever elements.

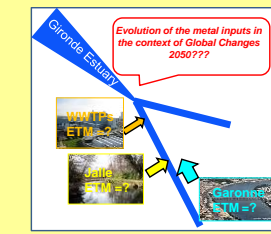


Annual total metal fluxes for the Jalle River and the WWTPs ; comparison with the Garonne River export for the whole 2012-year (total flux; TG in t/yr) and during low water discharges (Q<200 m³/s) for 2012.

CONCLUSIONS

- Snapshot campaign in 3 contrasting watersheds: different ETM sources on the geochemical quality (in dissolved and particulate phases) in suburban rivers with high EF.
- Flux quantification in a suburban river: significant contribution of suburban rivers and WWTPs on ETM inputs in the Garonne-Gironde Systems (highly for Ag; moderately for Cu, Zn and Pb) during low water discharges.

These results allow to conclude that urban environments may be a major additional source of Ag contaminations in the aquatic systems, especially in the current context of the global changes (population growth, urban sprawl, severe and long periods of low water levels, ...)



Annexe 11

Kessaci K., Coynel A., Blanc G., Deycard V.N., Schäfer J. (2014)

Impact des changements globaux sur la quantité et la qualité des transports biogéochimiques : cas de l'environnement fluvio-estuarien Lot-Garonne-Gironde.

Colloque Gagilau 2014 – Quels fleuves et estuaires pour demain?, 14 – 16 Mai 2014, Toulouse, France.

Impact des changements globaux sur la quantité et la qualité des transports biogéochimiques :

cas de l'environnement fluvio-estuarien Lot-Garonne-Gironde

KESSACI Kahina, COYNEL Alexandra, BLANC Gérard, DEYCARD Victoria Nicole et SCHÄFER Jörg
Univ. Bordeaux, UMR CNRS 5805 EPOC, 33405 Talence, France; *k.kessaci@epoc.u-bordeaux.fr



Introduction

Les modifications environnementales induites par le changement climatique et/ou le développement des activités humaines (industrialisation, urbanisation, pression agricole) sont désormais perceptibles à l'échelle de la planète. A l'échelle régionale, le continuum fluvio-estuarien Lot-Garonne-Gironde est soumis à une pollution polymétallique historique d'origine industrielle. Dans ce bassin versant, il est attendu que les changements globaux causeront des modifications locales des régimes hydrologiques et inciteront à la mise en place de certaines politiques d'adaptation... ce qui risque d'impacter la quantité et la qualité des flux de matières exportés, à l'interface du continent-océan.

Matériels et méthodes

1 Mise en place d'un réseau d'observation hydrogéochimique :
 → Mesures journalières des débits (Q) et des Matières En Suspension (MES)
 → Mesures mensuelles des concentrations en Eléments Traces Métalliques dissous et particulaires (ETM)

2 *Fig. 2 Préleveur automatique (SIGMA 900P) sur le site de Joany (Riou-Mort)*

Suivi hydrogéochimique à haute résolution temporelle (sub-journalière) des évènements de crues durant 2013.

Fig. 3 Barrages de Temple (Lot aval)

3 Campagne spatiale :
 → N = 30 échantillons (sédiments de surface et eau) ont été collectés dans 3 rivières sub-urbaines (la Jalle de Blanquefort, l'Eau Bourde et le Peugue)

Estimation des flux exportés via un suivi hydrogéochimique à l'exutoire de la Jalle de Blanquefort.

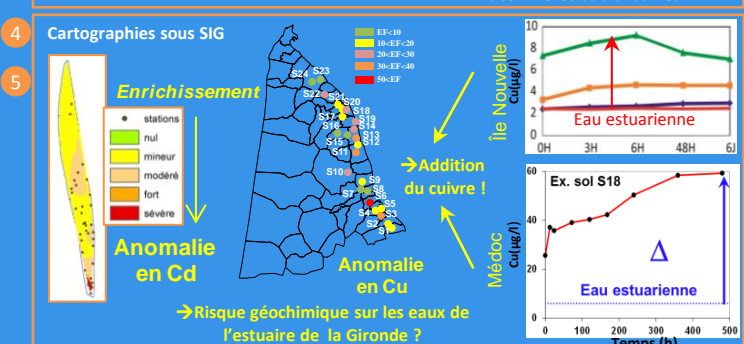
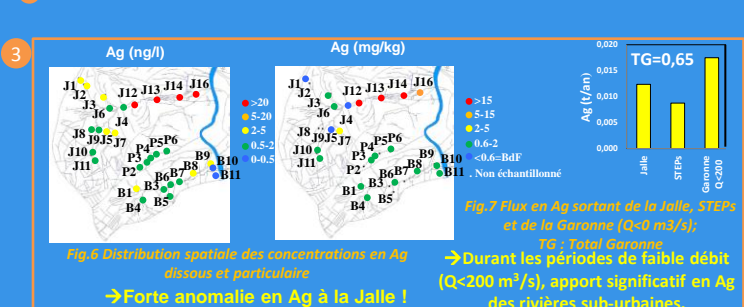
Fig. 4 A. Campagne spatiale, B. Garonne longeant Bordeaux

4 Campagne spatiale :
 → N = 24 sols viticoles (Médoc)
 → N = 50 sols et vase (île nouvelle)

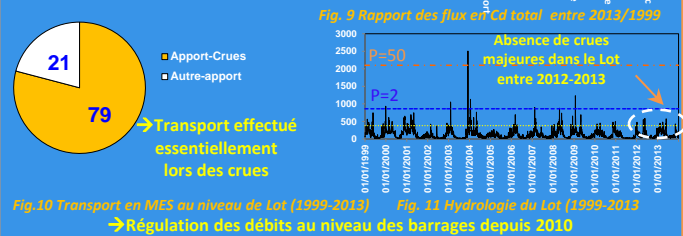
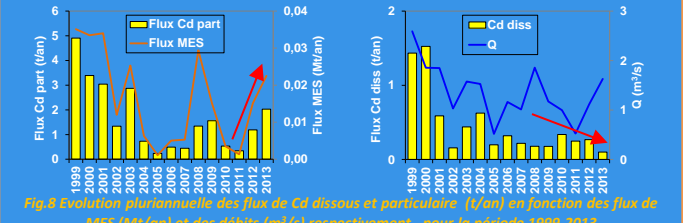
Test de lixiviation à différentes salinités
 Cartographies sous Système d'Information Géographique (SIG)

5 **Cinétique de désorption**
 Fréquence de prélèvement :
 Durée totale 20 jours
 0 h, 12.5h, 24h, 48h, 72 h, 7 J, 10 J, 15 J, 20 J

Fig. 5 Stratégie d'échantillonnage et test de lixiviation



Résultats



Conclusions/Perspectives

→ Les résultats montrent l'impact de l'hydrologie, des activités anthropiques et des aménagements (barrages, écluses...) sur la variation et/ou la régulation des flux géochimiques exportés,

→ L'intégration des données obtenues, au niveau des différents compartiments (bassins versants amont, agglomération bordelaise, zones intra-estuariennes...) permettront de modéliser conceptuellement le fonctionnement actuel du continuum fluvio-estuarien (Riou-Mort-Lot-Garonne-Gironde) et de simuler son comportement futur en fonction des différents scénarii d'évolution du changement global.

Annexe 12

Baudrimont M., Dranguet P., Gourves P-Y., Gonzalez P., Legeay A. (2013)

Isolated and combined effects of hypoxia and nickel contamination in the Asiatic clam *corbicula fluminea*.

SETAC North America 34th Annual Meeting, 17-21 Nov 2013, Nashville, USA.

Isolated and combined effects of hypoxia and nickel contamination in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*

Magalie Baudrimont, Perrine Dranguet, Pierre-Yves Gourves, Patrice Gonzalez and Alexia Legeay.
University Bordeaux 1, UMR CNRS EPOC 5805, Aquatic Ecotoxicology team, Arcachon, France.

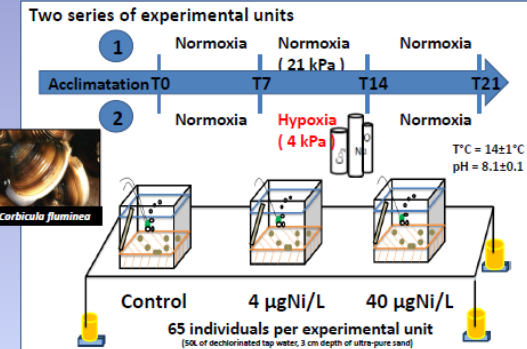
Introduction

Since the beginning of industrial era, most aquatic ecosystems are threatened by many types of pollution such as metals. The Gironde estuary, historically polluted by polymetallic contamination originating from its catchment basin, also suffers of the presence of the urban area of Bordeaux, located on the middle part of the Garonne river. This sensitive zone is periodically submitted to increasing periods of high temperatures, outflow reducing and hypoxia in summer, jointly to discharges of urban, industrial and agricultural pollutants in the river bed. Among metals, nickel (Ni) is highly bioaccumulated by organisms living in this area. In order to understand the combined effects of hypoxia and Ni exposure on the Asiatic clam *Corbicula fluminea*, we experimentally exposed these bivalves in controlled conditions under realistic conditions encountered in the Garonne river. *C. fluminea* were exposed to 4 and 40 µg/L of Ni during 21 days, and one period of hypoxia during the second week of exposure was applied to half of the organisms at a pressure of 4 kPa (21 kPa for normoxic conditions). Ni accumulation, metallothionein concentrations and quantitative gene expression of superoxide dismutase, catalase, glutathione-s-transferase, metallothionein, cytochrome c oxidase subunit 1 and 12S were studied in gills and visceral mass of bivalves.

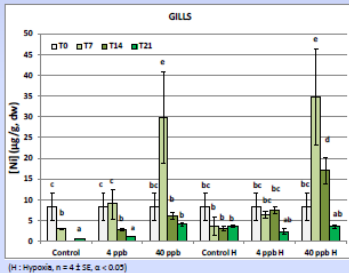


The Gironde estuary, France

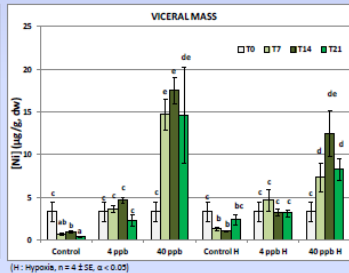
Methods



Results and discussion

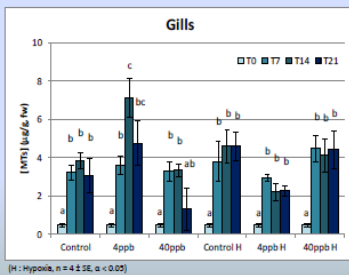


[H: Hypoxia, n=4±SE, α<0.05]

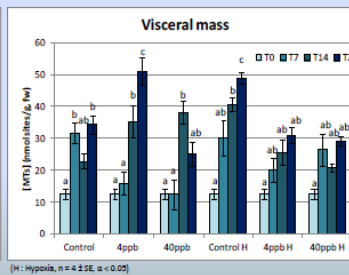


[H: Hypoxia, n=4±SE, α<0.05]

No accumulation of Ni was observed after exposure to 4 µg/L, under normoxia or hypoxia. On the contrary, Ni was accumulated in gills and visceral mass after exposure to 40 µg/L, but a process of regulation was observed since Ni concentrations decreased in gills after 14 and 21 days exposure and was maintained in visceral mass. After a one week period of hypoxia, the regulation capacity of Ni in gills was delayed for 40 µg/L, and the bioaccumulation in visceral mass was jointly lowered compared to normoxia, suggesting a lower transfer of Ni from gills to internal organs.



[H: Hypoxia, n=4±SE, α<0.05]



[H: Hypoxia, n=4±SE, α<0.05]

Metallothioneins (MTs) concentrations were modulated after exposure to Ni under normoxia or hypoxia conditions in gills and visceral mass, notably after exposure to 4 µg/L, compared to controls. In gills, an increase of MTs concentrations was noted after 14 days exposure to 4 µg/L without any accumulation of Ni. These results suggest a probable role of MTs in Ni regulation in gills. This response wasn't observed under hypoxia where regulation was delayed. In visceral mass, the same increase in MTs concentrations was observed after 4 µg/L and 21 days of exposure, with no response under hypoxia. Note that an increase of MTs concentrations was also observed for controls under hypoxia compared to normoxia, underlining a direct effect of hypoxia on these proteins.

Organs	Genes	T7		T14		T21	
		4 µg/L	40 µg/L	4 µg/L	40 µg/L	4 µg/L	40 µg/L
Gills	sod	3	2,3	0,3	0,3	/	0,4
	cat	/	/	0,1	0,4	/	/
	gpt	/	/	0,3	0,3	/	/
	mt	/	/	0,2	0,3	/	/
	cox1	3	/	/	/	/	0,4
	12S	/	/	0,4	/	/	0,3
Visceral mass	sod	/	/	/	0,3	/	/
	cat	/	/	/	6	/	/
	gpt	/	/	/	9	/	/
	mt	/	/	/	2	/	/
	cox1	/	/	/	/	/	/
	12S	/	/	/	/	/	/

/: identical at the individual's control.

Table 1: Significant variations in gene expressions compared to Normoxic controls in gills and visceral mass of *C. fluminea*. (>2: induction, <0,5: repression, mean ± SE, n=4).

Organs	Genes	T14		T21	
		4 µg/L	40 µg/L	4 µg/L	40 µg/L
Gills	sod	/	/	/	2,6
	cat	0,2	4,4	/	2,6
	gpt	/	/	/	/
	mt	/	2,6	/	/
	cox1	0,08	/	/	36
	12S	/	/	/	5,5
Visceral mass	sod	/	/	/	/
	cat	/	0,13	19	10
	gpt	/	/	/	/
	mt	/	3,7	/	0,34
	cox1	/	2,6	31	/
	12S	/	2,6	/	/

/: identical at the individual's control.

Table 2: Significant variations in gene expressions compared to Hypoxic control in gills and visceral mass of *C. fluminea*. (>2: induction, <0,5: repression, mean ± SE, n=4).

In gills, after exposure to 4 µgNi/L, an oxidative stress and an increase of the mitochondrial metabolim was observed, even if no bioaccumulation of Ni was observed. After 14 days, repressions were observed with no more response after 21 days, suggesting an adaptation of organisms to Ni exposure. For 40µgNi/L, the same pattern was observed with an impact still visible after 21 days. In visceral mass, only variations in gene expressions were observed after 14 days at 40 µgNi/L, with the generation of an oxidative stress and an increase in the mechanisms of detoxification, followed by an adaptation.

Under hypoxia, the effect of Ni exposure is completely changed, with repressions in gills after 14 days and only an induction of mt gene at 40 µgNi/L. On the contrary, overexpressions were observed after 21 days at 40 µgNi/L, signifying an important oxidative stress and a perturbation of mitochondrial metabolism in organisms. In visceral mass, gene expressions were essentially induced, with the same consequences as observed in gills.

Conclusion

This experiment demonstrated the regulation of Ni concentrations in organs of *Corbicula fluminea*, which is decreased under hypoxia conditions. MTs concentrations were increased by Ni or hypoxia conditions but only at low Ni concentrations. Gene expressions underlined an adaptive response of organisms after exposure to 4 µgNi/L or 40 µgNi/L. Under hypoxia conditions, Ni led to overexpressions of genes implied in oxidative stress and mitochondrial metabolim, suggesting deleterious effects of the double stress conditions Ni and hypoxia. These results demonstrated the weakening of the organisms if submitted to the Garonne river conditions.

Annexe 13

Marron Lucie.

Influence des rejets urbains sur la matière organique sédimentaire et conséquence pour la méiofaune benthique dans l'estuaire fluvial de la Gironde.

Rapport de stage de M2, Juin 2013.

RAPPORT DE STAGE Master 2
présenté par

Lucie MARRON

Master 2 Recherche Océanographie côtière
Université Bordeaux 1

**Influence des rejets urbains sur la matière organique sédimentaire
&
conséquence pour la méiofaune benthique
dans
l'estuaire fluvial de la Gironde**

Encadré par :

Nicolas Savoye

François Dindinaud

Guy Bachelet

Station Marine d'Arcachon
Equipe ECOBIOC
UMR 5805 EPOC (CNRS / Université Bordeaux 1)
OASU, 2 rue du Professeur Jolyet, 33120 Arcachon
& Campus de Talence, B18

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma grande reconnaissance à Nicolas Savoye qui, en me proposant ce stage, m'a permis de mener intégralement une étude en écologie isotopique : de la préparation des échantillons à l'analyse multivariée, en passant par le capricieux spectromètre de masse, *alias* « la bête ». Je te remercie pour ta sympathie, ta grande disponibilité et tes explications claires.

Je remercie François Dindinaud et Guy Bachelet pour leur encadrement complémentaire et leur relecture du rapport. François, merci de m'avoir confié tes échantillons. J'espère que tes travaux associés à mes résultats d'isotopie aboutiront à des résultats importants, à propos de ce sujet pionnier. Bon courage pour la suite de ta thèse !

Un grand merci à Karine Charlier pour les semaines au spectromètre de masse à Talence. De savoir si bien apprivoiser et comprendre « la bête ».

Merci aussi à Sabrina Bichon pour son aide apportée au laboratoire de chimie (emplacement du matériel, décarbonatation), de m'avoir montré comment bichonner (sans jeu de mot) le vieux lyophilisateur pour le maintenir en vie.

Je tiens à remercier Valérie David et Sophie Dubois pour leur aide précieuse à propos des traitements multivariés sous le logiciel R. Vos scripts avec boucle et explications m'ont permis d'aborder des analyses qui m'étaient inconnues jusqu'à maintenant et gagner un temps précieux.

Un grand merci aux autres stagiaires présent à la station pour les bon moments de rigolade et soutien. Adeline, Alisée, Audrey, Marine, Marion, Méline, Vania, Thomas, nos confidences autour d'un café et/ou thé ou au labo étaient fort sympathiques et salutaires !

Pour finir, merci à tout le personnel de la station pour les grandes tablées animées à la cantine le midi.

Sommaire

Table of Contents

Remerciements.....	2
I / INTRODUCTION.....	5
II / MATERIEL ET METHODES	8
1. Site d'étude	8
2. Echantillonnage	8
2.1. Stratégie générale.....	8
2.2. Echantillonnage du sédiment.....	9
2.3. Extraction du microphytobenthos.....	10
3. Analyses élémentaires et isotopiques.....	10
3.1. Préparation des échantillons.....	10
3.2. Analyses au spectromètre de masse	11
4. Analyses numériques.....	11
4.1. Statistiques multivariées.....	11
4.2. Le modèle de mélange.....	12
III / RESULTATS	13
1. Variabilité des rapports isotopiques et élémentaires de la MOS.....	13
2. Composition de la matière organique sédimentaire.....	19
3. Structure de la méiofaune benthique.....	21
IV / DISCUSSION.....	22
1. Composition de la matière organique sédimentaire : variabilité et forçages.....	22
2. Composition de la matière organique sédimentaire et structure de la méiofaune benthique.....	25
Conclusion	27
Bibliographie	29
ANNEXES	31
Annexe 1 : Dendrogramme et test Simprof séparant les associations mois-station en cinq groupes significatifs.....	31
Annexe 2 : Composition des groupes simprof en terme de mois et stations.....	32
Annexe 3 : Variation temporelle du débit de Garonne et Dordogne.	33
Moyenne mensuelle de deux stations amont-aval, pleine mer-basse mer.....	33

I / INTRODUCTION

Les estuaires correspondent à la partie terminale des fleuves à l'interface continent-océan. Ce sont des zones de mélange entre eau douce et eau salée, ainsi il existe de nombreux gradients (salinité, température...). Un gradient horizontal de salinité croissante est présent de l'amont vers l'aval de l'estuaire et un autre vertical : de la surface vers le fond. Les estuaires européens sont majoritairement macrotidaux. Autrement dit, l'influence de la marée est plus forte que le débit du fleuve. Cette forte influence marine provoque un long temps de résidence des masses d'eaux et des matières en suspension, entraînant ainsi une zone de turbidité maximum appelée « bouchon vaseux » (Allen et al., 1980 ; Jouanneau et al., 1999). Les concentrations de matières en suspension rencontrées au sein du bouchon vaseux sont de 100 à 500 fois plus importantes à celles retrouvées dans le fleuve ou en mer (Romaña, 1994). Le bouchon vaseux remonte vers l'amont en période d'étiage et descend vers l'aval en période de crue, et selon le moment de la marée (flot ou jusant) (Etcheber et al., 2011). Enfin, dans le bouchon vaseux, la forte turbidité limite la pénétration lumineuse et réduit considérablement la production primaire (Irigoiien & Castel, 1997).

Les estuaires sont divisibles en trois secteurs: l'estuaire marin situé en aval au niveau de l'embouchure et subit une forte influence marine (eaux fortement salées) ; l'estuaire moyen est constitué d'eau saumâtre. Ces deux secteurs forment l'estuaire halin. Enfin, dans le secteur le plus en amont se situe l'estuaire fluvial, caractérisé par de l'eau oligohaline (faible salinité) mais encore sujet à l'influence de la marée dynamique (Guézennec L., 1999).

Dans les systèmes aquatiques, le sédiment représente un habitat pour les espèces benthiques ; sa matière organique et ses différents composants peuvent également être une ressource trophique pour de nombreuses espèces, comme par exemple celles de la meiofaune benthique (Lebreton et al., 2012). En effet, la matière organique constitue un relais entre les divers producteurs et consommateurs primaires qui sont à la base des réseaux trophiques. Dans les écosystèmes côtiers comme les estuaires, la matière organique sédimentaire (MOS) est issue de nombreuses sources qui sont à la fois marines, continentales et autochtones (Savoye *et al.*, 2012). Selon sa composition, la MOS peut être plus ou moins biodisponible pour les consommateurs. Ainsi, outre la quantité, la composition de la MOS peut influencer la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Dubois et al., 2012).

La méiofaune est définie comme étant tous les organismes dont la taille est comprise entre 40µm et 1mm (définition selon Higgins et Thiel, 1988). Le méiobenthos ou méiofaune benthique rassemble des organismes passant toute leur vie au sein de cette gamme de taille (méiobenthos vrai), et d'autres dont seul le stade juvénile est compris dans la méiofaune (méiobenthos temporaire). Les principaux taxons de méiobenthos vrai sont les nématodes (vers cylindriques, sous-embranchement), les copépodes (crustacés planctonique ou benthique). Un grand nombre de stades juvéniles du macrobenthos comme les annélides, bivalves, amphipodes sont retrouvés dans le méiobenthos. Ces organismes possèdent de nombreuses adaptations morphologiques et biologiques à la vie enfouie, qui sont fondamentales pour le fonctionnement de l'écosystème. La bioturbation (mobilité), nutrition et le mode de reproduction conditionnent les flux de matière dans le sédiment. Quatre modes de nutrition sont utilisés par le méiobenthos (Swedmark, 1964) : certains taxons sont les prédateurs de microfaune, méiofaune, voire de petite macrofaune vivante, alors que d'autres sont essentiellement brouteurs de films bactériens et de diatomées. Enfin, d'autres taxons sont détritivores ou suspensivores.

Dans les estuaires, la matière organique particulaire (MOP en suspension et sédimentaire) provient de sources naturelles continentales et marines telles que le sol, les végétaux supérieurs terrestres et aquatiques, le phytoplancton, le microphytobenthos, les macroalgues. Tandis que les sources anthropiques de MOP proviennent principalement des rejets urbains et agricoles. La MOP des végétaux supérieurs est riche en cellulose donc réfractaire, c'est-à-dire qu'elle est difficile à dégrader et à bioassimiler, contrairement à la MOP algale qui est labile, autrement dit, facilement dégradable ou bioassimilable (Veyssy et al., 1999 ; Etcheber et al., 2007).

La distinction entre les matériels issus des différentes sources et réservoirs d'origine peut se faire grâce à des descripteurs de la matière organique particulaire, tels que les compositions élémentaires et isotopiques du carbone et de l'azote (Fontugne et al., 1987 ; Middelburg et al., 2007 ; Savoye et al., 2012). Le carbone organique particulaire (COP) et l'azote organique particulaire (NOP) décrivent l'ensemble de la MOP sans distinction d'origine, puisque ils sont des constituants de toute matière organique. Cependant leur rapport (C/N) permet de discriminer, par exemple, le matériel algal du matériel terrestre (Dubois, 2012). L'utilisation combinée des rapports des isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) permet d'affiner la discrimination des différentes sources de MOP. Cette discrimination est souvent spécifique au site d'étude (Cifuentes et al., 1988 ; Liu et al., 2006).

L'estuaire de la Gironde a fait l'objet de nombreuses études biologiques et biogéochimiques depuis plusieurs dizaines d'années (e.g. Abril et al., 2002 ; David et al., 2006, 2007 ; Doxaran et al., 2009 ; Savoye et al., 2012 ; Schäfer et al., 2002). Il fait également l'objet de suivis d'observation et de surveillance, que ce soit dans sa partie fluviale ou dans sa partie haline (réseaux SOMLIT (<http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>) et MAGEST (<http://www.magest.u-bordeaux1.fr/>) ; surveillance de la centrale nucléaire du Blayais). La composition de la matière organique particulaire en suspension dans la colonne d'eau a été estimée en limite amont de l'estuaire (Veyssy et al., 1999 ; Etcheber et al., 2007), dans l'estuaire fluvial (programme ETIAGE ; Nzimandoukou, 2012), dans la zone de turbidité maximum (Etcheber *et al.*, 2007) et dans l'estuaire halin (Fontugne et Jouanneau, 1987 ; Savoye et al., 2012). Ces études ont mis en évidence une très forte dominance du matériel terrestre dans la MOP. Toutefois, il n'existe actuellement aucune étude portant sur l'origine de la MOS en Gironde fluvio-estuarienne. Par ailleurs, deux sources n'ont pas ou peu été prises en compte dans les précédentes études : le microphytobenthos et le matériel anthropique.

Le programme ETIAGE (Etude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne) débuté en 2010, étudie les impacts des rejets urbains de Bordeaux, du bouchon vaseux et des métaux sur la biogéochimie et la biologie de la Garonne estuarienne. Il est subdivisé en 5 axes de recherche qui possèdent des thématiques complémentaires au sein des eaux de la Garonne estuarienne. Le premier étudie les apports organiques et leur effet sur l'oxygénation des eaux, les deux autres étudient les flux de contaminants organiques et les apports métalliques. Le quatrième est une approche de l'impact des conditions physico-chimiques sur les cortèges biologiques. Enfin, le cinquième axe synthétise les pressions et les impacts sur les eaux de la Garonne estuarienne, afin de proposer un plan de gestion.

Dans ce contexte scientifique et programmatique (axe 1 d'ETIAGE), ce stage a pour objectifs :

- 1) d'estimer la contribution de chacune des sources à la composition de la matière organique sédimentaire (MOS) de l'estuaire fluvial (Garonne et Dordogne) et d'en décrire les forçages environnementaux.

- 2) de comparer la dynamique spatio-temporelle de cette composition avec celle de la structure de la méiofaune benthique, afin d'investiguer un éventuel lien trophique structurant.

II / MATERIEL ET METHODES

1. Site d'étude

L'estuaire de la Gironde, situé au sud-ouest de la France, est issu de la confluence entre la Garonne et la Dordogne et s'étend du Bec d'Ambès au golfe de Gascogne. C'est l'un des plus vastes estuaire d'Europe (625 km²). Il est de régime macrotidal partiellement à bien mélangé, et son débit moyen annuel est d'environ 1100 m³/s ; Etcheber et al., 2007). La profondeur varie de 5 à 8m dans la partie haute et peu atteindre 20m dans la partie basse de l'estuaire. L'intrusion de la salinité remonte, en période d'étiage, au-delà du Bec d'Ambès : la salinité atteint des valeurs inférieures à 0,5 à Libourne et oscille entre 0,5 et 1,5 à Bordeaux (Etcheber et al., 2011). La limite de la marée dynamique se situe à La Réole en Garonne et à Pessac-sur-Dordogne en Dordogne.

Le temps de résidence de l'eau varie de deux semaines à 3 mois et celui des particules est de un à deux ans (Jouanneau et Latouche, 1981). Celui-ci est long et permet alors la formation d'un bouchon vaseux, ou zone de turbidité maximum, dont la concentration en matière en suspension (MES) est supérieure ou égale à 0.5g/l (Savoie et al., 2012). Pendant la période d'étiage, le bouchon vaseux est large (70km de long) et centré au niveaux de la communauté urbaine de Bordeaux (Sottolichio et Castaing, 1999). En revanche, il descend vers l'aval, voire est chassé vers l'océan en période de crue (Doxoran et al., 2009).

2. Echantillonnage

2.1. Stratégie générale

L'échantillonnage du sédiment a été effectué en zone intertidale, environ mensuellement (février 2011 - février 2012), le long du système fluvio-estuarien ([Figure 1](#)), à cinq stations en Garonne — G1 à proximité du Bec d'Ambès, G2 (Bacalan), G3 (Bordeaux) et G4 (Bègles) au niveau de l'agglomération bordelaise, et G5 à Langoiran — et quatre stations en Dordogne — D1 à proximité du Bec d'Ambès, D2 à Cubzac-les-ponts, D3 à Izon et D4 à Libourne. Une partie des prélèvements de sédiment a servi à mesurer les descripteurs de la MOS (COP, NOP, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, chlorophylles *a*, *b* et *c*, phéophytines *a*, *b* et *c*), tandis qu'une autre partie a été utilisée pour le dénombrement et la détermination de la méiofaune benthique.

Pour la détermination de ses signatures isotopiques et élémentaires, le microphytobenthos a été prélevé aux stations G2, G5 en Garonne (22 avril 2013), et D2 , D4 en Dordogne (23 avril 2013).

Les signatures isotopiques et élémentaires de la matière anthropique ont été mesurées sur des échantillons prélevés mensuellement (juin 2011 – avril 2012) en sortie de deux stations d'épuration de la communauté urbaine de Bordeaux (Nzimandoukou, 2012). Celles du phytoplancton, de la matière organique terrestre réfractaire et de la matière organique labile ont été estimées à partir des données SOMLIT (années 2007-2010 ; Savoye et al., 2012 ; Nzimandoukou, 2012). estimées à partir des données SOMLIT (années 2007-2010 ; Savoye et al., 2012 ; Nzimandoukou, 2012).

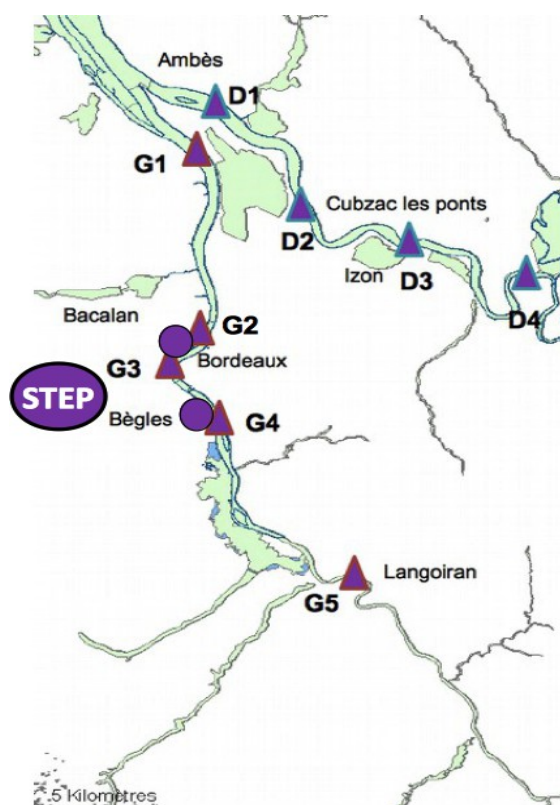


Figure 1: Carte des stations d'échantillonnage ETIAGE. STEP : station d'épuration

2.2. Echantillonnage du sédiment

Le premier centimètre (sédiment pour analyses chimiques) ou le premier demi-centimètre (sédiment pour l'extraction du microphytobenthos) a été prélevé manuellement en triplicat. Le

sédiment a été placé dans une barquette en aluminium stockée au congélateur (-20°C). Lors du cycle annuel (février 2011 – février 201é), le sédiment a été prélevé par F. Dindinaud (EPOC).

2.3. Extraction du microphytobenthos

Au laboratoire, le sédiment a subi un bain à ultrasons afin de décrocher les cellules algales des particules sédimentaires. Celles-ci ont été séparées par densité dans une solution de tungstate de sodium (Méléder, méthode non publiée). *In fine*, deux fractions microphytobenthiques (diatomées et euglénophyceae) ont été recueillies par filtration (filtres GF/F brûlés pendant 4h à 450°C). Les filtres ont été placés dans un pilulier en verre, séchés à l'étuve (60°C) pendant une nuit, puis stockés en dessiccateur jusqu'aux analyses.

Cette extraction a été effectuée par S. Dubois (EPOC).

3. Analyses élémentaires et isotopiques

3.1. Préparation des échantillons

Sédiment :

Les échantillons de sédiment ont été lyophilisés, puis broyés et tamisés (maille : 500µm). Un aliquote a été conditionné dans un pilulier en verre. Quelques jours avant l'analyse, les échantillons de sédiment ont été pesés et placés dans des capsules d'étain (analyse de l'azote) ou d'argent (analyse du carbone). Ces derniers ont été ensuite décarbonatés (HCl 1.2N ; Kennedy et al., 2005) afin d'éliminer le carbone inorganique dont la présence biaiserait l'analyse du carbone organique. Enfin, les capsules ont été pliées et stockées dans des plaques à puits numérotés, jusqu'à l'analyse au spectromètre de masse. Les capsules en argent ont de plus ont été emballées dans une capsule en étain.

Microphytobenthos :

Les filtres de microphytobenthos ont également été décarbonatés (HCl fumant pendant 4h ; Lorrain et al., 2003). Avant analyse, tout ou une partie du filtre a été grattée à l'aide d'une microspatule. La poudre obtenue a été placée dans une capsule d'étain.

3.2. Analyses au spectromètre de masse

Un analyseur élémentaire (CarloErba NC2500®) couplé à un spectromètre de masse à rapports isotopiques (Isoprime, GV Instruments®) a été utilisé pour mesurer les rapports élémentaires (C/N) et isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) des sédiments et du microphytobenthos. Tous les jours d'utilisation, les deux appareils ont été calibrés et leurs dérives éventuellement corrigées à l'aide de standards dont les signatures isotopiques et élémentaires sont connues. Ces matériaux de référence sont soit internes au laboratoire (caséine, glycine) soit commerciaux (acétanilide).

Les rapports isotopiques sont reportés selon la notation delta δ (‰) :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{échantillon}} \text{ ou } \delta^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} = (\mathbf{R}_{\text{échantillon}} / \mathbf{R}_{\text{référence}} - 1) \times 1000$$

avec $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ ou ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$, où la référence pour le $\delta^{13}\text{C}$ est le PDB (la Bélemnite une roche calcaire) et le diazote N_2 atmosphérique pour le $\delta^{15}\text{N}$.

L'incertitude des analyses de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ était inférieure ou égale à 0,2‰ et celle des analyses de C/N inférieure ou égale à 0,2 mol.mol⁻¹.

4. Analyses numériques

Avant toute analyse numérique, les répliqués des rapports isotopiques et élémentaires ont été moyennés par association mois-station. Le nom de ces associations est écrit sous la forme : Intertidal-Mois-Station. Par exemple, I2D4 désigne les sédiments de la zone intertidale échantillonnés en février 2011 à la station D4 (Dordogne, Libourne). Et I22D4 désigne la même station échantillonnée en février 2012.

4.1. Statistiques multivariées

Le logiciel R (version 2.15.2) a été utilisé pour les analyses statistiques multivariées et les données ont été d'abord centrées-réduites.

Des dendrogrammes (analyse de groupement à ascendance hiérarchique) ont été produits à l'aide de matrices de similarité basées sur les distances euclidiennes et la méthode des moyennes (package R vegan), afin de grouper les observations par similarité et de mettre en évidence une éventuelle zonation et/ou une éventuelle saisonnalité. Le test Simprof (package R clustsig) associé aux dendrogrammes, a permis l'identification des groupes significativement différents. Ce test effectue un grand nombre de permutations entre les objets afin de rassembler les objets ayant des

distances proches. Un dendrogramme a été produit à partir des signatures élémentaires et isotopiques.

Deux analyses en composantes principales (ACP) ont été appliquées d'une part sur les rapports isotopiques et élémentaires et d'autre part sur les compositions relatives de la MOS pour mettre en évidence les relations entre les rapports isotopiques et élémentaires d'une part et entre les compositions relatives d'autre part (package FactoMineR).

Enfin, des analyses canoniques de redondance (ARD) ont été effectuées pour investiguer l'éventuel lien entre 1) forçages environnementaux et rapports isotopiques et élémentaires, 2) forçages environnementaux et contributions relatives des sources de MOS et 3) contributions relatives des sources et abondances de la méiofaune pour toutes les stations et saisons (packages ade4 et vegan). L'ARD utilise la distance euclidienne pour établir des relations linéaires (régressions multiples) entre les paramètres de la MOS et des paramètres environnementaux.

Les paramètres environnementaux étudiés sont le débit, la température, la conductivité, la température, le point kilométrique, les concentrations en MES, en chlorophylle *a*, phéophytine *a* et le COP des sédiments. Pour chaque fleuve et à chaque date, les paramètres de la colonne d'eau (débits, température, conductivité) sont représentés par une valeur moyenne.

4.2. Le modèle de mélange

Le modèle de mélange tournant avec le package SIAR (Stable Isotope Analysis in R ; R 2.15.2) a été utilisé pour quantifier la contribution relative de chaque source à la matière organique sédimentaire (Parnell et al., 2010). Le modèle de mélange est un système de quatre équations à n inconnues, n étant le nombre de sources de MOS prises en compte. Ce système est basé sur des équations de bilan de masse établies à partir des rapports isotopiques et élémentaires :

$$\begin{aligned} \delta^{13}\text{C}_{\text{mélange}} &= x_1 \delta^{13}\text{C}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{13}\text{C}_{\text{source n}} \\ \delta^{15}\text{N}_{\text{mélange}} &= x_1 \delta^{15}\text{N}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{15}\text{N}_{\text{source n}} \\ \text{C/N}_{\text{mélange}} &= x_1 \text{C/N}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \text{C/N}_{\text{source n}} \\ x_1 + \dots + x_n &= 1 \end{aligned}$$

Le modèle détermine toutes les combinaisons possibles de proportion de sources dont la somme est égale à 100 %. Les combinaisons sont calculées à partir des signatures isotopiques et élémentaires en carbone et azote. Les sources sont définies au préalable par l'utilisateur. Au final les résultats obtenus sont la contribution moyenne associée à son écart-type, pour chaque source

et par échantillon. Ce système peut être sous-déterminé (plus d'inconnues que d'équations). Plus le système est sous-déterminé, plus l'incertitude associée aux résultats est forte. Il est donc essentiel de minimiser le nombre de sources (Philipps et Gregg, 2003) afin de minimiser l'incertitude sur les résultats.

Pour cette étude, les sources potentielles considérées sont celles déjà décrites dans la littérature dédiée au site d'étude (Veyssy et al. 1999 ; Etcheber et al., 2007 ; Savoye et al., 2012) — la matière organique terrestre réfractaire (qui compose le bouchon vaseux), la matière organique labile (issue du sol et de la litière), le phytoplancton d'eau douce et la MOP anthropique — auquel nous avons ajouté deux taxons microphytobenthiques (diatomées et Euglenophyceae).

Toutefois, au vu des signatures isotopiques et élémentaires des sources potentielles de la MOS, le phytoplancton d'eau douce et la matière organique anthropique n'ont pas été considérés pour le modèle de mélange (voir la fin de la [section III/1](#)).

L'incertitude absolue sur les contributions est en moyenne 6,5 %, mais varie selon les sources de *ca.* 4 % (Euglenophyceae) à *ca.* 8 % (MOP terrestre réfractaire).

III / RESULTATS

1. Variabilité des rapports isotopiques et élémentaires de la MOS

Sur l'ensemble du jeu de données (n=83 associations mois-station), les rapports isotopiques et élémentaires de la matière organique sédimentaire de l'estuaire fluvial de la Gironde présentent la variabilité suivante ([Figure 2](#)) : les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ évoluent entre -26,7‰ et -22,9‰ (moyenne \pm écart type : $-25,3 \pm 0,7\text{‰}$), celles de $\delta^{15}\text{N}$ entre 4,8‰ et 6,6‰ (moyenne \pm écart type : $5,7 \pm 0,3\text{‰}$) et celles de C/N varient entre 8,9 et 12,8 mol.mol⁻¹ (moyenne \pm écart type : $10,9 \pm 0,7$ mol.mol⁻¹).

Les gammes de variabilité des rapports de la Garonne (moyenne \pm écart type : $\delta^{13}\text{C} = -25,2 \pm 0,7\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = 5,8 \pm 0,4\text{‰}$, C/N = $10,9 \pm 0,7$ mol.mol⁻¹) et de la Dordogne (moyenne \pm écart type : $\delta^{13}\text{C} = -25,4 \pm 0,7\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = 5,6 \pm 0,7\text{‰}$, C/N = $11,0 \pm 0,8$ mol.mol⁻¹) sont similaires.

Il existe une tendance à l'évolution inverse normale entre le $\delta^{13}\text{C}$ et le C/N.

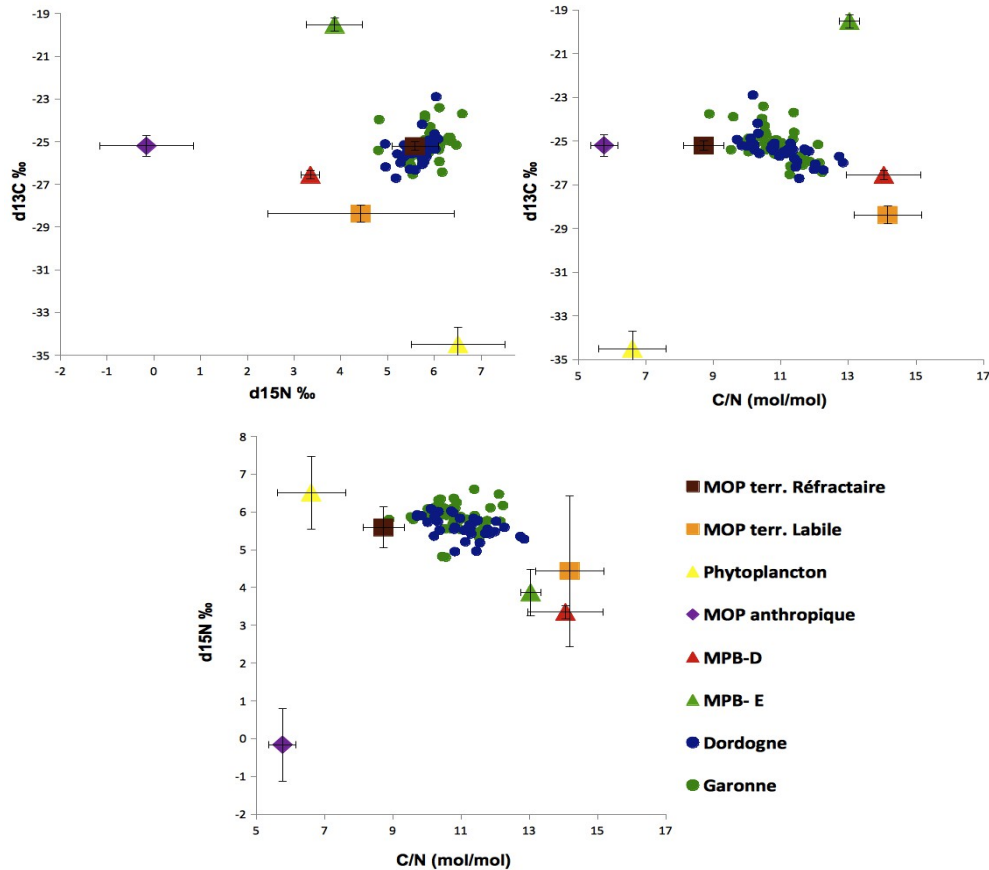


Figure 2: Signatures isotopiques et élémentaires des sédiments de Garonne et Dordogne ; des sources potentielles de la matière organique sédimentaire. MOP : matière organique particulaire, MPB : microphytobenthos (D: diatomées et E: Euglenophyceae)

Une classification ascendante hiérarchique a permis de mettre en évidence cinq groupes d'observations (*i.e.* de combinaisons mois-stations ; Figure 3). Deux groupes représentent à eux seuls 84% des observations (groupe 3 : 48 observations ; groupe 4 : 22 observations) tandis que les trois autres groupes ne représentent que 3 à 6 observations. A l'exception du groupe 2 qui n'est constitué que de stations de la Garonne, tous les autres groupes sont constitués de stations issues des deux fleuves. Les groupes 1, 3 et 5 sont principalement, voire exclusivement constitués d'échantillons prélevés du printemps à l'automne tandis que les groupes 2 et 4 sont principalement constitués d'échantillons hivernaux (Annexe 2).

Le groupe 3 (58% des observations) est caractérisé par des signatures isotopiques et élémentaires moyennes ($\delta^{13}\text{C} \approx -25,2\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} \approx 5,8\text{‰}$, $\text{C/N} \approx 10,6 \text{ mol.mol}^{-1}$) en comparaison des autres groupes (Figure 4). Le groupe 1 se distingue du groupe 3 par ses faibles $\delta^{15}\text{N}$ ($\sim 5\text{‰}$). Les groupes 2 et 4 possèdent de faibles $\delta^{13}\text{C}$ ($\sim -26\text{‰}$) et de forts C/N ($\sim 12 \text{ mol.mol}^{-1}$). Cependant le groupe 2 se distingue par ses valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ les plus élevées ($\sim 6\text{‰}$). Enfin, le groupe 5 ($n=6$) se distingue par de forts $\delta^{13}\text{C}$ ($\sim -24\text{‰}$) et de faibles C/N ($\sim 10,1 \text{ mol.mol}^{-1}$).

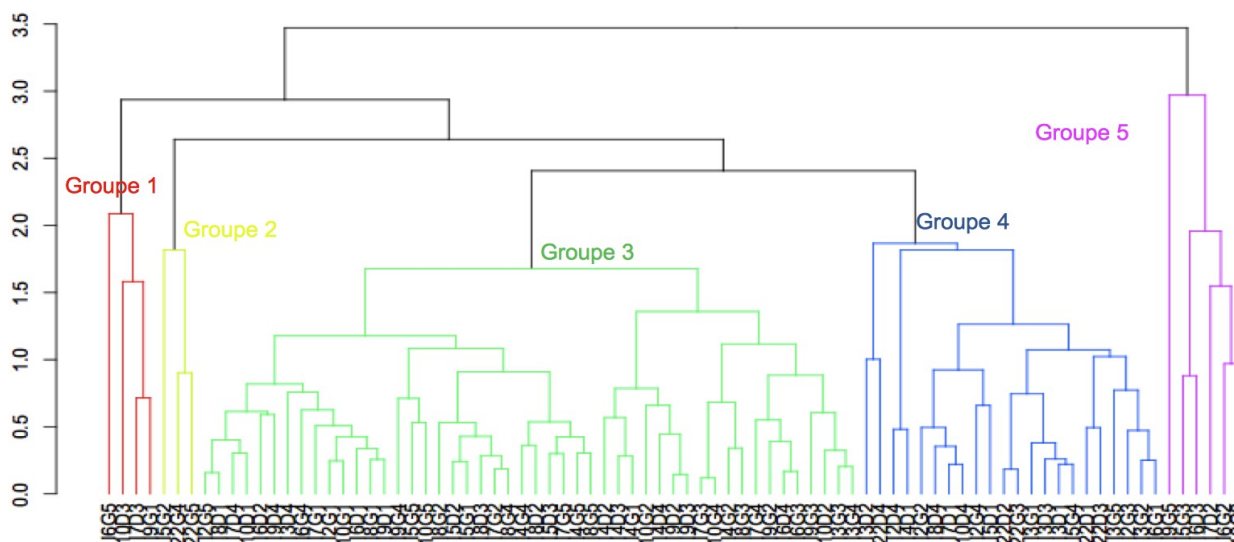


Figure 3: Classification ascendante hiérarchique et test Simprof (distance euclidienne, méthode des moyennes) à partir des valeurs isotopiques et élémentaires de la MOS en Garonne et Dordogne.

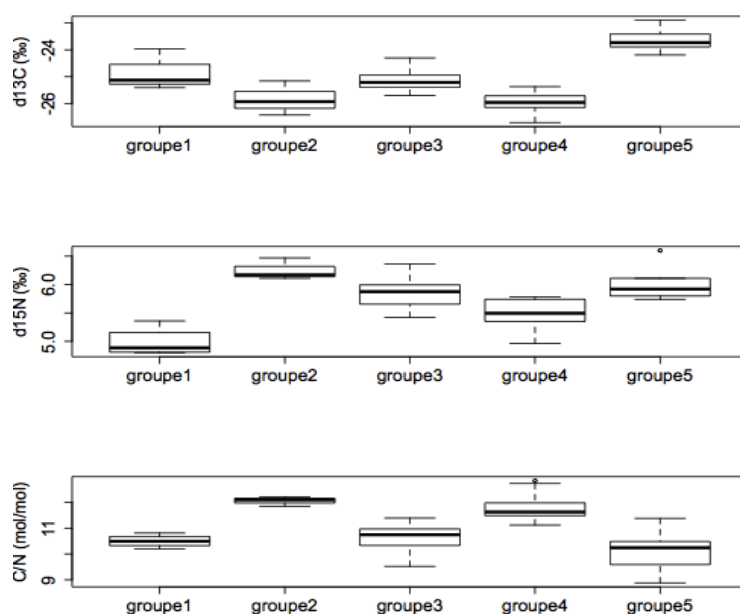


Figure 4: Signatures isotopiques et élémentaires des cinq groupes identifiés (Figure 3). Trait épais : médiane, trait pointillés : minima et maxima ; limites horizontales: 1^e et 3^e quartiles ; cercles : données extrêmes.

L'analyse en composantes principales réalisée sur le jeu de données (Figure 5) montre que, comme suggéré par la Figure 2, le $\delta^{13}\text{C}$ et le C/N sont anti-corrélés (test corrélation de Spearman, $\rho = -0,67$, $p\text{value} < 0,05$), tandis que le $\delta^{15}\text{N}$ est indépendant des deux autres paramètres. Les groupes définis d'après leurs signatures isotopiques et élémentaires (Figure 3) se distribuent selon

les deux axes : l'axe 1 ($\delta^{13}\text{C}$ versus C/N) pour les groupes 3, 4 et 5 et l'axe 2 ($\delta^{15}\text{N}$) pour les groupes 1, 2 et 3, le groupe 3, aux signatures moyennes (Figure 4) étant en position centrale (Figure 5).

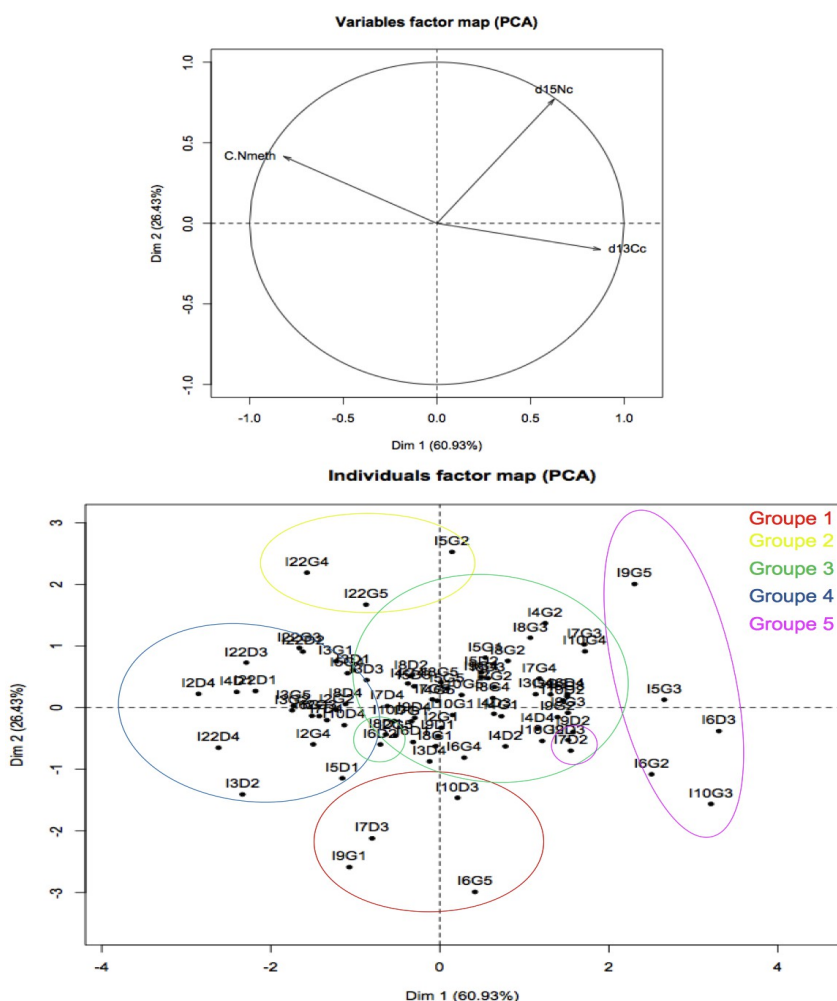


Figure 5 : Analyse en composantes principales ACP réalisée à partir des rapports isotopiques et élémentaire. Les 2 axes expliquent 87% de la variance. Les cinq groupes identifiés (Figure 3) sont ajoutés sur la projection des combinaisons mois-stations.

La comparaison des signatures isotopiques et élémentaires de la matière organique sédimentaire et des signatures de ses sources potentielles (Figures 2 et 6) permet de porter un premier regard qualitatif sur l'importance des sources dans la composition de la MOS. Parmi les six sources potentielles, certaines proviennent de la colonne d'eau, telles que la MOP terrestre réfractaire, la MOP terrestre labile, le phytoplancton, la MOP anthropique. D'autres proviennent directement du sédiment, comme les deux taxons microphytobenthiques. Les signatures isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) de la MOS sont extrêmement voisines de celles de la MOP terrestre réfractaire tandis que les signatures élémentaires (C/N) sont intermédiaires entre la MOP terrestre réfractaire d'une

part, et la MOP terrestre labile, le microphytobenthos, d'autre part (Figure 2). Ceci semble indiquer l'influence de ces sources (et en particulier de la MOP terrestre réfractaire) dans la composition de la MOS. Au contraire, les signatures isotopiques et/ou élémentaires de la MOS sont (très) éloignées de celles de la MOP anthropique et du phytoplancton. Ceci semble indiquer que ces deux sources ne contribuent pas, ou très peu, à la MOS.

La variabilité des signatures isotopiques et élémentaires des groupes identifiés (Figure 3) est relativement faible en comparaison à celle des signatures des sources (Figure 6), suggérant une homogénéité spatio-temporelle de la composition de la MOS. Toutefois, il apparaît que le $\delta^{13}\text{C}$ et le C/N des groupes 2 et 4 tendent vers ceux de la MOP terrestre labile et des diatomées benthiques, tandis que le $\delta^{13}\text{C}$ du groupe 5 tend vers celui des Euglénophyceae. Ceci suggère une plus forte influence de ces sources dans la composition de la MOS des groupes cités, comparativement aux autres.

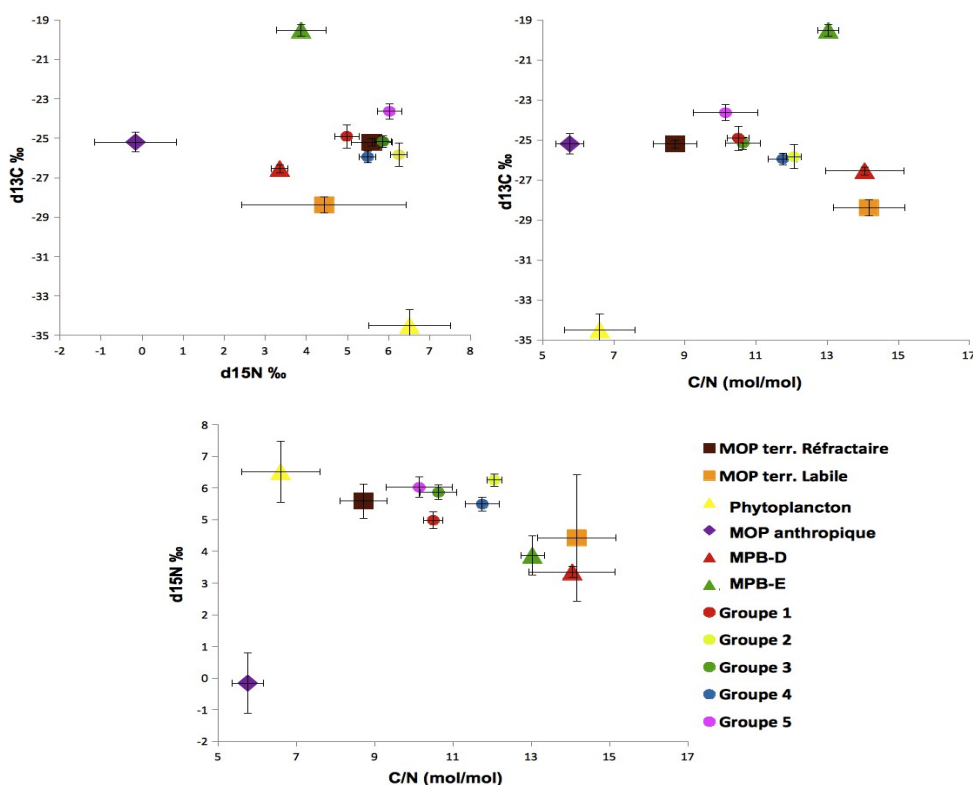


Figure 6 : Signatures isotopiques des cinq groupes identifiés (Figure 3), ainsi que des six sources potentielles de matière organique sédimentaire: MOP terrestre labile et réfractaire, phytoplancton d'eau douce, MOP anthropique, Microphytobenthos (MPB- D et E: diatomées et Euglénophyceae)

2. Composition de la matière organique sédimentaire

Afin de déterminer la composition de la MOS, un modèle de mélange a été appliqué à chaque association mois-station. Comme vu précédemment (sections II/4.2 et III/1), les signatures isotopiques et/ou élémentaires du phytoplancton et de la MOP anthropique étant très éloignées de celles du sédiment, elles n'ont pas été prises en compte au sein du modèle de mélange. Le modèle de mélange utilisé était ainsi un système déterminé de quatre équations à quatre inconnues. Par soucis de synthèse, les résultats issus du modèle de mélange ont été moyennés pour l'ensemble des observation ainsi que par groupes identifiés d'après les signatures isotopiques et élémentaires (Figure 7).

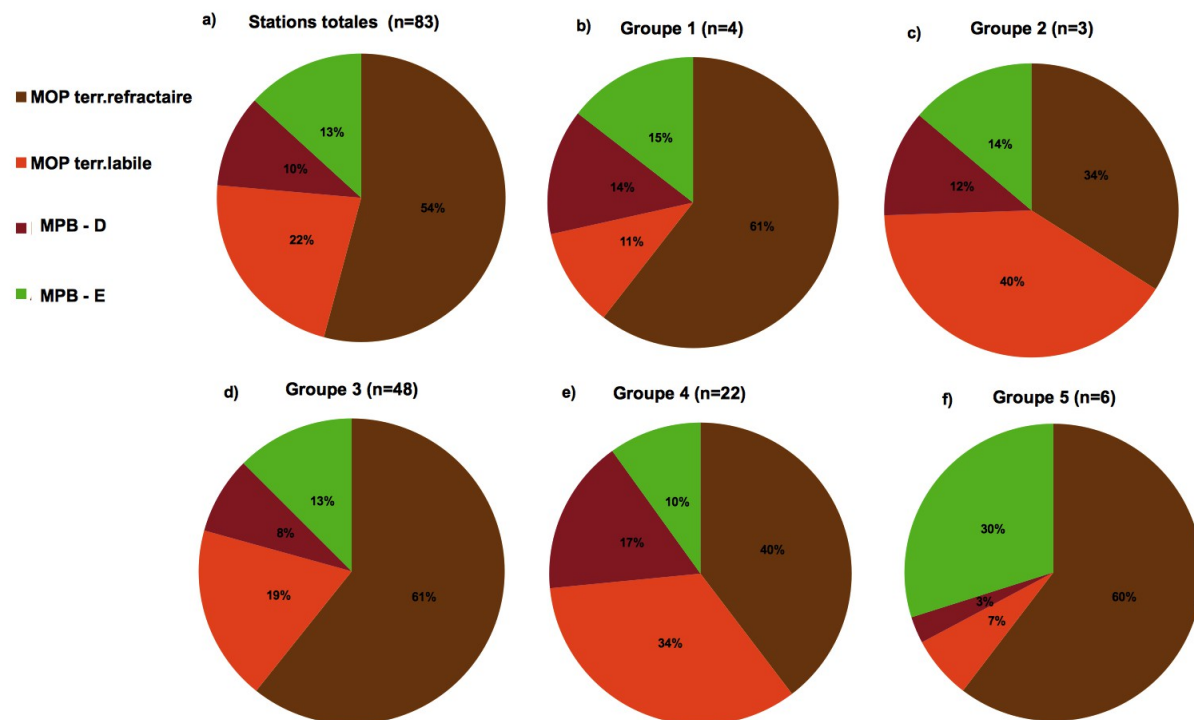


Figure 7: Contribution relative moyenne des quatre sources de matière organique sédimentaire. a) : moyenne pour l'ensemble des observations ; b) à f) : moyennes pour les groupes identifiés d'après leurs signatures isotopiques et élémentaires (Figure 3). MPB : Microphytobenthos (D :Diatomée et E :Euglenophyceae)

Pour l'ensemble des observations, la MOP terrestre réfractaire domine la composition de la MOS avec une contribution variant de 34 % à 61 % selon les groupes. La MOP terrestre labile compose quant à elle 7 à 40 % de la MOS. Ainsi, la MOP terrestre totale représente les trois-quart de la composition de la MOS. L'influence de la MOP terrestre labile est observée en hiver en

proportion équivalente en Garonne et Dordogne (groupe 2 : Garonne, 40 % et groupe 4 : Dordogne, 34%). D'ailleurs, une corrélation inverse apparaît d'une part entre MOP terrestre labile et MOP terrestre réfractaire (test de corrélation linéaire de Pearson, $p < 0,05$, $\rho = -0,89$).

L'euglénophyceae compose généralement 10 à 15 % de la MOS, sauf pour le groupe 5 (30%). L'influence de cette microalgue s'observe plus pendant la période estivale. Les diatomées benthiques contribuent à la MOS en proportion à peu près équivalente aux euglénophyceae (8-17%), sauf pour le groupe 5 dans lequel elles sont largement minoritaires (3%). Les deux sources d'origine benthique composent seulement le quart de la MOS.

3. Structure de la méiofaune benthique

Les résultats d'abondance de la méiofaune benthique ne sont présentés ici que succinctement pour information, puisqu'ils n'ont pas été déterminés durant le stage (thèse en cours de F. Dindinaud). L'abondance absolue de la méiofaune totale présente une forte variabilité spatio-temporelle (Figure 8). Elle est plus importante en Garonne qu'en Dordogne, aux stations médianes au sein de chaque estuaire fluvial (en particulier au niveau de Bordeaux (G2,G3) pour la Garonne), et en période estivale. Le taxon des nématodes est le plus abondant (81 à 92 % ; Figure 9) à toutes les stations et contribue largement à l'abondance totale de la méiofaune. Les groupes d'observations définis d'après les signatures isotopiques et élémentaires de la MOS (Figure 3) ne se distinguent que faiblement : le groupe 1 comporte plus de nauplii (10%), le groupe 2 plus de oligochètes (7%), et la proportion de foraminifères est plus élevée (8%) dans le groupe 4, comparativement à la situation moyenne. De plus, la proportion de nématodes est encore plus importante dans le groupe 5 (92%).

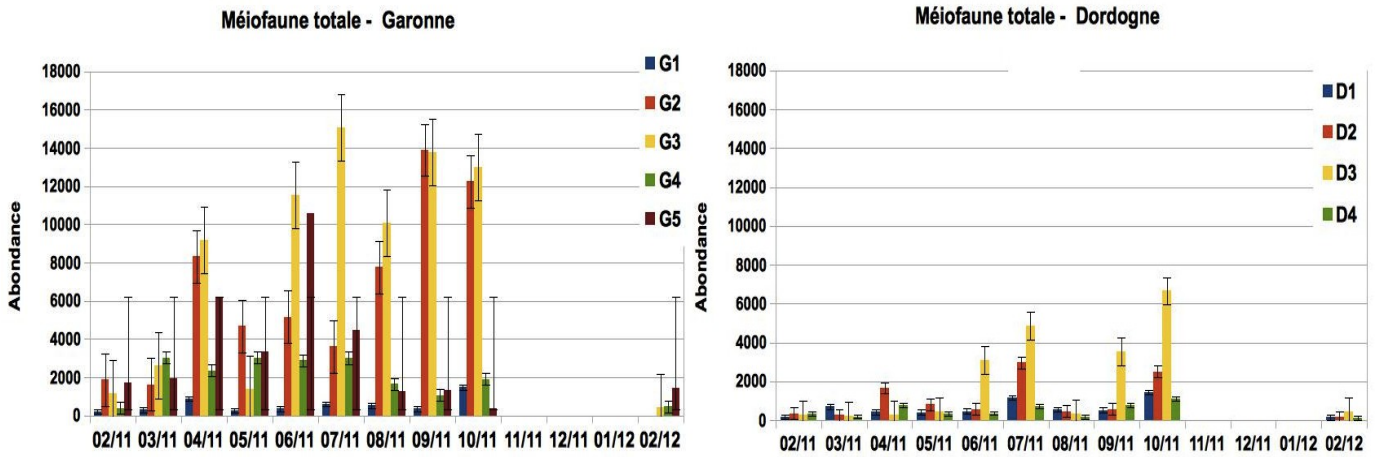


Figure 8: Variation spatio-temporelle de la méiofaune totale (abondance absolue et erreur standard) en Garonne et Dordogne estuariennes

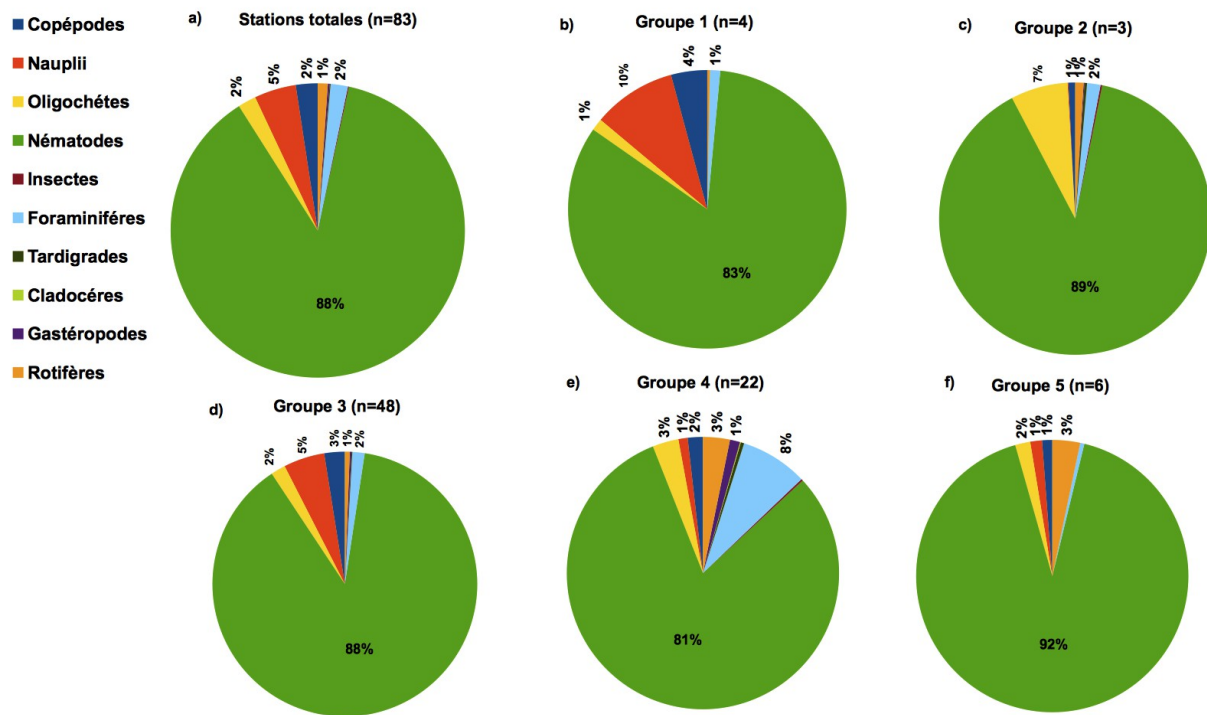


Figure 9 : Abondances relatives des dix clades de méiofaune benthique. a) Somme sur l'ensemble des observations, b) à f) somme par groupe (Figure 3).

IV / DISCUSSION

1. Composition de la matière organique sédimentaire : variabilité et forçages

En Garonne et en Dordogne estuariennes, la matière organique sédimentaire est largement dominée par la matière organique terrestre (réfractaire et labile : *ca.* 75%) mais est toutefois également composée de matière organique microphytobenthique (*ca.* 25%) (Figure 7). D'après les signatures isotopiques et élémentaires (Figures 2 et 6), l'influence de la MOP anthropique et du phytoplancton est nulle ou négligeable, et a été considérée ici comme nulle. Cette composition dans les sédiments diffère de celle de la colonne d'eau de la Garonne estuarienne (contribution négligeable du microphytobenthos ; la MOP anthropique pourrait constituer 20% de la MOP ; Nzimandoukou, 2012) et de la Gironde (plus forte contribution du phytoplancton et plus faible contribution de la MOP terrestre labile ; Savoye et al., 2012).

La variabilité spatio-temporelle de la composition de la MOS est relativement modeste. Une telle faible variabilité spatiale et/ou temporelle dans les sédiments a également été reportée pour des systèmes côtiers (delta de la rivière Fly et zone côtière adjacente en Papouasie : Goñi *et al.*, 2006 ; bassin d'Arcachon : Dubois *et al.*, 2012). En Garonne et en Dordogne estuariennes, il semble toutefois que la composition hivernale diffère de celle du reste de l'année et qu'il existe une balance entre les types de MO terrestre (section III/1). Il apparaît effectivement une corrélation inverse entre MOP terrestre labile et MOP terrestre réfractaire (Figure 10).

Afin de comprendre la variabilité spatio-temporelle de la composition de la MOS, celle-ci a été mise en relation avec des paramètres environnementaux. Ces paramètres sont utilisés ici comme indicateurs de processus et/ou d'état des compartiments pélagiques et benthiques et pouvant potentiellement influencer la composition de la MOS.

La conductivité caractérise les masses d'eau. La concentration en matières en suspension est indicatrice de la présence ou de l'absence du bouchon vaseux. La température indique la saisonnalité. Le gradient amont-aval est pris en compte par la distance kilométrique à un point de référence. La concentration en COP dans le sédiment est indicateur de l'état de fraîcheur (labile : plus forte concentration en COP) et de dégradation (réfractaire : plus faible concentration en COP) de la MOS. La concentration en pigments dans les sédiments est indicatrice de l'abondance relative du matériel photo-autotrophique dans ce compartiment.

Une analyse de redondance a permis de mettre en relation la composition de la MOS et les paramètres environnementaux (Figure 10). A l'échelle spatio-temporelle de l'étude, il apparaît que seulement 21% (pour deux axes) de la composition de la MOS intertidale en Garonne et Dordogne estuariennes sont expliqués par les paramètres environnementaux considérés. Cette analyse met toutefois en évidence : 1) qu'il n'y a aucun gradient amont-aval et aucune influence des masses d'eau (conductivité) sur la composition de la MOS ; 2) qu'une saisonnalité apparaît, en lien avec les débits : en hiver, les débits plus élevés apportent de la MOP terrestre labile (sol, litière) et chasse le bouchon vaseux vers l'aval. Ces deux processus induisent une plus forte contribution relative de la MOP terrestre labile. Au contraire, lors des périodes de plus faibles débits, le bouchon vaseux s'installe dans l'estuaire fluvial et les apports continentaux sont plus faibles, induisant ainsi une plus forte contribution relative de la MOP terrestre réfractaire.

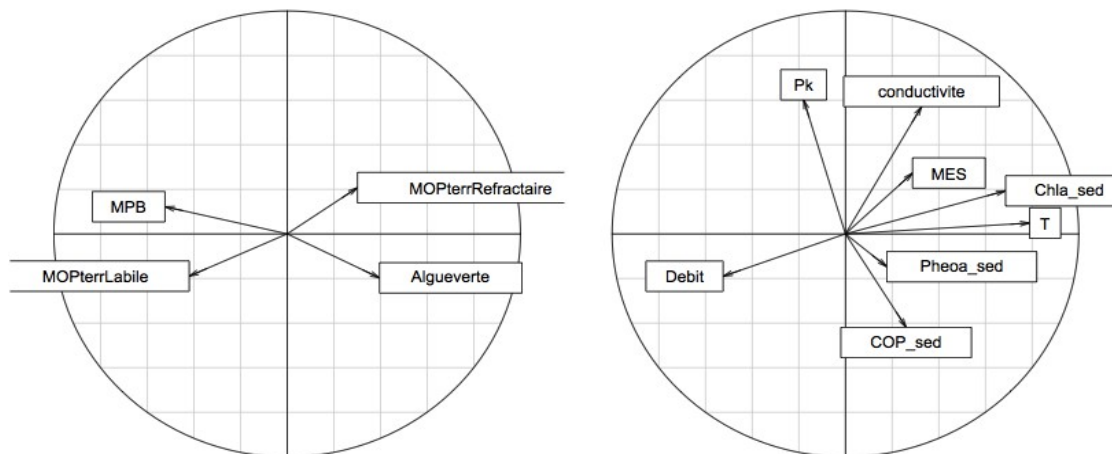


Figure 10 : Analyse de redondance effectuée sur la composition des sources de MOS en fonction des paramètres de la colonne d'eau et du sédiment dans l'estuaire fluvial. MOP terrestre réfractaire et labile, MES: matière en suspension, T: Température, Pk: point kilométrique. MPB: microphytobenthos (diatomées), Algueverte: Euglénophyceae, Chlorophylle a (Chla), phéophytine a (Pheoa) et COP des sédiments.

Une telle influence de l'hydrodynamique sédimentaire sur la composition de la matière organique particulaire a été également clairement mise en évidence dans la colonne d'eau de la Garonne estuarienne (Nzimandoukou, 2012) et de la Gironde (Savoye *et al.*, 2012) ou dans d'autres systèmes côtiers (*e.g.* le bassin d'Arcachon : Dubois, 2012).

Cependant, et contrairement à la colonne d'eau (Nzimandoukou, 2012 ; Savoye *et al.*, 2012), la variabilité saisonnière des paramètres environnementaux n'explique qu'une faible part de celle de la composition de la MOS. Dans le bassin d'Arcachon les paramètres environnementaux

n'expliquent que très peu la variabilité spatiale et faiblement la variabilité temporelle ; dans ce système, la faible profondeur de la colonne d'eau associée à des courants importants semble favoriser la remise en suspension et la redistribution des sédiments à large échelle spatio-temporelle (Dubois *et al.*, 2012 ; Dubois, 2012).

En gironde estuarienne, trois hypothèses pourraient expliquer ce faible forçage à l'échelle spatio-temporelle de l'étude :

1) Dans les systèmes fluvio-estuariens, le temps de résidence des eaux et le temps de transit des particules dans la colonne est plus grand que le temps de transit des particules dans le sédiment (S. Schmidt et A. Sottolichio, com. pers.). Ce découplage entre les dynamiques pélagiques et benthiques rend non linéaire l'éventuel lien entre composition de la MOS et les paramètres environnementaux qui serait moins visible avec des analyses de distance euclidiennes telles que les ARD.

2) du fait de la marée et d'une différence de stratégie d'échantillonnage spatial entre colonne d'eau et sédiment, les paramètres de la colonne d'eau ont été moyennés spatialement (valeur unique pour un fleuve à une date donnée (section II/4.1)). Ce lissage des valeurs des paramètres environnementaux fait perdre de l'information et diminue leur contrainte au sein de l'ARD. Ainsi ils pourraient perdre leur pouvoir explicatif sur la composition de la MOS.

3) Enfin, la relation entre paramètres environnementaux et composition de la MOS n'est pas spécialement linéaire. Par exemple, l'influence du débit pourrait suivre des effets de seuil selon la précocité et l'intensité des crues comme c'est le cas pour la dynamique du bouchon vaseux (Doxaran *et al.*, 2009). A partir d'un certain seuil de débit, l'érosion de la couche superficielle du sédiment met à nu la couche sous-jacente, n'ayant pas la même composition en MOS. Ces effets sont généralement difficiles à prendre en compte dans les analyses statistiques multiples.

2. Composition de la matière organique sédimentaire et structure de la méiofaune benthique

La méiofaune benthique des deux estuaires fluviaux est très largement dominée par les nématodes, les autres taxons ne représentant que 10 à 20% de l'abondance. Comme pour la composition de la MOS, la structure de la méiofaune benthique présente une variabilité spatio-temporelle faible (Figure 9). Les paramètres environnementaux sédimentaires (granulométrie, phéopigments, pigments chlorophylliens, COP, NOP) ne semblent pas l'expliquer. En effet, il n'existe aucune différence significative ni entre Garonne et Dordogne, ni intra-fleuve (test

BIOENV, p value > 0,05 ; thèse F. Dindinaud). Par conséquent, d'autres facteurs sont susceptibles d'avoir un rôle structurant sur les communautés de méiofaune benthique, comme par exemple, la dynamique de la matière organique sédimentaire. Cette hypothèse a été étudiée par deux ARD mettant en relation l'abondance absolue des taxons de méiofaune avec les paramètres de la MOS (Figure 11). Les taxons de méiofaune étudiés sont les nématodes (vers cylindriques), les annélides oligochètes (vers segmentés, peu de soies), les foraminifères et les copépodes benthiques, les larves nauplii (larves de crustacés, principalement de copépodes), les gastéropodes, les rotifères, cladocères, tardigrades, les insectes aquatiques.

Cette analyse (Figure 11) ne met en évidence aucun forçage des taxons par les paramètres de la MOS (composition et signatures isotopiques). Autrement dit, la composition en matière organique du sédiment ne structure pas la composition taxonomique de la méiofaune. Cela se voit par la mauvaise représentation des abondances des taxons au sein du cercle de corrélation. Il est important de noter que, les mêmes analyses appliquées sur les abondances relatives donnent des pourcentages de variabilité expliquée encore plus faible (5% pour deux axes).

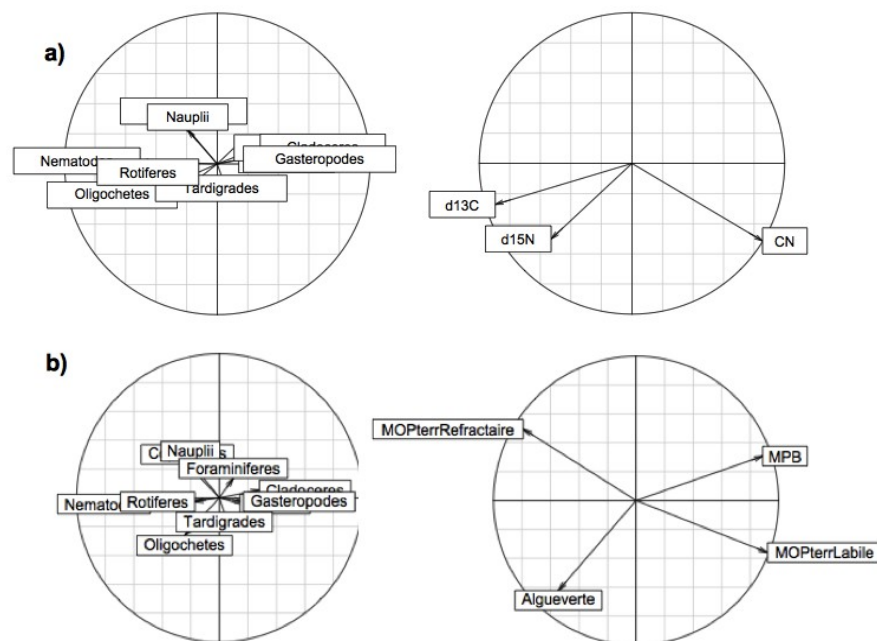


Figure 11: ARD abondance absolue des clades de méiofaune en fonction, a) des signatures isotopiques et élémentaires de la MOS, b) de la composition de la MOS. Pour chaque ARD, 8 % variabilité abondances expliquée par la MOS (2axes).

La présence de nématodes en forte abondance (Figure 9) à toutes les stations montre une faible diversité. La faible variabilité spatio-temporelle de la MOS pourrait expliquer la faible variabilité de la méiofaune.

La présence du microphytobenthos à toutes les stations pourrait établir la répartition de ses consommateurs. En effet, le microphytobenthos domine la production primaire dans les habitats intertidaux sans végétaux et la méiofaune est le groupe de consommateur le plus important pour cette productivité (Montagna et al., 1995). Cependant, dans la partie oligo-mésohaline (*i.e.* fluviale) de l'estuaire de la Gironde, le microphytobenthos n'est pas un facteur significatif expliquant la composition et la biomasse du méiobenthos. Ce qui pourrait suggérer que la nourriture n'est pas limitante, sauf peut-être pour certains taxons, ou qu'une large partie des ressources trophiques est basée sur les débris et les bactéries (Santos et al., 1996 ; Montagna et al., 1983).

Il a été établi que la composition en méiofaune est régulée principalement par la température, la salinité, l'ensoleillement et la teneur en sable dans les sédiments (Santos et al., 1996). Notre zone d'étude étant limitée à la zone intertidale de l'estuaire fluvial, la salinité n'intervient pas dans la répartition des communautés de méiobenthos. Or celles-ci se répartissent dans les estuaires selon la tolérance des espèces au gradient de salinité (Santos et al., 1996 ; Montagna et al., 1983).

Afin de prendre en compte la granulométrie et le niveau hypsométrique, il serait judicieux d'effectuer la même étude en comparant les descripteurs de la MOP des sédiments intertidaux et subtidaux (échantillonnés en 2011 sur trois mois).

En vue de déterminer les ressources trophiques biodisponibles dans le sédiment et assimilées par la méiofaune, il faudrait tracer le transfert de la matière organique dans les taxons principaux de méiofaune à l'aide des signatures isotopiques et élémentaires (Lebreton *et al.*, 2012). La méiofaune représente un lien direct entre les producteurs primaires (micro-algues, bactéries) et les consommateurs des niveaux trophiques supérieurs, puisqu'elle est une proie commune (les copépodes en particulier) des crevettes et des poissons (Coull, 1999).

Conclusion

La matière organique sédimentaire (MOS) de l'estuaire fluvial de la Gironde est principalement composée (70-80%) de matière organique particulaire terrestre (labile et réfractaire) et de microphytobenthos. L'influence phytoplanctonique et de la matière organique anthropique semble nulle ou négligeable, même aux stations proches des sorties de stations d'épuration (Bacalan et Bègles). Cette faible influence dans cette zone de l'estuaire contraste avec la colonne d'eau de la Garonne estuaire dont la MOP pourrait être composée de 20% de matériel anthropique (Nzimandoukou, 2012). Toutefois notre étude a porté sur les sédiments intertidaux alors que les rejets sont déversés en zone subtidale. Le sédiment subtidal pourrait ainsi être plus influencé par ce matériel. Ce sédiment n'a que peu été échantillonné dans le cadre du programme ETIAGE, mais les résultats à venir seront essentiels pour comprendre l'influence de la matière organique anthropique sur la matière organique particulaire pélagique et benthique de l'estuaire.

La variabilité des forçages environnementaux pélagiques et benthiques expliquent peu celle de la composition de la MOS. Toutefois l'influence des débits sur l'anti-corrélation entre MOP terrestre labile et réfractaire a été mise en évidence.

La faible variabilité des signatures isotopiques et élémentaires illustrent une dynamique spatio-temporelle saisonnière de la MOP dans les sédiments nettement plus stable que celle de la colonne d'eau. Le faible lien entre paramètres environnementaux et composition de la MOP peut être dû à une non linéarité des processus impliqués (et donc lien peu visible à l'aide d'analyses linéaires) et à un découplage temporel entre la dynamique des paramètres environnementaux et celle des paramètres sédimentaires. Un tel lien devrait être visible à une plus grande échelle spatiale (prise ne compte du fleuve et de l'estuaire halin) et temporelle (variabilité inter-annuelle ou plus).

Enfin, la qualité et la composition de la MOS ne semble pas influencer la structure taxonomique de la méiofaune benthique, déjà peu diversifiée.

Les résultats acquis dans le cadre de ce travail pourront contribuer à la réalisation d'un bilan de la composition de la MOP pélagique et benthique dans l'ensemble de l'estuaire de la Gironde. Ils pourront également servir à l'étude du réseau trophique de ce système.

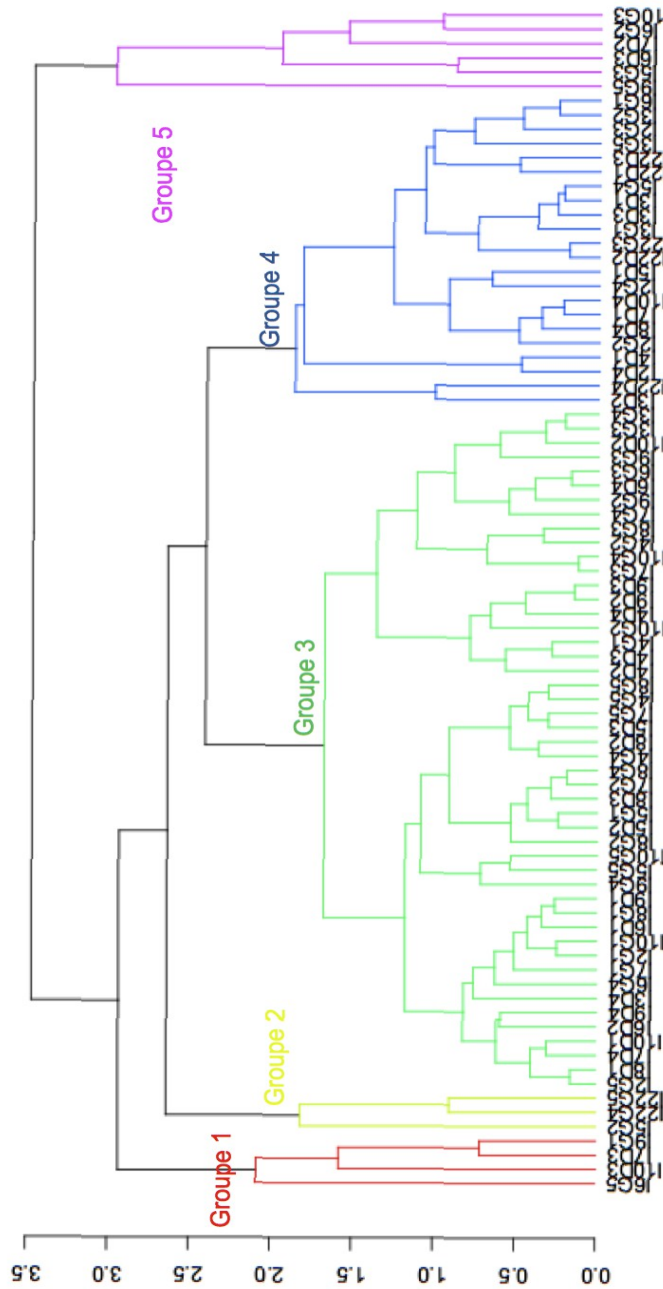
Bibliographie

- 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.
- Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C. 1980. Effect of tide mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.*, 26, 69-90.
- Cifuentes L.A, Sharp J.H, Fogel M.L. 1988 . Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnology & Oceanography* 33:1102- 1115
- Coull, B.A. 1999. Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats. *Aust J Ecol* 24:327–343
- David, V., Sautour, B., Galois, R., Chardy, P., 2006. The paradox high zooplankton biomass below vegetal particulate organic matter in high turbidity zones: what way for energy transfer? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 333, 202-218.
- David, V., Sautour, B., Chardy, P., 2007. Successful colonization of the calanoid copepod *Acartia tonsa* in the oligo-mesohaline area of the Gironde estuary (SW France) natural or anthropogenic forcing? *Estuarine Coastal and Shelf Science* 71, 429-442.
- Doxaran, D., Froidefond, J.-M., Castaing, P., Babin, M., 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.
- 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.
- Dubois, S. 2012. Composition et transfert trophique de la matière organique particulaire dans le Bassin d'Arcachon. Thèse, Université de Bordeaux 1, 241 pages.
- 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.
- 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.
- Guézennec, L., Seine-Aval : un estuaire et ses problèmes. Livre : éditions QUAE, 1999, 29 pages.
- Goni, M.A., Monacci, N., Gisewhite, R., Ogston, A., Crockett, J., Nittrouer, C. 2006. Distribution and sources of particulate organic matter in the water column and sediments of the Fly River Delta, Gulf of Papua (Papua New Guinea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 69, 225-245
- Higgins, R. P., Thiel, H. 1988. Prospectus. In: Higgins, R.P., Thiel, H. (eds) *Introduction to the study of Meiofauna*. Smithsonian Institution Press Washington, D. C. I London, pp 11 – 13.
- Irigoién, 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.

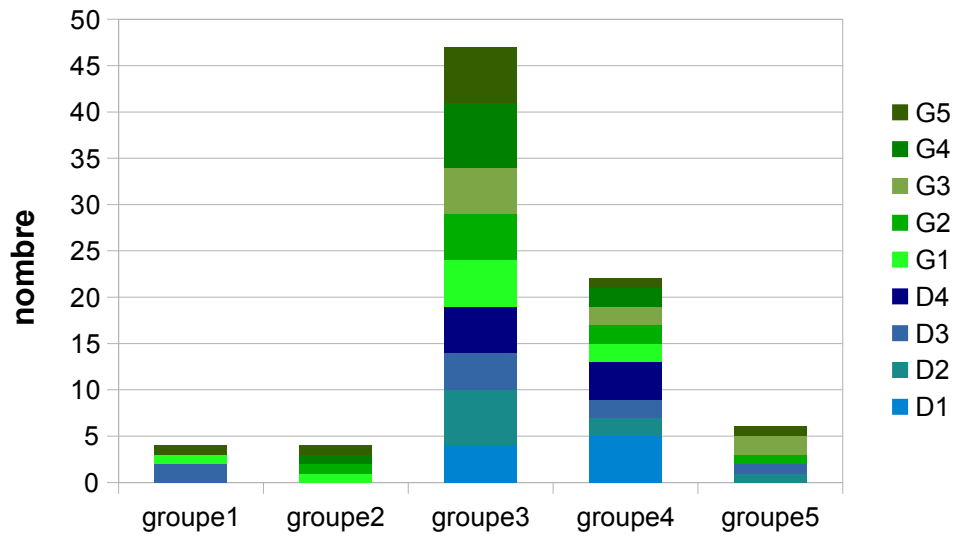
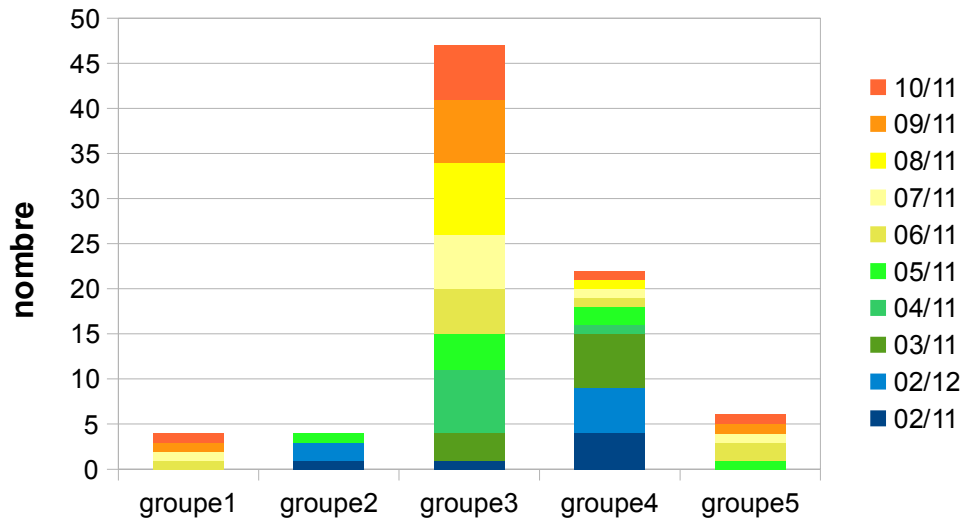
- Jouanneau, J.M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. In: Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D., Seibold, E. (Eds.), 1981. Contribution to Sedi- mentology, vol. 10. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp. 1-115.
- Jouanneau, J.M, Weber,O.,Cremer,M., Castaing,P. 1999. Fine-grained sediment budget on the continental margin of the Bay of Biscay. *Deep-Sea Res.II*,46,2205-2220.
- Kennedy, P., Kennedy, H., Papadimitriou, S., 2005. The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 19,1063-1068.
- Lebreton,B.,Richard,P.,Galois,R.,Radenac,G., Brahmia,A., Colli,G., Grouazel ,M., André,C.,Guillou,G.,Blanchard,G.F. 2012. Food sources used by sediment meiofauna in an intertidal *Zostera noltii* seagrass bed: a seasonal stable isotope study.*Mar Biol.*,159,1537–1550.
- Liu M, Hou L.J, Xu S.Y, Ou D.N, Yang Y, Yu J, Wang Q. 2006. Organic carbon and nitrogen stable isotopes in the intertidal sediments from the Yangtze Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* 52:1625-1633
- 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, Organic matter processing in tidal estuaries. 2007. *Marine Chemistry*,106,127-147.
- Montagna, P. A., Coull, B. C., Herring, T. L. & Dudley, B. W. 1983. The relationship between abundances of meiofauna and their suspected microbial food (diatoms and bacteria). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 17, 381–394.
- Montagna et al.1995. Effect of production and biomass of intertidal microphytobenthos on meiofaunal grazing rates. *Journal of Expeimetal Marine biology and Ecology*,185,149-165.
- Nzimandoukou, E. , 2012. Influence des rejets urbains de la communaué urbaine de Bordeaux sur la composition de la matière organique particulaire en Garonne estuarienne. Rapport de stage Master 2, 27pages.
- Parnell, A.C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A.L., 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One* 5, 9672.
- Philipps, D. L. & Gregg, J.W. 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* ,136,261–269.
- Romaña,L.A, Les grands estuaires français.1994. *Equinoxé, spécial environnement littoral*,47-48.
- Santos P.J.P, Castel ,J.and Souza-Santos, L.P. 1996. Seasonal Variability of Meiofaunal abundance in the oligo- mesohaline area of the Gironde Estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 43,549-563.
- Savoye, N., David, V., Morisseau, F., Etcheber, H., Abril, G., Billy, I., Charlier, K., Oggian, G., Derriennic, H., Sautour, B., 2012. Origin and composition of particulate organic matter in a macrotidal turbid estuary: the Gironde Estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 108, 16-28.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year-observation of the Gironde fuvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Marine Chemistry* 79, 229-242.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly- concentrated structures in the Gironde estuary. *Compte-rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Sci Terre Planètes* 329, 795-800.
- Swedmark,B.1964. The interstitial fauna of marine sand. *Biol.Rev.*,39,1-42.
- 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.

ANNEXES

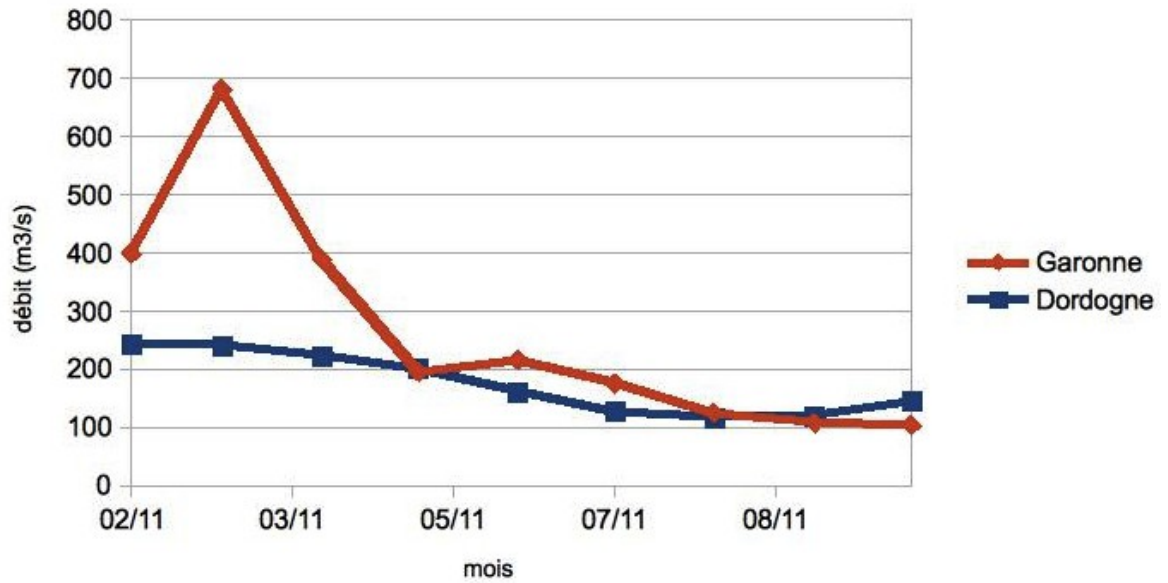
Annexe 1 : Dendrogramme et test Simprof séparant les associations mois-station en cinq groupes significatifs



Annexe 2 : Composition des groupes simprof en terme de mois et stations



**Annexe 3 : Variation temporelle du débit de Garonne et Dordogne.
Moyenne mensuelle de deux stations amont-aval, pleine mer-basse mer**



Résumé

Plusieurs études portant sur la dynamique de la matière organique particulaire en suspension (MES) dans l'intégralité de l'estuaire de la Gironde, ont mis en évidence une très forte dominance du matériel terrestre. Toutefois, il n'existait aucune étude portant sur l'origine de la matière organique sédimentaire (MOS). Le programme ETIAGE, cadre programmatique de la présente étude, s'intéresse notamment à l'impact des rejets urbains de la ville de Bordeaux sur la biogéochimie et la biologie de la Garonne estuarienne.

Dans ce contexte scientifique, ce stage avait pour objectifs : 1) d'estimer la contribution de chacune des sources à la composition de la matière organique sédimentaire (MOS) de l'estuaire fluvial (Garonne et Dordogne) de la Gironde, et d'en décrire les forçages environnementaux ; 2) de comparer la dynamique spatio-temporelle de cette composition avec celle de la structure de la méiofaune benthique, afin d'investiguer un lien trophique éventuel entre les deux.

Pour ce faire, une approche basée sur les signature isotopiques et élémentaires du sédiment et de ses sources potentielles, ainsi que sur des analyses numériques multivariées a été mise en place. Cette étude a porté sur les sédiments intertidaux.

Il résulte de cette étude :

- que la matière organique sédimentaire de l'estuaire fluvial de la Gironde est principalement composée (70-80%) de matière organique particulaire terrestre (labile et réfractaire) et de microphytobenthos
- que l'influence du phytoplancton et de la matière organique anthropique semble nulle ou négligeable, même aux stations proches des sorties de stations d'épuration (Bacalan et Bègles), au contraire de la colonne d'eau ;
- que la variabilité des forçages environnementaux expliquent peu celle de la composition de la MOS (elle-même peu variable à l'échelle spatio-temporelle de l'étude), même si l'influence des débits sur l'anti-corrélation entre MOP terrestre labile et réfractaire a été clairement mise en évidence ;
- que la qualité et la composition de la MOS ne semble pas influencer la structure taxonomique de la méiofaune benthique déjà peu diversifiée.

Les résultats acquis dans le cadre de ce travail pourront contribuer à la réalisation d'un bilan de la composition de la MOP pélagique et benthique dans l'ensemble de l'estuaire de la Gironde. Ils pourront également servir à l'étude du réseau trophique dans ce système.

Mots-clés : Matière Organique Sédimentaire, signatures isotopiques et élémentaires ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, C/N), sources, méiofaune benthique, estuaire fluvial.

Annexe 14

De Lary de Latour Hortense

Qualité et composition de la matière organique particulaire dans les systèmes estuariens. Une approche multi-écosystémique.

Rapport de stage de M2, Juin 2014.



Qualité et composition de la matière organique particulaire dans les systèmes estuariens - une approche multi-écosystémique

Mémoire de stage de Master 2- Océanographie
Année universitaire 2013-2014

HORTENSE de LARY

Sous la direction de Nicolas SAVOYE et Camilla LIENART

Laboratoire des Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC),

UMR 5805 Station Marine d'Arcachon
Université de Bordeaux
Place du Docteur Bertrand Peyneau
33120 ARCACHON CEDEX

STRUCTURE D'ACCUEIL

Le laboratoire EPOC, Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux, est une Unité Mixte de Recherche (UMR 5805) commune à l'Université Bordeaux 1, le CNRS, organisme public de recherche, l'Université Bordeaux 4 et l'École Pratique des Hautes Etudes. Cette unité a vu le jour en 1999 par la signature d'un contrat avec le Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de la Technologie. Le contrat fut par la suite renouvelé en 2003, 2007 et 2011.

Les activités de recherche sont confiées à sept équipes thématiques :

TGM : Transferts **G**éochimiques des **M**étaux à l'interface continent-océan

PTC : Physico et **T**oxico-Chimie de l'environnement

EA : **E**cotoxicologie **A**quatique

ECOBIOC : **E**cologie et **B**iogéochimie des systèmes **C**ôtiers

METHYS : **M**odélisation **E**xpérimentale et **T**éledétection en **H**ydrodynamique **S**édimentaire

PALEO : dynamique passée du climat à l'échelle du Quaternaire et du Néogène

SEDIMENTO : processus de dépôts et construction des corps et systèmes sédimentaires

Ce stage a été réalisé dans l'équipe **ECOBIOC** d'Arcachon sous la direction de Nicolas Savoye, Physicien CNAP (Physicien-adjoint) et de Camilla LIENART, doctorante.

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu je tiens à remercier Nicolas SAVOYE et Camilla LIENART, pour m'avoir fait partager leurs connaissances, pour leurs disponibilités, leur patience et surtout pour tout le temps qu'ils m'ont consacré !

Merci infiniment pour votre soutien constant !

Merci également à Sophie DUBOIS, Julien MODERAN, Pierre POLSENARE, François DINDINAUD, Henry ETCHEBER, Laureline GORSE, Nicolas SAVOYE pour m'avoir communiqué leurs données. Un grand merci notamment à Julien pour avoir répondu aux nombreux mails et à Sophie pour m'avoir sauvé la vie plusieurs fois au sujet de SIAR !!

Merci à Karine CHARLIER pour m'avoir aidé lors des analyses isotopiques à Talence ainsi qu'à Valérie DAVID pour ses conseils en statistiques

Merci également à tous les doctorants et au personnel du Laboratoire EPOC que j'ai pu croiser durant mon stage pour leurs aides et leur accueil !

Et enfin merci à tout les stagiaire de licence et master, notamment Amandine compatriote de R, Brenda et ses 10000 échantillons, Marion la pro de la slikeline, Gabin dit « Gabinou », Pauline en stage à Hydra à Arcachon..... Merci pour les soirées plage, les baskets, les défis de slikeline, les Bocadillos, les parties de mouche, les baignades.....

A tous UN GRAND MERCI !!!

Introduction.....	5
I. Matériel et méthode.....	7
A) Sites d'étude et jeux de données utilisés.....	7
B) Méthodes analytiques.....	9
C) Traitements statistiques des données	9
(1) <i>détermination des différentes sources : analyse de groupement, régression multiple.</i>	9
(2) <i>Composition de la MOP : modèle de mélange</i>	9
(3) <i>Forçages environnementaux : analyse en composante principale</i>	10
II. Résultats	11
A) Estuaires fluviaux	11
B) Estuaires halins	13
III. Discussion	15
A) Détermination des sources de matière organique particulaire et de leurs signatures élémentaires et isotopiques.	15
1) <i>Le phytoplancton</i>	16
2) <i>Le matériel terrigène</i>	19
B) Composition de la matière organique particulaire.	21
1) <i>Estuaires fluviaux</i>	21
2) <i>Estuaires halins</i>	23
C) Forçages environnementaux à l'échelle mono-systémique	24
1) <i>Estuaires fluviaux</i>	25
2) <i>Estuaires halins</i>	26
D) Dynamique de la composition de la MOP à l'échelle multi-systémique.....	28
Conclusion	29
Bibliographie.....	30
Annexes.....	33

Introduction

Les zones côtières sont parmi les plus productives des écosystèmes marins. Leur positionnement à l'interface entre le continent et l'océan a pour conséquence une intense activité géochimique et biologique dans ces milieux (Daye *et al.*, 1989). La production biologique y est alimentée par des apports de matières inorganiques et organiques d'origine continentale ou marine. Ainsi, bien qu'elles ne représentent que 8% de la surface océanique (Sverdrup *et al.*, 1962) les zones côtières participent à 21 % de la production primaire totale (Smith et Hollibaugh., 1993).

Parmi les zones côtières, les estuaires constituent le passage obligé pour la matière organique continentale lors de son transit vers l'océan. Point de rencontre et de mélange entre les eaux douces et salées ils sont soumis à l'influence des marées dont l'extension géographique va dépendre des conditions de débit et de marnage. Cette influence marine au sein de l'estuaire a pour conséquence l'augmentation du temps de résidence de l'eau et le piégeage des matières en suspension dans une zone de maximum de turbidité (Allen *et al.*, 1980). Sa localisation va dépendre principalement de l'action conjuguée de la marée et du débit fluvial (Uncles *et al.*, 2002). De plus la turbidité des eaux limite la pénétration de la lumière et constitue donc un facteur limitant pour la production primaire autochtone (Irgoien et Castel, 1997). Chaque estuaire de part sa typologie (morphologie) et ses conditions environnementales (débits, turbidité) va donc avoir un fonctionnement qui lui est propre.

La matière organique particulaire (MOP) transportée par les estuaires est un mélange hétérogène et complexe d'origines, de sources et de caractéristiques chimiques variées (Etcheber *et al.*, 2007 ; Savoye *et al.*, 2012). Cette matière peut être allochtone d'origine terrestre (issue du lessivage des sols ou de la litière) ou issue de la production primaire (*e.g.* phytoplancton provenant de l'amont), mais aussi autochtone (production primaire *in situ*).

Dans les estuaires, la présence de nombreux gradients à la fois physiques (remise en suspension, salinité, température), biologiques (phytoplancton) et chimiques (diagenèse) vont être responsables de nombreux processus biogéochimiques (Middelburg *et al.*, 2007). Ces derniers vont avoir des conséquences importantes sur la dégradation de la matière organique et de ce fait sur la qualité et la quantité du stock biogène.

L'origine et la quantité de la matière organique constituent des notions fondamentales pour appréhender son rôle et son devenir au sein estuaires : piégeage dans le sédiment, reminéralisation, diagenèse, transfert vers l'océan, transfert trophique, *etc.* L'intensité des ces processus varie spatialement et saisonnièrement en fonction des conditions environnementales (température, salinité, débits, géomorphologie des systèmes...) et permet de définir des typologies d'estuaires (Middelburg et Herman, 2007; Abril *et al.*, 2002). Par exemple, un temps de résidence long de l'eau au sein du système peut favoriser à la fois le développement phytoplanctonique (MOP labile) mais aussi la reminéralisation du matériel provenant de l'amont (et ainsi enrichir le système en matériel très réfractaire), alors que de forts débits vont contribuer à transférer la MOP terrigène vers l'océan.

Dans ce contexte de multiplicité des sources de MOP, quantifier et déterminer l'origine, la composition et l'état de fraîcheur de la matière organique particulaire nécessite l'utilisation de descripteurs. En effet la matière organique particulaire a une signature élémentaire, biochimique et isotopique spécifique selon son origine et/ou son état de dégradation. L'utilisation combinée de isotopes stables du carbone et de l'azote et/ou du rapport C/N (ou N/C) est la méthode la plus communément utilisés (De Brabandere *et al.*, 2002 ; Dubois *et al.*, 2012 ; Berto *et al.*, 2013). L'isotope stable du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) permet de bien différencier le matériel marin du matériel continental, les deux ayant des signatures distinctes (Fontugne et Jouanneau., 1987 ; Richard *et al.*, 1997), mais pouvant être spécifique au site d'étude (Cifuentes *et al.*, 1988). Toutefois, son utilisation

seule est souvent plus complexe le long du gradient halin (e.g. Savoye *et al.*, 2012). Les rapports élémentaires (C/N, N/C) permettent de discriminer le matériel phytoplanctonique (sans distinction de son origine marine, estuarienne ou continentale) du matériel terrestre (Perdue *et al.*, 2007).

Les pigments chlorophylliens et leurs produits de dégradation (i.e., phéopigments) peuvent renseigner sur l'origine, la biomasse et l'état de fraîcheur de la matière organique d'origine végétale. De plus la chlorophylle *a* (chl *a*) est couramment utilisée pour estimer la biomasse phytoplanctonique en milieu aquatique. Le rapport COP/Chl *a* est utilisé comme indicateur de la qualité de la matière organique particulaire ainsi que de son origine. Bien que les avis soient divergeant en fonction des lieux d'étude, une matière organique ayant un rapport inférieur à 100 peut être considéré comme dominée par le phytoplancton vivant (Cifuentes *et al.*, 1988 ; Wang *et al.*, 2012).

La détermination des signatures des différentes sources de matière organique particulaire a fait l'objet de nombreuses études dans les systèmes fluvio-estuariens (Veyssy *et al.*, 1999, Etcheber *et al.*, 2007 ; Berto *et al.*, 2013 ; Higuera *et al.*, 2014). Cependant peu d'entre elles se sont intéressées à la variation isotopique du phytoplancton suivant un gradient spatiale et/ou temporel (Savoye *et al.*, 2012). De même peu d'études ont comparé différents estuaires entre eux et les forçages associés aux variations de composition de la MOP (Abril *et al.*, 2002 ; Middelburg et Herman, 2007).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est donc :

- (1) de définir les sources potentielles de MOP dans le pool de matière organique et leurs signatures isotopiques et élémentaires dans différents systèmes fluvio-estuariens,
- (2) de quantifier leurs contributions relatives à la composition de la MOP,
- (3) de mettre en évidence les forçages environnementaux qui peuvent expliquer les variations spatio-temporelles de ces compositions.

Ce travail a été effectué dans différentes zones de systèmes fluvio-estuariens : la limite amont de la marée dynamique, l'estuaire fluvial, l'estuaire halin. Elle a porté sur un panel de seize systèmes Français de la Manche et de l'Atlantique combinant différents gradients (latitude, débits, turbidité, concentration en chlorophylle *a*, etc).

Bien que j'ai participé à quelques travaux de terrain et de laboratoire (prélèvements, filtrations, préparation d'échantillons, analyses élémentaires et isotopiques), mon travail a principalement constitué en l'exploitation de jeux de données existants.

I. Matériel et méthode

A) Sites d'étude et jeux de données utilisés

Seize estuaires se jetant en Manche et en Atlantique ont fait l'objet de l'étude complète. Il s'agit des estuaires de la Seine, de l'Elorn, de l'Aulne, de la Loire, de la Charente, de la Garonne, de la Dordogne, de la Leyre et de sept autres tributaires du bassin d'Arcachon (le Porge (canal des étangs), le Cirès, le Renet, le Milieu, le Ponteil, le Tagon, le canal des landes) (Figure 1). De plus, l'estuaire de la Gironde, ayant fait l'objet d'une précédente étude utilisant une approche similaire (Savoie *et al.*, 2012), les résultats la concernant ont été utilisés dans la comparaison inter-estuaire.

Ces différents estuaires regroupent des conditions hydrologiques et environnementales très variées (Tableau 1). Leurs tailles sont très contrastées allant des petits estuaires côtiers locaux (Aulne, Elorn, Leyre et autres tributaires du Bassin d'Arcachon) aux grands estuaires nationaux (Seine, Loire). Les débits présentent de ce fait de larges variations avec des moyennes annuelles variant entre $800\text{m}^3\text{ s}^{-1}$ pour la Loire à $20\text{m}^3\text{ s}^{-1}$, voire moins, pour la Leyre et les autres tributaires du Bassin d'Arcachon. La turbidité varie également très fortement : la Gironde, la Dordogne, la Garonne et la Charente possèdent des concentrations en matière en suspension dépassant très fréquemment 1 g l^{-1} tandis que les tributaires du bassin d'Arcachon ont des concentrations généralement inférieures à $0,041\text{g l}^{-1}$. Enfin, ces estuaires présentent également un fort gradient trophique : la Loire est considérée comme étant un fleuve eutrophe (Billen *et al.*, 1986) avec des concentrations en chlorophylle *a* pouvant dépasser $100\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ tandis que cette concentration reste généralement inférieure à $0,5\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ dans le Cirès et le Milieu.

Selon les estuaires, la limite amont de l'estuaire fluvial, l'estuaire fluvial et/ou l'estuaire halin ont été considérés (Tableau 1). La fréquence d'échantillonnage a généralement été plus faible le long des gradients halins (de deux saisons à un suivi mensuel au cours d'un cycle annuel) qu'en un point fixe (de suivis mensuels au cours d'un cycle annuel à un suivi di-mensuel au cours de deux cycles annuels) (Tableau 1). Deux types de jeux de données ont été utilisés (Tableau 1) : (1) des suivis mensuel à bimensuel en un point fixe pendant un à deux cycles annuels (estuaires fluviaux) afin d'étudier la dynamique de la MOP au cours de l'année et (2) des suivis le long du gradient de salinité à quelques saisons ou mensuellement au cours d'un cycle annuel afin d'étudier la dynamique de la MOP le long du gradient continent-océan.

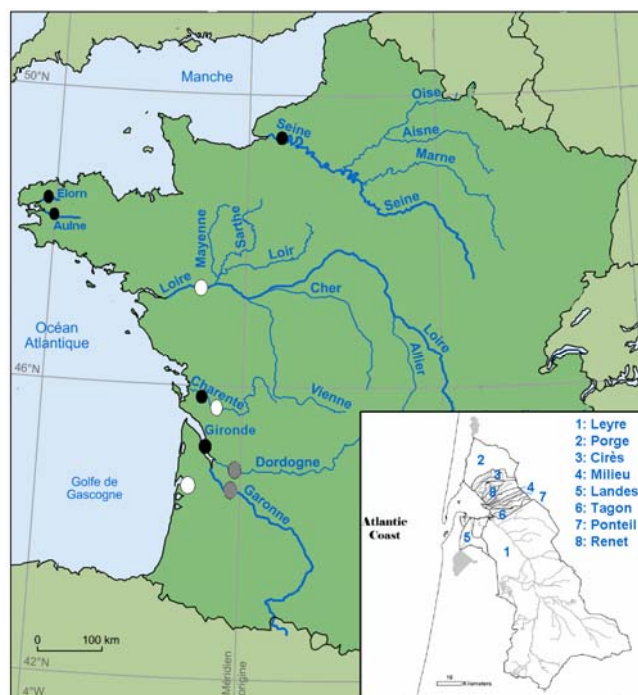


Figure 1: Localisation des sites d'échantillonnage. Disques blancs : échantillonnage en limite amont de la marée dynamique ; disque gris : échantillonnage dans l'estuaire fluvial ; disques noirs : échantillonnage le long du gradient de salinité.

Les données sont issues de thèses et/ou d'articles scientifiques (Tableau 1).

Elles sont de deux types :

- Des données particulière de matière en suspension (MES), carbone organique particulaire (COP), chlorophylle *a* (Chl *a*), phéopigments, rapport COP/azote particulaire (C/N), rapports isotopiques du COP ($\delta^{13}\text{C}$) et parfois de l'azote particulaire ($\delta^{15}\text{N}$). Les échantillons servant aux analyses ont été prélevés en moyenne à un mètre sous la surface. Pour la Charente les mesures de C/N n'ont pas été effectuées.

- Des données environnementales de températures, salinité, débits. Les débits sont extraits la banque hydro www.hydro.eaufrance.fr/ pour la Loire, la Charente la Garonne et la Dordogne. Concernant les tributaires du bassin d'Arcachon les débits de la Leyre ont été utilisés pour tout les tributaires. En effet tous ces estuaires côtiers, proches géographiquement ont des réponses similaires lors des fortes crues.

Tableau 1: caractéristiques des différents estuaires étudiés, stratégie d'échantillonnage et origine des données.

Estuaires	Localisation débouché	Localisation Station	dates et fréquence	Surface bassin versant (Km ²)	débit (m ³ /S)	MES (mg/l)	Origine données
Seine	Baie de Seine	Gradient salin [0-30]	Jun / Aout	79 000	500	135	thèse N.Savoye
Elorn	Rade de Brest	Gradient salin [0-30]	Fevrier / Avril/ Aout	402	5	40	thèse N.Savoye
Aulne	Rade de Brest	Gradient salin [0-30]	Fevrier / Avril/ Aout	1 792	21	42	thèse N.Savoye
Loire	Golfe de Gascogne	amont marée dynamique	oct 09 - nov 11 (bimensuel)	115 000	830	32	Données EPOC*
Charentes	Golfe de Gascogne	Gradient salin [0-30]	janv 2007 - dec 2007 (mensuel)	10 549	80	341	thèse J. Modéran (Modéran <i>et al.</i> , 2012)
Gironde	Golfe de Gascogne	Gradient salin [0-30]	janv 2007- nov 2009 (bimensuel)	71 000	500	243	SOMLIT (Savoye <i>et al.</i> , 2012)
Dordogne	Gironde	amont marée dynamique	fev 2011- nov 2011 (mensuel)	1400	450	830	thèse F. Dindinaud
Garonne	Gironde	amont marée dynamique	fev 2011- nov 2011 (mensuel)	55 846	609	609	thèse F. Dindinaud
Leyre et tributaires	Bassin d'Arcachon	amont marée dynamique	fev 2009 - fev 2010 (mensuel)	2141 (Leyre) 23,3 (Ponteil)	20	17	thèse S. Dubois ; P. Polsenare (Dubois <i>et al.</i> , 2012)

* Les données EPOC ont été acquises par Henry ETCHEBER, Alexandra COYNEL, Laureline GORSE, Nicolas. SAVOYE

B) Méthodes analytiques

Les analyses isotopiques

Suite à une décarbonatation sous atmosphère d'acide chlorhydrique (HCl) fumant pendant huit heures (Lorrain et al., 2003) les rapports isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) et élémentaires (C/N ; N/C) ont été déterminés au moyen d'un spectromètre de masse à rapports isotopiques (Isoprime, GV InstrumentsR) couplé à un analyseur élémentaire (Carlo Erba NC2500). Ces paramètres ont été analysés sur un même filtre, limitant ainsi les différences dues à l'échantillonnage.

Les mesures isotopiques sont exprimées selon la notation 'δ' :

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left(\frac{\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}_{\text{échantillon}}}{\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000$$

L'équation est similaire pour le $\delta^{15}\text{N}$. La référence est le VPDB pour le carbone et l'azote atmosphérique pour l'azote ; Les appareils ont été calibrés quotidiennement et leurs dérives éventuelles corrigées grâce à l'utilisation de standards de signatures isotopiques connues.

La précision analytique était généralement meilleure que 0,2‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$ et 0,1 mol mol⁻¹ pour le rapport C/N.

C) Traitements statistiques des données

Le but de ce travail est 1) de déterminer les signatures des différentes sources de MOP 2) de déterminer la composition de la MOP 3) de mettre en évidence les forçages environnementaux responsables des variations de composition de la MOP. Les tests statistiques ont été tous réalisés en utilisant le software R (R Core Team, 2008).

Pour répondre à ces trois problématiques trois approches statistiques ont été menées :

(1) détermination des différentes sources : analyse de groupement, régression multiple.

Dans un premier temps plusieurs groupes ayant des paramètres de signatures similaires pour chaque lieu d'étude ($\delta^{13}\text{C}$; C/N ; COP/Chl_a) ont été discriminés par une classification Ascendantes Hiérarchiques (CAH) basés sur la méthode d'agglomération flexible hiérarchique associé à un test simprof (« similarity profile »). Elle a été mise en œuvre en utilisant une matrice de distance euclidienne.

Par la suite une régression multiple entre le $\delta^{13}\text{C}$ et différents paramètres environnementaux (salinité, température, [Chl *a*], COP, %Phéo, $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$, etc..) a permis d'obtenir une équation de régression décrivant l'évolution du phytoplancton au cours du temps ou le long d'un gradient halin pour un estuaire considéré. Afin d'obtenir le meilleur compromis entre nombre de paramètres à conserver pour la régression finale le R², deux méthodes ont été utilisées : par pas croissants (en ajoutant le facteur le plus significatif) et décroissants (en enlevant à chaque fois le facteur le moins significatif); elles convergent vers une même équation. Seuls les paramètres significatifs (p<0,05) améliorant de manière significative les R² en diminuant l'écart entre les valeurs mesurées et théoriques sont conservées.

(2) Composition de la MOP : modèle de mélange

Un modèle de mélange basé sur une approche bayésienne a été utilisé à l'aide du logiciel

R2.14.0 (package SIAR: Stable Isotope Analysis in R; Parnell *et al.* 2010) afin de quantifier les contributions relatives des différentes sources dans le pool de matière organique. Ce modèle à l'avantage de prendre en compte l'incertitude liée aux différentes sources de matières organiques considérées. Il permet en outre de résoudre aussi bien des systèmes d'équations déterminés, sur-déterminés comme sous-déterminés en fonction du nombre d'équations et d'inconnues.

Le concept de base repose sur les équations suivantes :

$$\begin{aligned} \delta^{13}\text{C}_{\text{mélange}} &= x_1 \delta^{13}\text{C}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{13}\text{C}_{\text{source n}} \\ \text{N/C}_{\text{mélange}} &= x_1 \text{N/C}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \text{N/C}_{\text{source n}} \\ \delta^{15}\text{N}_{\text{mélange}} &= x_1 \delta^{15}\text{N}_{\text{source 1}} + \dots + x_n \delta^{15}\text{N}_{\text{source n}} \\ x_1 + \dots + x_n &= 1 \end{aligned}$$

n représente le nombre de sources de MOP considérées.

Parmi les différents résultats fournis par le modèle de mélange, les modes sont les valeurs les plus représentatives de l'ensemble des solutions possibles. Ce sont ces valeurs qui sont présentées dans la partie Résultats et qui ont été utilisées pour d'éventuels autres calculs (*e.g.* valeurs intégrées à l'échelle annuelle).

L'incertitude associée aux résultats du modèle de mélange varie de 2% à 30%.

Il est à noter que le rapport N/C, et non le rapport C/N, est utilisé dans le modèle de mélange. En effet, le rapport N/C permet de quantifier le mélange de carbone organique particulaire (COP) tandis que le rapport C/N permet de quantifier le mélange d'azote particulaire (Perdue et Koprivnjak, 2007). Afin d'utiliser un système d'équation homogène et puisque le $\delta^{13}\text{C}$ décrit le mélange de COP, l'utilisation du rapport N/C a donc été privilégiée.

Toutefois, les valeurs de C/N étant généralement plus connues (et donc plus parlantes) que celles de N/C, ce sont ces premières qui seront présentées dans la partie Résultats et sur les différentes figures.

Enfin, le $\delta^{15}\text{N}$ n'ayant pas été mesuré dans tous les estuaires et, pour ceux pour lesquels il a été mesuré, il n'est que peu discriminant entre les différentes sources de MOP, celui-ci n'a donc été utilisé dans la présente étude que pour les systèmes de la Garonne et de la Dordogne.

(3) Forçages environnementaux : analyse en composante principale

Afin de déterminer les forçages environnementaux contrôlant ces compositions des analyses en composantes principales (ACP) avec variables supplémentaires ont été utilisées (Benzecri, 1973) (package FactoMineR). Les variables actives ont été les contributions des différentes sources de matière organique particulaire ; les variables ont été les variables environnementales (MES, température, débits, salinité). Toutefois, quand les sources de MOP n'étaient qu'au nombre de deux, elles ont été utilisées comme variables supplémentaires, les variables actives étant les variables environnementales.

Une ACP similaire a été effectuée à l'échelle de l'ensemble des estuaires fluviaux avec les contributions moyennes annuelles des différentes sources pour les différents estuaires en variables actives et les moyennes des variables environnementales en variables supplémentaires.

II. Résultats

Afin de simplifier la présentation des résultats seuls quelques estuaires présentant des conditions contrastées sont présentés ici sous forme graphique. Les autres graphiques se trouvent en annexe.

A) Estuaires fluviaux

Les estuaires étudiés en limite amont de la marée dynamique et ceux étudiés dans leur partie fluviale dynamique sont présentés ici ensembles sous le nom générique d' « estuaires fluviaux ». Les différents estuaires présentent un fort gradient de turbidité avec des valeurs de concentrations en matières en suspension dépassant 2000 mg l^{-1} à certaines périodes pour la Charente, des valeurs fréquemment inférieures à 40 mg l^{-1} pour la Loire et les tributaires du bassin d'Arcachon et des valeurs généralement intermédiaires pour la Garonne et la Dordogne (34 et 700 mg l^{-1}) (Figure 2 et Annexe 1). Selon les estuaires, la relation entre turbidité et débits est de deux types : les estuaires les plus turbides ont des concentrations en MES maximales lors des faibles débits (installation du bouchon vaseux ; *e.g.* la Garonne), tandis que les estuaires de turbidité moindre ont des concentrations en MES maximales en début de crues hivernales, lors de la forte augmentation des débits (apports par l'amont ; *e.g.* Loire, Cirès). Il est à noter que le premier type d'estuaire a été étudié dans sa partie fluviale tandis que le second type a été étudié en limite amont de la marée dynamique.

De même, un fort gradient de concentration en chlorophylle *a* (chl *a*) et de rapport carbone organique particulaire sur chlorophylle *a* (COP/chl*a*) est observable entre les différents estuaires (Figure 2 et Annexe 1) : d'un côté, la Loire possède des concentrations en chlorophylle *a* élevées dépassant $100 \mu\text{g l}^{-1}$ en période estivale et des rapports COP/chl*a* inférieurs à 200 g g^{-1} , voire 100 g g^{-1} , sur de longues périodes de temps (généralement du printemps à l'automne). A l'autre extrémité se situe le Cirès avec des concentrations en chlorophylle *a* très faibles ($0,44 \pm 0,17 \mu\text{g l}^{-1}$) et des rapports COP/chl*a* très élevés ($2000 - 10\ 000 \text{ g g}^{-1}$) tout au long de l'année. Les autres estuaires présentent des concentrations en chlorophylle *a* relativement faibles comprises entre 1 et $5 \mu\text{g l}^{-1}$ hormis pour le Milieu qui présente les mêmes caractéristiques que le Cirès. Les rapports COP/chl*a* et les concentrations en chlorophylle *a* ont des dynamiques similaires à ceux du Cirès (Milieu) ou intermédiaire entre les deux extrêmes pour les autres estuaires.

Selon les estuaires, les rapports C/N peuvent être inférieurs à 10 mol mol^{-1} tout au long de l'année (*e.g.* Loire), être élevés et constants tout au long de l'année (*e.g.* $19 \pm 1 \text{ mol mol}^{-1}$ pour le Cirès et $17 \pm 1 \text{ mol mol}^{-1}$ pour le Milieu), être moyens et constants tout au long de l'année (*e.g.* $8,5 \pm 0,6 \text{ mol mol}^{-1}$ pour la Garonne) ou présenter de fortes variabilité au court du temps avec des valeurs faibles au printemps ($\sim 7 \text{ mol mol}^{-1}$) et plus élevées en hiver ($\sim 10 \text{ mol mol}^{-1}$) comme c'est le cas pour la Loire. Ces valeurs élevées se retrouvent lors des fortes crues et des fortes concentrations en MES.

Les $\delta^{13}\text{C}$ ont des dynamiques similaires aux C/N pour le Cirès et le Milieu: ils sont très stables tout au long de l'année ($\delta^{13}\text{C} = -28,4 \pm 0,17\text{‰}$; C/N = $14 \pm 1 \text{ mol mol}^{-1}$). Une variabilité simultanée des valeurs les $\delta^{13}\text{C}$ et C/N est aussi observable pour la Loire avec cependant certaines périodes (printemps, été) où les C/N sont relativement constant ($7,4 \pm 0,4 \text{ mol mol}^{-1}$) alors que les $\delta^{13}\text{C}$ varient ($-27,8 \pm 1,5 \text{‰}$). Pour certains estuaires (Garonne, Dordogne), le $\delta^{13}\text{C}$ augmente légèrement en hiver pour se stabiliser autour d'une valeur de $-25 \pm 0,30\text{‰}$ au printemps/été.

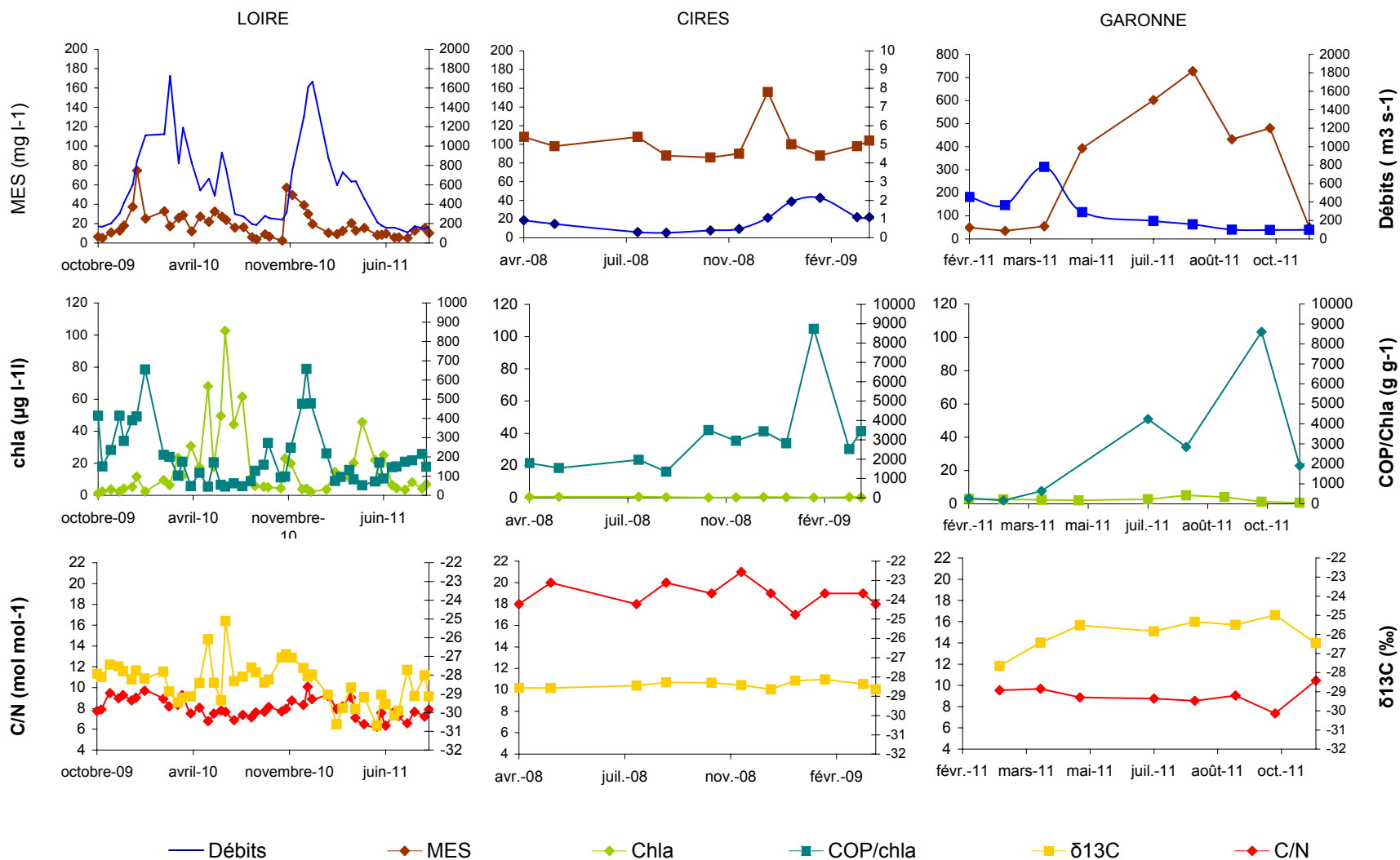


Figure 2: évolution temporelle des matières en suspension (MES), débits, des concentrations en Chlorophylle a, des rapports COP/Chla et C/N et de la signature isotopique du carbone particulaire ($\delta^{13}C$) pour la partie estuaire fluviale de la Loire, le Cires et la Garonne.

B) Estuaires halins

Les concentrations en MES varient selon les estuaires, les saisons et la localisation dans le gradient de salinité (Figure 3 et Annexe 2). Les estuaires turbides, comme la Charente présentent des concentrations en MES pouvant dépasser les 2000 mg l⁻¹ en aval en hiver alors qu'elles sont inférieures à 200 mg l⁻¹ pendant la période printanière. La Seine, l'Elorn et l'Aulne ont des concentrations en MES inférieures à 200 mg l⁻¹. Cependant les maxima de turbidités ne sont pas localisés au même endroit dans l'estuaire au cours des saisons (*e.g.* maximum de turbidité à salinité 10 pour la Seine en aout et à salinité 5 et 20 pour l'Elorn en février et avril).

De même les concentrations en chlorophylle *a* sont très contrastées entre les différentes saisons et/ou localisations. Certains estuaires comme la Charente (tout au long de l'année) et l'Aulne et l'Elorn en février et avril, montrent de faibles concentrations en chlorophylle *a* variant de 0,27 µg l⁻¹ à 6 µg l⁻¹. D'autres présentent des concentrations élevées en certaines saisons (*e.g.* 50 µg l⁻¹ en Aout dans l'Elorn) ou localisations dans l'estuaire (*e.g.* 20 µg l⁻¹ en amont dans la Seine en Aout et 17 µg l⁻¹ en aval en juin).

Les rapports COP/Chla sont très variables. Ils peuvent être très élevés comme dans la Charente en amont et en hiver (14000 g g⁻¹), inférieurs à 100 g g⁻¹ (*e.g.* Elorn et Aulne en aout) ou présenter des valeurs intermédiaires (*e.g.* Elorn en février 2500 g g⁻¹). De plus, ces maxima de COP/Chla, se retrouvent, pour tous les estuaires lors des maximums de turbidités hormis en aout. Pour l'Elorn ils sont localisés en aval en février (salinité 5) en amont en avril et pour la Seine dans la partie médiane en juin (salinité 10).

Les rapports C/N sont plus importants en amont qu'en aval (hormis en aout) et sont plus élevés en hiver (*e.g.* 12 mol mol⁻¹ pour l'Elorn en février) qu'en été (*e.g.* 9 mol mol⁻¹ pour l'Elorn en aout). Le δ¹³C suit une dynamique inverse : il est plus faible en amont qu'en aval, et en hiver qu'en été. Cependant en aout dans les estuaires les C/N sont relativement constants le long du gradient avec des valeurs de 7,3±0,6 mol mol⁻¹ dans la Seine alors que les δ¹³C tendent à augmenter.

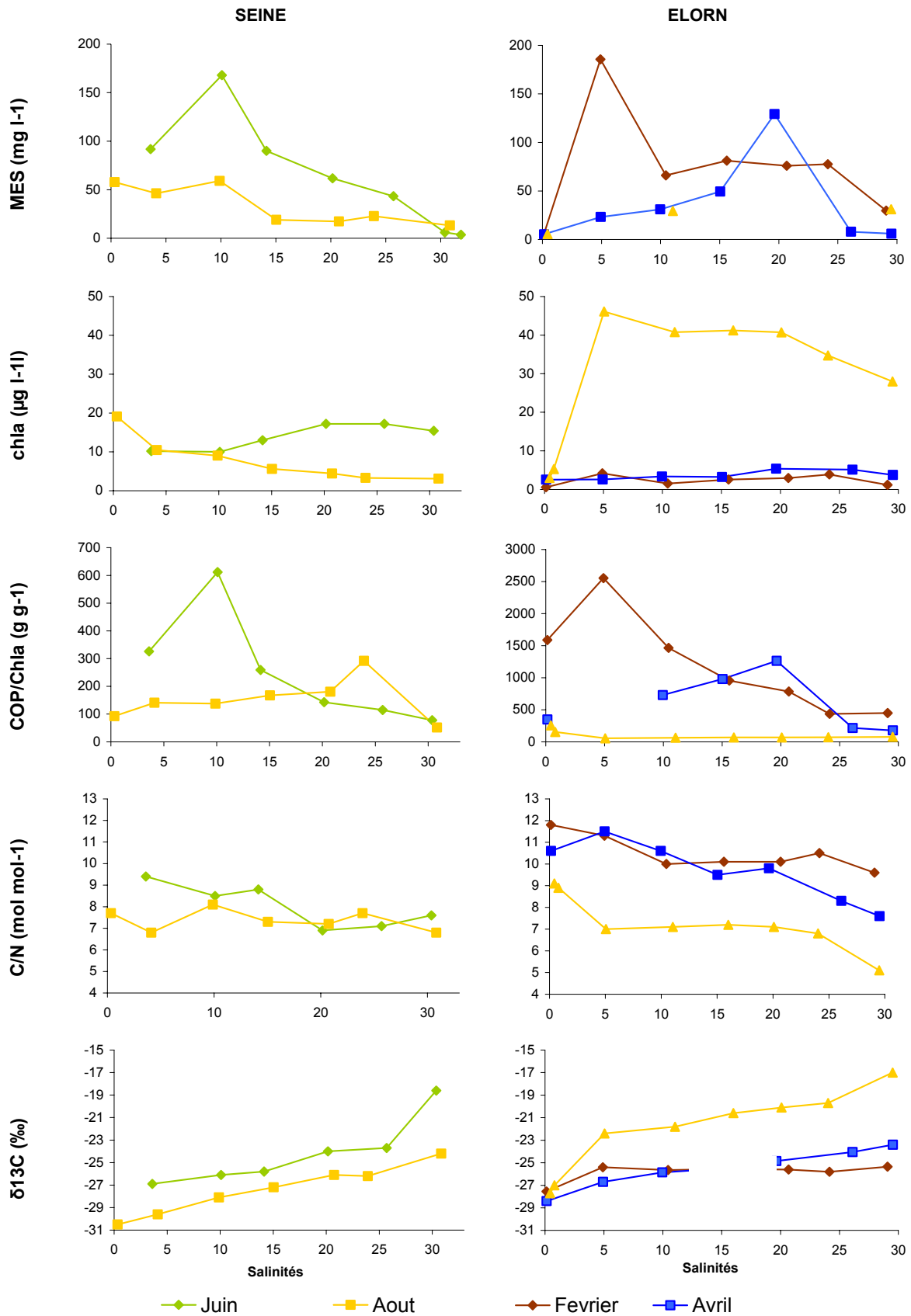


Figure 3: évolution spatiale le long du gradient halin des matières en suspension (MES), débits, des concentrations en chlorophylle a, des rapports COP/Chla et C/N et de la signature isotopique du carbone particulière ($\delta^{13}C$) pour la partie estuaire halin de la Seine et l'Elorn

III. Discussion

Parmi les études portant sur l'origine et la qualité de la matière organique particulaire (Higuera et al., 2014), peu d'entre elles en quantifient la composition. Parmi ces dernières, plus rares sont celles qui prennent en compte, quand cela est nécessaire, le compartiment phytoplanctonique fluvial et/ou estuarien (Savoie *et al.*, 2012), la plupart se bornant à un mélange de deux sources : le matériel terrestre *versus* le matériel marin (*e.g.* Fontugne et Jouanneau, 1987). Ceci est dû d'une part au fait que les modèles de mélange permettant d'estimer la composition de la MOP à partir de systèmes d'équations sous-déterminés n'existent que depuis une quinzaine d'année (Phillips, 2001) et d'autre part au fait que les signatures isotopiques du phytoplancton sont difficiles à estimer (voir ci-dessous).

L'estimation de la composition de la MOP à l'aide d'un modèle de mélange et d'une approche isotopique et élémentaire nécessite 1) d'identifier les principales sources de MOP pour chaque système étudié et 2) de déterminer les signatures isotopiques et élémentaires de ces sources et leur variabilité spatiale et/ou temporelle.

A) Détermination des sources de matière organique particulaire et de leurs signatures élémentaires et isotopiques.

La matière organique particulaire est un mélange hétérogène et complexe de plusieurs composantes d'origine différentes. Il existe donc une multitude de sources dans un pool de matière organique. La dominance d'une source phytoplanctonique et d'une source terrestre dans la MOP côtière a été reportée par de nombreuses études (Savoie *et al.*, 2003 ; Etcheber *et al.*, 2007 ; Dubois *et al.*, 2012). Mais à ces sources majeures peuvent s'ajouter d'autres sources telles que les macrophytes (débris de végétaux aquatiques), le microphytobenthos (diatomées, chlorophycées, cyanophycées) ou la MOP d'origine anthropique (rejets de stations d'épuration). Ces sources, peuvent potentiellement représenter une part importante de la MOP selon les systèmes, les saisons ou les sites au sein des systèmes. Cependant toutes ces sources ne sont pas présentes dans tous les estuaires, ou du moins en quantité suffisamment importante pour nécessiter d'être quantifiées.

Afin de minimiser les incertitudes associées aux résultats du modèle de mélange, il est nécessaire de minimiser le nombre de sources potentielles (*i.e.* le nombre d'inconnues dans le système d'équation) et donc d'optimiser la détermination du système d'équation (Phillips & Gregg, 2003). Le choix des sources potentielles à prendre en considération a été fait selon deux modalités :

- (1) En fonction de la connaissance du système d'étude (bibliographie, connaissances empiriques). A titre d'exemple, de nombreuses stations de la Garonne et en Dordogne on rejettent leurs eaux traitées en Garonne et en Dordogne. Au contraire les eaux usées des villes bordant le Bassin d'Arcachon sont récoltées, traitées et rejetées dans l'océan Atlantique. Ainsi, la MOP anthropique issue des stations d'épuration sera donc considérée comme source potentielle de MOP en Garonne et en Dordogne, mais pas dans les tributaires du Bassin d'Arcachon.
- (2) En fonction des données. La comparaison des signatures isotopiques et élémentaires des sources potentielles et des valeurs isotopiques et élémentaires de la MOP permet, quand ces valeurs sont très éloignées des signatures, de considérer certaines sources comme ne contribuant pas (ou en trop faible proportion) le pool de MOP, comme c'est le cas pour la Garonne et Dordogne (Annexe 3).

1) Le phytoplancton

Le phytoplancton ne pouvant être séparé des autres particules présentes dans un volume d'eau, il n'est pas possible de mesurer directement ses signatures isotopiques et élémentaires. Une des caractéristiques du phytoplancton est son rapport COP/Chla. Il varie entre 40 g/g et 200 g/g (Le Bouteiller et al., 2003 ; Savoye *et al.*, 2003 et références citées par cet article). Sous nos latitudes, une MOP ayant un rapport inférieur à 100 peut être considéré comme dominé par le phytoplancton vivant (Cifuentes et al., 1988 ; Wang et al., 2012).

De ce fait dans notre étude afin de déterminer les signatures élémentaires et isotopiques, caractéristiques du phytoplancton, seuls les échantillons de MOP présentant un rapport COP/chla inférieur à 100 sont utilisés.

Dans le Milieu et le Cirès les rapports COP/Chla sont très élevés ($1000 - 9000 \text{ g g}^{-1}$) et la concentration en Chla très faibles ($0,2-0,6 \mu\text{g l}^{-1}$). Il a été considéré que la contribution du phytoplancton à la MOP était négligeable et que cette dernière était uniquement composée de matériel terrigène. Ceci est en accord avec les valeurs de C/N ($7,4 \pm 0,4 \text{ mol mol}^{-1}$) et de $\delta^{13}\text{C}$ ($-27,8 \pm 1,5 \text{ ‰}$) très stables dans le temps et caractéristiques d'un matériel terrestre. Dans tous les autres estuaires la présence de phytoplancton à été prise en compte.

a) Signatures élémentaires du phytoplancton

L'approche principalement utilisée a été de calculer, pour chaque estuaire, la moyenne et l'écart type des rapports N/C pour les échantillons présentant un rapport COP/chla inférieur ou égale à 100 g g^{-1} .

Les valeurs ainsi calculées (Tableau 2 et 3) sont comprises entre $0,16 \pm 0,018 \text{ mol/mol}$ (C/N = $6,25 \text{ mol mol}^{-1}$) et $0,13 \pm 0,018 \text{ mol/mol}$ (C/N = $7,7 \text{ mol/mol}$). Ces valeurs sont caractéristiques du phytoplancton (cf. Introduction).

Quand cette approche n'a pu être menée (pas ou trop peu d'échantillons de COP/chla $\leq 100 \text{ g g}^{-1}$: Garonne, Dordogne, Porge) le rapport de Redfield (N/C = $0,15 \text{ mol mol}^{-1}$; C/N = $6,6 \text{ mol mol}^{-1}$; Redfield *et al.*, 1963) a été utilisé.

b) Signatures isotopiques du phytoplancton

Le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique varie fortement dans le temps et dans l'espace : il dépend principalement 1) du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (CID) utilisé par le phytoplancton (Chanton et Lewis., 1999) et 2) de la balance entre demande en carbone par le phytoplancton (productivité) et disponibilité en CO_2 dans l'eau (Fry, 1996). Ce dernier point est lié au fractionnement isotopique, *i.e.* à l'utilisation préférentielle, mais variable selon les conditions environnementales, de l'isotope léger (^{12}C) au détriment du lourd (^{13}C) lors de la fixation enzymatique du CO_2 . Ainsi, tout facteur environnemental influençant le $\delta^{13}\text{C}$ du CID, la disponibilité en CO_2 , et la productivité de la cellule aura potentiellement un impact sur le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique. Par ailleurs, la variation du $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique au cours de la dégradation du phytoplancton a été décrite (*e.g.* Savoye *et al.*, 2003)

Afin de déterminer le $\delta^{13}\text{C}$ du phytoplancton, deux approches ont été menées, toutes deux utilisant les données correspondant à des COP/chla $\leq 100 \text{ g g}^{-1}$. La première a consisté en la recherche d'un modèle statistique permettant de relier le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique à des paramètres environnementaux afin de pouvoir estimer le $\delta^{13}\text{C}$ à l'aide de ce modèle pour chaque échantillon, en particulier quand le rapport COP/chla est supérieur à 100.

Cette méthode présente néanmoins des limites dans son application: elle nécessite une base de données relativement importante et des conditions de COP/Cha $\leq 100 \text{ g g}^{-1}$ en différentes

dates/salinités pour que le modèle soit valable toute l'année/partout. Cela sous entend aussi, dans le cas du gradient de salinité, que le phytoplancton se développe partout et de manière égale au sein de l'estuaire, ce qui n'est pas toujours le cas, en particulier pour les estuaires à court temps de résidence ou à forte turbidité où la production phytoplanctonique est surtout localisée en amont et en aval.

La seconde approche a été de déterminer, pour chaque estuaire, un $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique unique par gamme de salinité et/ou par saison. Cette approche a l'avantage de nécessiter des jeux de données à COP/chla $\leq 100 \text{ g g}^{-1}$ moins volumineux, mais l'inconvénient de moins bien prendre en compte l'influence des paramètres environnementaux.

- Approche par modèle statistique (estuaire fluvial de la Loire et estuaire halin de la Seine)

Parmi les paramètres environnementaux disponibles, les paramètres suivants ont été retenus pour la recherche d'un modèle statistique : la température (elle conditionne la solubilité du CO_2 et donc sa disponibilité, et influence la productivité phytoplanctonique), la salinité (le $\delta^{13}\text{C}$ du CID augmente avec la salinité), les concentrations en pigments chlorophylliens (chlorophylle *a* et phæopigments, comme indicateurs de la production primaire) et leur rapport (indicateur de l'état de dégradation du phytoplancton), les concentrations en MES (comme indicateur de la turbidité qui peut limiter la production phytoplanctonique) et les concentrations en nutriments (qui peuvent limiter la production phytoplanctonique). A cela s'ajoutent, les données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ qui étaient également disponibles pour l'estuaire de la Seine.

En limite amont de l'estuaire fluvial de la Loire l'équation permettant de décrire au mieux la variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique est la suivante :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{phytoplancton}} = -34,2 + 0,045[\text{chla}] + 13,88[\text{phæo}]/[\text{chla} + \text{phæo}]$$

où phæo signifie phæopigments.

Cette relation est significative ($p = 0,001$), explique 65% de la variabilité des données ($R^2 = 0,65$) et est associée à une incertitude générale de 1,0%. Elle met en évidence l'influence de la production phytoplanctonique et de l'état de dégradation du phytoplancton sur son $\delta^{13}\text{C}$ dans cet estuaire. De telles influences ont également été mises en évidence dans la Baie de Seine (Savoye *et al.*, 2003).

Concernant l'estuaire halin de la Seine l'équation permettant de décrire au mieux la variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique est la suivante :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{phytoplancton}} = -22,4 + 1,32 \delta^{13}\text{C}_{\text{CID}} + 0,31[\text{Chla}]$$

Cette relation est significative ($p = 3 \cdot 10^{-5}$), explique 95% de la variabilité des données ($R^2 = 0,95$) et est associée à une incertitude générale de 0,9%.

Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ suit l'équation de mélange du CID le long du gradient halin (Hellings *et al.*, 1999) :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{mél}} = \frac{(F_m \times C_m \times \delta^{13}\text{C}_m + F_r \times C_r \times \delta^{13}\text{C}_r)}{F_m \times C_m + F_r \times C_r}$$

où : mél : mélange ; m : eau de mer ; r : eau douce (rivière) ; F : fraction ($F_m + F_r = 1$) ; C : concentration en CID.

où $F_r = \frac{S_{\text{max}} - S_{\text{échantillon}}}{S_{\text{max}} - S_{\text{min}}}$ avec S : salinité

Ces relations mettent en évidence l'influence de la production phytoplanctonique et de la salinité (i.e, l'évolution du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ avec la salinité) sur le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique dans cet

estuaire. L'influence de la salinité sur le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique est classiquement rapportée dans les estuaires halins (*e.g.* Chanton et Lewis., 1999 ; Savoye *et al.*, 2012).

Les stations de l'Aulne et de l'Elorn étant fortement sous influence marine (Salinité>33), la signature du phytoplancton marin a été déterminée grâce à l'équation établie pour la Rade de Brest (Savoye, 2001) :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{cop}} = -31,9(\pm 1,1) + 0,43(\pm 0,07)\text{température} + 0,79(\pm 0,15)[\text{pigments}] + 3,3 \cdot 10^{-3}(\pm 1,1 \cdot 10^{-3})\text{COP} / \text{Chla}$$

- Approche signature unique.

L'approche par régression n'a pu être utilisée pour les tributaires du Bassin d'Arcachon et de la Rade de Brest ((Elorn et Aulne, sauf pour leurs eaux les plus salées), la Garonne et la Dordogne. Une approche par gamme de salinité et/ou saison a donc été menée.

Des auteurs tels que Riera et Richard (1996), Hellings (1999) ont estimés le $\delta^{13}\text{C}$ du phytoplancton d'estuaire et d'eau douce à partir du $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$. La valeur du fractionnement isotopique est donc soustraite à la valeur isotopique du $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$. Tan et Strain (1983) ont estimés que le fractionnement isotopique entre le phytoplancton et le carbone inorganique (CO_2) pour un environnement estuarien (St. Lawrence, Canada) est compris 21,2 and 24,3‰. Cette approche sous-entend 1) que le $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ soit connu pour chaque estuaire (et éventuellement chaque saison et chaque masse d'eau) et 2) que le fractionnement isotopique soit connu pour chaque estuaire (et éventuellement chaque saison et chaque masse d'eau ; ce n'est pas le cas) ou que l'on considère 'universelle' une valeur de la littérature (ce n'est pas non plus le cas). Cette approche ne sera donc pas utilisée ici.

En Garonne et en Dordogne la valeur de $-34,60 \pm 0,84\text{‰}$ (Savoye *et al.*, 2012) a été utilisée. Au vu de la faible dynamique phytoplanctonique dans ces estuaires (la production primaire est limitée par la forte turbidité) cette valeur a été considérée constante au cours du temps.

Pour l'Elorn et l'Aulne il a été considéré que durant les mois d'hiver (Février) et début de printemps (Avril), comme le suggèrent les résultats, la production primaire a lieu majoritairement en amont (phytoplancton d'eau douce) et en aval de l'estuaire (phytoplancton marin) mais pas dans la partie médiane. Un faible temps de résidence de l'eau dans l'estuaire a pour conséquence une production autochtone moindre. Un phytoplancton dégradé va pouvoir s'accumuler dans la partie médiane.

La signature du phytoplancton d'eau douce, considérée comme constante toute l'année, a été déterminée dans l'Aulne ($-32,38 \text{‰}$) (Tableau 3) en prenant la valeur du $\delta^{13}\text{C}$ à salinité 0,11 ayant un COP/Chla de 103 g g^{-1} . Ce rapport étant supérieur à 100, une correction a donc été faite pour enlever la contribution terrestre en supposant de manière arbitraire qu'elle est de 50% environ.

C'est en s'appuyant sur ce résultat et en faisant l'hypothèse que ces deux estuaires ont des fonctionnements similaires (même fractionnement isotopique du phytoplancton) qu'a été déterminée la signature du phytoplancton d'eau douce pour l'Elorn ($-31,60\text{‰}$). Une correction a été faite en soustrayant la différence du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ de l'Aulne et l'Elorn (respectivement $-13,70 \text{‰}$ et $-12,92\text{‰}$).

En aout pour l'Elorn les COP/Chla sont inférieurs à 100 g g^{-1} et les concentrations en Chlorophylle *a* sont supérieures à $40 \mu\text{g l}^{-1}$ mis à part aux salinités inférieurs à 5. Il a donc été estimé que la matière organique était composée uniquement de phytoplancton poussant *in situ* entre les salinités 5 et 30 (pas d'utilisation du modèle de mélange et donc pas de nécessité de déterminer le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique pour ce mois ci dans l'Elorn). Pour l'estuaire de

l'Aulne, les rapports COP/Chla étant plus élevés, la signature isotopique du phytoplancton estuarien a été déterminée en prenant la valeur du $\delta^{13}\text{C}$ correspondant au COP/chla le plus faible ($56,5\text{g g}^{-1}$) et aux concentrations de Chlorophylle *a* maximales ($74\ \mu\text{g l}^{-1}$) (Tableau 3).

Pour la Leyre, le Ponteil, le canal des Landes, le Renet, le Lanton, le Tagon et le Porge (tous des tributaires du bassin d'Arcachon) les rapports COP/Chla sont trop élevés pour pouvoir estimer directement le $\delta^{13}\text{C}$ du phytoplancton. Il a donc été nécessaire d'abord de sélectionner un jeu de données pour lequel la contribution terrigène était minimale, puis d'extraire l'interférence due au matériel terrigène (utilisation de l'équation de mélange basée sur le $\delta^{13}\text{C}$) et ainsi d'estimer le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique. Par ailleurs, les $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ n'étant pas identiques pour tous les tributaires, ce travail a été effectué sur deux groupes de tributaires : ceux ayant un $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ de $-13,2\pm 2\ \text{‰}$ (Ponteil, Leyre, canal des Landes) et ceux ayant un $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ de $-19,4\pm 0,6\ \text{‰}$ (Cirès, Renet, Lanton, Tagon, Milieu).

Pour chaque groupe ont donc été sélectionnées les dates ayant des $\delta^{13}\text{C}$ différents de ceux du matériel terrigène \pm l'écart type (voir ci-dessous), afin de s'affranchir des échantillons contenant trop de MOP terrestre.

La concentration en COP phytoplanctonique a été estimée à l'aide du rapport COP/chla. Ce rapport n'étant pas connu, il a été estimé en même temps que le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique. Pour ce faire l'outil Solveur sous Excel a été utilisé. Le $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctonique et le rapport COP/chla ont été déterminés en minimisant l'écart entre le $\delta^{13}\text{C}$ calculé et le $\delta^{13}\text{C}$ mesuré (méthode des moindres carrés) à l'aide de l'équation de mélange :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{calculé}}(\text{‰}) = \frac{[[\text{Chla}]_{\text{échantillon}} \times (\text{COP}/\text{Chla})_{\text{estimé}}] \times \delta^{13}\text{C}_{\text{phyto}} + [\text{COP}]_{\text{terr}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{terr}}}{[\text{COP}]_{\text{total}}}$$

Les $\delta^{13}\text{C}$ phytoplanctoniques (Tableau 2) et les rapports COP/chla ainsi estimés sont $-30,49\pm 1\ \text{‰}$ et 95g g^{-1} pour le groupe Ponteil–Leyre–canal des Landes, et $-30,60\pm 1,5\ \text{‰}$ et 100g g^{-1} pour le groupe Cirès–Renet–Lanton–Tagon–Milieu. Ces valeurs sont typiques du phytoplancton d'eau douce (Vuorio *et al.*, 2006).

2) Le matériel terrigène

Deux types de matériaux terrigènes sont classiquement retrouvés dans les estuaires (Etcheber *et al.*, 2007) : un matériel issu du lessivage des sols et de la litière, plus labile (nommé par la suite 'matériel terrigène labile') et généralement apporté lors des crues, et un matériel réfractaire (nommé par la suite 'matériel terrigène réfractaire'), issu du précédent, mais fortement dégradé suite à un piégeage dans le sédiment et/ou le bouchon vaseux. Ces deux matériaux ont des signatures élémentaires et isotopiques différentes (*e.g.* Savoye *et al.*, 2012).

Les signatures de la MOP terrestre labile ont été déterminées à partir des données associées à des rapports COP/Chla maximaux, afin de minimiser l'influence du phytoplancton.

Quand les rapports COP/chla les plus élevés étaient supérieurs à 1200 (Aulne, Elorn, Leyre et tributaire), les signatures élémentaires et isotopiques ont été calculées, pour les échantillons correspondants, directement à partir des données mesurées (moyenne). Au contraire, quand ces rapports étaient inférieurs à 500g g^{-1} (cas de la Loire), l'influence du phytoplancton a été prise en compte pour calculer les signatures élémentaires et isotopiques de la MOP terrestre labile (approche similaire à celle décrite ci-dessus pour le phytoplancton des tributaires du

Bassin d'Arcachon). Pour la Seine aucune signature terrigène n'a été prise en compte. En effet les prélèvements ont été effectués en juin et avril, et on peut supposer que l'apport de l'amont est négligeable.

Les signatures de la MOP terrigène labile des différents estuaires sont relativement proches les unes des autres ($-27,9 \pm 0,5\%$) (Tableau 2 et 3) et caractéristiques des plantes terrestres en C3 (O'Leary, 1981). Ces valeurs apparaissent principalement au moment des fortes crues (Figure 2 et 3 et Annexe 1 et 2).

Pour certains estuaires présentant une turbidité importante non reliée à des forts débits (Porge) et/ou à une position amont dans l'estuaire (Seine, Aulne, Elorn) la signature d'un matériel terrigène réfractaire a pu être identifiée.

Ces signatures isotopiques sont très proches pour les différents estuaires ($-25,6 \pm 0,4\%$). Ceci est concordant avec les résultats associés à un maximum de turbidité pour la Garonne et la Dordogne dont les valeurs sont reportées dans le Tableau (Savoye *et al.*, 2012).

Tableau 2: Signatures des différentes sources de matière organiques utilisées dans e modèle de mélange pour les estuaires fluviaux. Notation: N/C (C/N) et $\delta^{13}C$ ($\delta^{15}N$) pour la Garonne et la Dordogne.

estuaires	Signature phytoplancton		Signature terrigène labile		Signature terrigène réfractaire		MOP STEP
	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	
Loire	$\delta^{13}C_{\text{phyto}} = 34,160 + 0,04805[C_{\text{hla}}] + 13,882\%_{\text{Pheo}} \pm 0,99$	$0,14 \pm 0,012$ (C/N=7,1)	$-28,13 \pm 0,99$	$0,097 \pm 0,00265$ (C/N=10,30)	-	-	
Garonne	$-34,60 \pm 0,84$ (6,5)	$0,15 \pm 0,03$ (6,6)	$-28,38 \pm 0,43$ (4,43)	$0,070 \pm 0,03$ (14,17)	$-25,21 \pm 0,22$ (5,5)	$0,11 \pm 0,02$ (8,72)	$-25,2 \pm 0,45$ (0,16) ; N/C = $0,17 \pm 0,01$ (5,76)
Dordogne	$-34,60 \pm 0,84$ (6,5)	$0,15 \pm 0,03$ (6,6)	$-28,38 \pm 0,43$ (4,43)	$0,070 \pm 0,03$ (14,17)	$-25,21 \pm 0,22$ (5,5)	$0,11 \pm 0,02$ (8,72)	$-25,2 \pm 0,45$ (0,16) ; N/C = $0,17 \pm 0,01$ (5,76)
Porge	$-30,49 \pm 1$	$0,15 \pm 0,01$ (6,6)	$-27,41 \pm 0,12$	$0,074 \pm 0,008$ (13,3)	$-25,86 \pm 1,0$	$0,151 \pm 0,006$ (20,30)	-
Leyre et tributaires	$-30,60 \pm 1,53$	-	$-28,36 \pm 0,44$	-	-	-	-

Tableau 3: Signatures des différentes sources de matière organiques utilisées dans le modèle de mélange pour les estuaires fluviaux. Notation: N/C (C/N) et $\delta^{13}C$. La signature du microphytobenthos correspond à une valeur moyennée sur l'année

estuaires	Signature phyto eau douce		Signature phyto estuarien		Signature phyto marin		Signature terrigène labile		Signature terrigène réfractaire		Signature MPB
	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	$\delta^{13}C$ (‰)	N/C (mol/mol)	
Seine	$\delta^{13}C_{\text{phy}} = -22,40618 + 1,317 * \delta \text{ DIC mel} + 0,3155 \text{ Chla} \pm 0,91$						-	-	$-25,27 \pm 0,12$	$0,10 \pm 0,0090$ (10)	
Aulne	$-32,38 \pm 1$	$0,15 \pm 0,015$ (6,6)	$-25,27 \pm 0,91$	$0,16 \pm 0,018$ (6,3)	février $-25,23 \pm 1,01$ avril $-23,38 \pm 0,32$ août $-18,86 \pm 0,54$	$0,13 \pm 0,018$ (7,69)	$-27,63 \pm 0,99$	$0,084 \pm 0,0009$ (11,9)	$-25,9 \pm 0,24$	$0,07 \pm 0,039$ (14,28)	-
Elorn	$-31,6 \pm 1$	$0,13 \pm 0,015$ (7,14)	-	-	février $-25,43 \pm 0,80$ avril $-23,1 \pm 0,84$ août $-19,21 \pm 0,54$	$0,14 \pm 0,02$ (7,69)	$-27,63 \pm 0,99$	$0,084 \pm 0,0009$ (11,9)	$-25,9 \pm 0,24$	$0,07 \pm 0,039$ (14,28)	-
Charente	$-29,66 \pm 0,71$	-	-	-	-	-	$-28,19 \pm 0,45$	-	$-24,18 \pm 0,47$	-	$-17,17 \pm 3,39$

B) Composition de la matière organique particulaire.

La composition de la matière organique particulaire dans les différents estuaires est déterminée par un modèle de mélange. Dans le but de synthétiser les résultats, seuls les modes des solutions possibles données par ce modèle sont présentés et discutés ci-dessous. Ces modes correspondent aux valeurs les plus probables.

1) Estuaires fluviaux

En moyenne annuelle, la MOP des estuaires fluviaux étudiés, quelle que soit leur taille, est principalement composée de matériel d'origine terrestre (Figure 4). Cependant l'estuaire de la Loire, de la Charente, le canal des Landes et le Tagon contiennent une part importante de matériel phytoplanctonique. (Respectivement 57%, 56%, 44% et 30%). Tous les autres estuaires ont une MOP très largement dominée par le matériel terrigène (76%-100%). La MOP terrestre rencontrée dans les estuaires fluviaux est principalement 'labile', sauf pour la Garonne, la Dordogne ainsi que le Porge, dont la MOP terrestre est majoritairement réfractaire. La MOP de la Garonne et de la Dordogne est par ailleurs composée partiellement de matériel d'origine anthropique. Il est à rappeler que la Garonne et la Dordogne, ont été échantillonnées dans la partie de l'estuaire fluvial soumis à l'influence de la marée dynamique, (influence du bouchon vaseux), tandis que les autres estuaires ont été étudiés en limite amont de cette zone.

Cette dominance du matériel terrestre avec cependant une contribution importante du phytoplancton dans certains estuaires à déjà été reportée dans des travaux ultérieurs.

Pour la Loire la contribution phytoplanctonique a été estimée à 50% du COP total (Etcheber *et al.*, 2007). Cette étude porte néanmoins sur la partie plus aval de l'estuaire, dans la zone du maximum de turbidité. Pour la Garonne ces mêmes auteurs montrent que le sol et la litière représente 90% de la MOP totale. En limite amont de la marée dynamique, la part terrigène (sol+litière) est de 92% contre 8% phytoplanctonique (Veyssy *et al.*, 1999). Pour l'estuaire fluvial de l'Escaut. Hellings *et al.*, (1999) ont estimé une contribution phytoplanctonique comprise entre 17 et 65%.

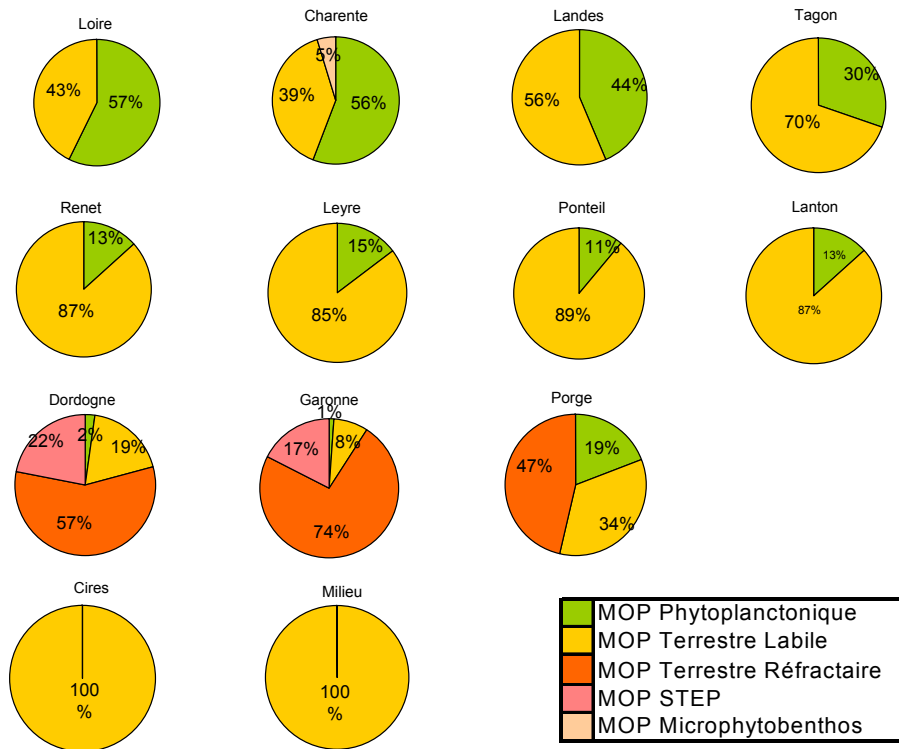


Figure 4: Contribution relative moyenne (données intégrées sur l'année) des sources de matière organique particulaire dans les estuaires fluviaux.

La variabilité temporelle de la composition de la MOP est très variable selon les estuaires : elle peut être nulle (e.g. Cires et Milieu), erratique (e.g. Garonne), d'une saisonnalité faible (e.g. Leyre) ou très marquée (e.g. Loire) (Figures 5 et Annexe 4).

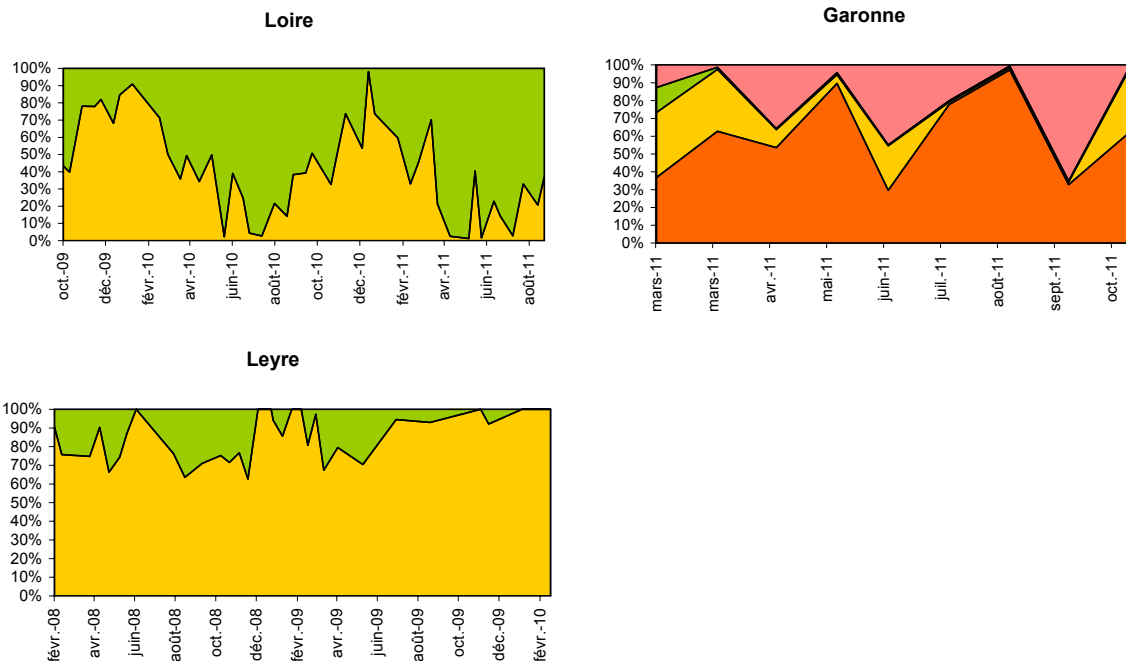


Figure 5: Représentation de l'évolution temporelle de la composition de la MOP en amont de la marée dynamique pour les estuaires de la Loire, Garonne et Leyre.

Comme l'avait déjà noté Relexans *et al* (1986) dans l'estuaire fluvial de la Loire la production autotrophe est dépendante des saisons. Ainsi, la MOP d'origine terrestre domine très largement en hiver et la MOP phytoplanctonique en périodes printanières et estivales. Cette saisonnalité est également visible pour les estuaires à plus faible contribution phytoplanctonique (*e.g.* Leyre). Toutefois elle est très peu marquée. Ces systèmes de petite taille semblent avoir une dynamique saisonnière perturbée par des processus à court terme (*e.g.* remise en suspension ; Canton *et al.*, 2012). Ceux-ci peuvent faire varier de manière rapide les compositions de la MOP comme pour la Leyre début juin 2008 où une augmentation de la contribution de la MOP terrestre est synchronisée avec une augmentation de la concentration en MES et, dans une moindre mesure, du débit. Dans la Garonne (et la Dordogne) c'est le matériel terrestre réfractaire qui domine. Il peut représenter jusqu'à environ 100% de la composition (*e.g.* en septembre). Ce n'est qu'au début du printemps que la production phytoplanctonique a lieu. Ce matériel ne représente néanmoins que 10% de la MOP total.

2) Estuaires halins

Les compositions moyennes de la MOP intégrées le long du gradient salin montrent deux tendances distinctes : d'une part les estuaires turbides de la Gironde et de la Charente qui présentent une composition majoritairement terrestre et relativement constante quelle que soit la saison, et d'autre part les estuaires de la Seine, de l'Aulne et de l'Elorn dont les compositions varient au cours de l'année avec une production phytoplanctonique plus importante pour les petits estuaires (*e.g.* Aulne, Elorn) que pour les grands (*e.g.* Seine).

La MOP de la Gironde est composée essentiellement de matériel réfractaire (91%). L'importance de cette composante a été reportée dans de nombreuses études (Fontugne et Jouneau, 1987 ; Etcheber *et al.*, 2007 ; Savoye *et al.*, 2012). La MOP de la Charente est dominée par le matériel terrestre labile ($51 \pm 10\%$) avec une part réfractaire de $36 \pm 6\%$. La production autotrophe est soutenue par le microphytobenthos qui peut représenter 17% de la MOP au printemps.

Pour les estuaires de la Seine, de l'Elorn et de l'Aulne, les compositions moyennes de la MOP moyenne varient de manière saisonnière (*e.g.* la contribution de la MOP terrestre réfractaire varie de 92% en hiver à moins de 1% en été dans l'Aulne). En hiver malgré une très importante part de matériel réfractaire pour l'Elorn (92%) et l'Aulne (64%), l'Elorn semble plus sous influence phytoplanctonique que l'Aulne (28% et 3% respectivement).

Au printemps la moitié de la MOP est issue du matériel phytoplanctonique pour l'Aulne et l'Elorn (50 et 51% respectivement) alors que pour la Seine la production autotrophe ne représente que 27% de la MOP. De plus dans l'Aulne le phytoplancton se développe en amont (37% de phytoplancton d'eau douce) alors qu'il se développe en aval dans la Seine et l'Elorn (17% et 47%).

L'été, la MOP est composée de manière exclusive de phytoplancton estuarien (qui se développe le long du gradient salin estuarien) dans l'Aulne et l'Elorn. La Seine présente cependant une part moins importante de phytoplancton avec 59% contre 41% de terrestre. Le phytoplancton s'y développe en amont (45% de phytoplancton d'eau douce).

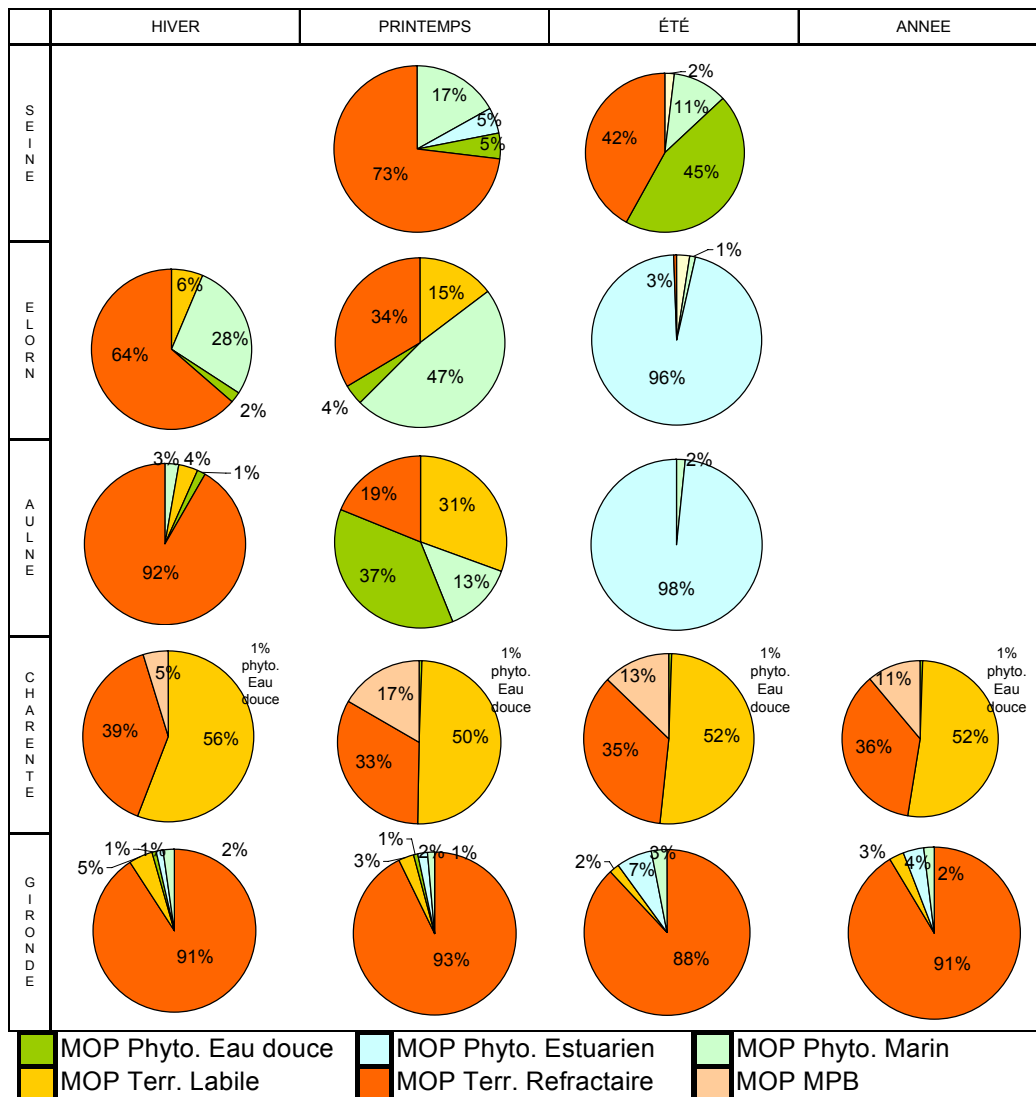


Figure 6: Contribution relative moyenne des sources de matière organique particulaire intégrées le long du gradient salin. Les valeurs saisonnières correspondent à un gradient salin unique pour la Seine (juin et août), l’Aulne (février, avril et août) et l’Elorn (février, avril et août) mais une moyenne de trois gradients (janvier-mars, avril-juin, juillet-septembre) pour la Gironde et la Charente. Pour ces deux derniers estuaires, les valeurs annuelles correspondent aux valeurs mensuelles intégrées dans le temps. Les résultats de Gironde sont ceux issus de Savoye et al. (2012), présentés ici à titre de comparaison.

C) Forçages environnementaux à l’échelle mono-systémique

Afin de comprendre la variabilité spatio-temporelle de la composition de la MOP dans les estuaires, les contributions des différentes sources de MOP ont été mises en relation avec des paramètres environnementaux dans une analyse en composantes principales (ACP). Ces paramètres sont considérés comme des indicateurs de processus qui peuvent influencer la composition de la MOP. La température est un indicateur de la saisonnalité ou, comme la salinité, du mélange des masses d’eau continentales et marines. Les débits sont indicateurs des apports continentaux. La concentration en MES peut indiquer 1) l’importance des processus d’hydrodynamique sédimentaire (remise en suspension, constitution/présence du bouchon vaseux, apport du matériel amont) ; dans ce cas elle est associée à des COP/Chla élevés et

éventuellement des débits élevés 2) une forte biomasse (et généralement forte production) phytoplanctonique, dans ce cas elle est associée à de faibles rapports COP/Chla.

1) Estuaires fluviaux

L'évolution temporelle de la composition de la MOP et des paramètres environnementaux est généralement très bien décrite par les deux premiers axes des ACP. Afin de simplifier les résultats, trois estuaires de compositions contrastées sont présentés ci-dessous (Figure 7). Les analyses correspondant aux autres estuaires sont reportées en Annexe 5. La Garonne présente une faible saisonnalité et une forte dominance de la MOP terrestre avec une quasi absence de MOP phytoplanctonique. La Loire avec une saisonnalité très marquée, montre une alternance entre une dominance de MOP phytoplanctoniques et terrestres. Enfin la Leyre est un estuaire de composition intermédiaire avec une faible saisonnalité, une forte dominance de la MOP terrestre pour une faible contribution de la MOP phytoplanctonique,

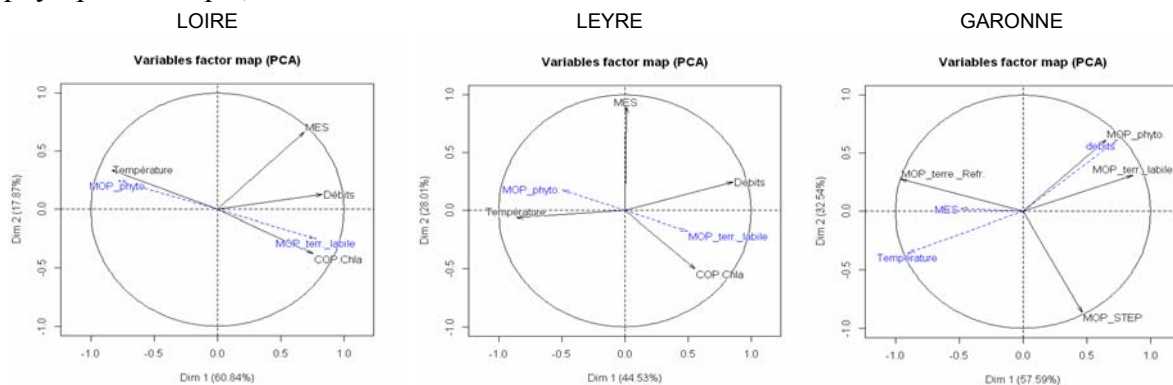


Figure 7: Résultat des analyses en composantes principales avec paramètres supplémentaires (en bleu) pour les estuaires fluviaux.

Pour les estuaires fluviaux dont la MOP est uniquement ou principalement issue deux sources (Loire, Charente et la plupart des tributaires du Bassin d'Arcachon) la dimension 1 indique la saisonnalité : la contribution du matériel phytoplanctonique apparaît principalement en été (température élevée et débits faibles) tandis que celle du matériel terrestre labile apparaît principalement lors des périodes de forts débits. Ces résultats mettent en évidence 1) l'importance de l'hydrodynamisme (apport terrestre par l'amont) et du contrôle de la production phytoplanctonique (température) comme forçage à la composition de la MOP et 2) que la production phytoplanctonique est autochtone (voir le scénario inverse ci-dessous). Le lien entre ces contributions et les concentrations en MES est faible, voir nul car soit les MES sont apportées de façon équivalente par les contributions des deux sources de MOP (e.g. Loire), soit leur saisonnalité est faible (e.g. Leyre). Dans ce dernier cas, ces contributions sont mal représentées sur les cercles de corrélation des ACP.

Pour les estuaires dont le nombre de source de MOP est plus important et dont les concentrations en MES sont très élevées (Garonne, Dordogne) le schéma saisonnier est très différent : les plus fortes contributions de la MOP phytoplanctonique apparaissent en même temps que les plus fortes contributions de la MOP terrestre labile quand les débits sont élevés (crues hivernales). Le phytoplancton n'est donc pas autochtone mais importé de l'amont. En période de faibles débits, ce matériel disparaît au profit du matériel terrestre réfractaire issu des processus d'hydrodynamisme sédimentaire (remise en suspension du sédiment, présence

du bouchon vaseux). La contribution de la MOP anthropique n'est pas corrélée aux autres contributions, illustrant ainsi sa faible saisonnalité.

2) Estuaires halins

L'influence du gradient halin (Figure 8) est très importante sur la composition de la MOP pour tous les estuaires (même si pas toujours visible à toutes les saisons étudiées) hormis pour la Charente où le mélange des masses d'eau semble moins influent, ce qui traduit une stabilité spatiale de la composition de la MOP. Cet estuaire se distingue aussi des autres en raison du faible lien qu'il existe entre les différentes composantes de la matière organique et une répartition de ces composantes stable au cours des saisons. Ceci met en évidence une stabilité temporelle, Il existe cependant un lien entre le microphytobenthos et le matériel réfractaire en printemps/été en raison du phénomène de remise en suspension qui alimente le maximum de turbidité.

Pour tous les autres estuaires le phytoplancton marin et estuarien se développe le long du gradient salin alors que le matériel terrestre réfractaire (associé à de forts COP/Chla) constitué de matières en suspension (forte corrélation avec les MES) peut s'accumuler en amont (*e.g.* Seine au printemps) ou en aval (*e.g.* Elorn au printemps). Le matériel terrigène labile et phytoplanctonique d'eau douce peut être apporté de l'amont lors des crues en hiver (*e.g.* Gironde) et au printemps (*e.g.* Elorn). Il peut aussi provenir d'apports latéraux directs dans la partie aval de l'estuaire comme c'est le cas en été pour la Gironde (corrélation avec le phytoplancton estuarien) et dans l'Aulne au printemps. Cette contribution en raison des faibles débits peut devenir importante.

Pour la Gironde (toute l'année) et les autres estuaires en situations hivernales (*e.g.* l'Aulne), le matériel réfractaire se retrouve en opposition face au matériel phytoplanctonique et terrigène labile traduisant ainsi l'importance de ce matériel réfractaire associé aux fortes turbidités dans la dynamique de la MOP.

Pour les estuaires de la Seine de l'Aulne et de l'Elorn en situation estivales et printanières la contribution du phytoplancton estuarien ou marin augmente le long du gradient de salinité tandis que celle du phytoplancton d'eau douce et de la MOP labile diminue.

En résumé, trois typologies existent en fonction des estuaires et/ ou saisons: (1) les estuaires turbides stables (spatialement et temporellement) contrôlés par les phénomènes hydrosédimentaires de remise en suspension (*e.g.* Charente) (2) les estuaires contrôlés par l'accumulation d'un matériel terrestre qui peut être réfractaire (*e.g.* Gironde) ou labile en provenance de l'amont (situation hivernale dans l'Aulne et l'Elorn) et enfin (3) les estuaires peu turbides contrôlés par les apports terrigènes labile et la biomasse phytoplanctonique d'eau douce en amont et estuarienne et marine en aval (*e.g.* Seine Aulne Elorn printemps/été).

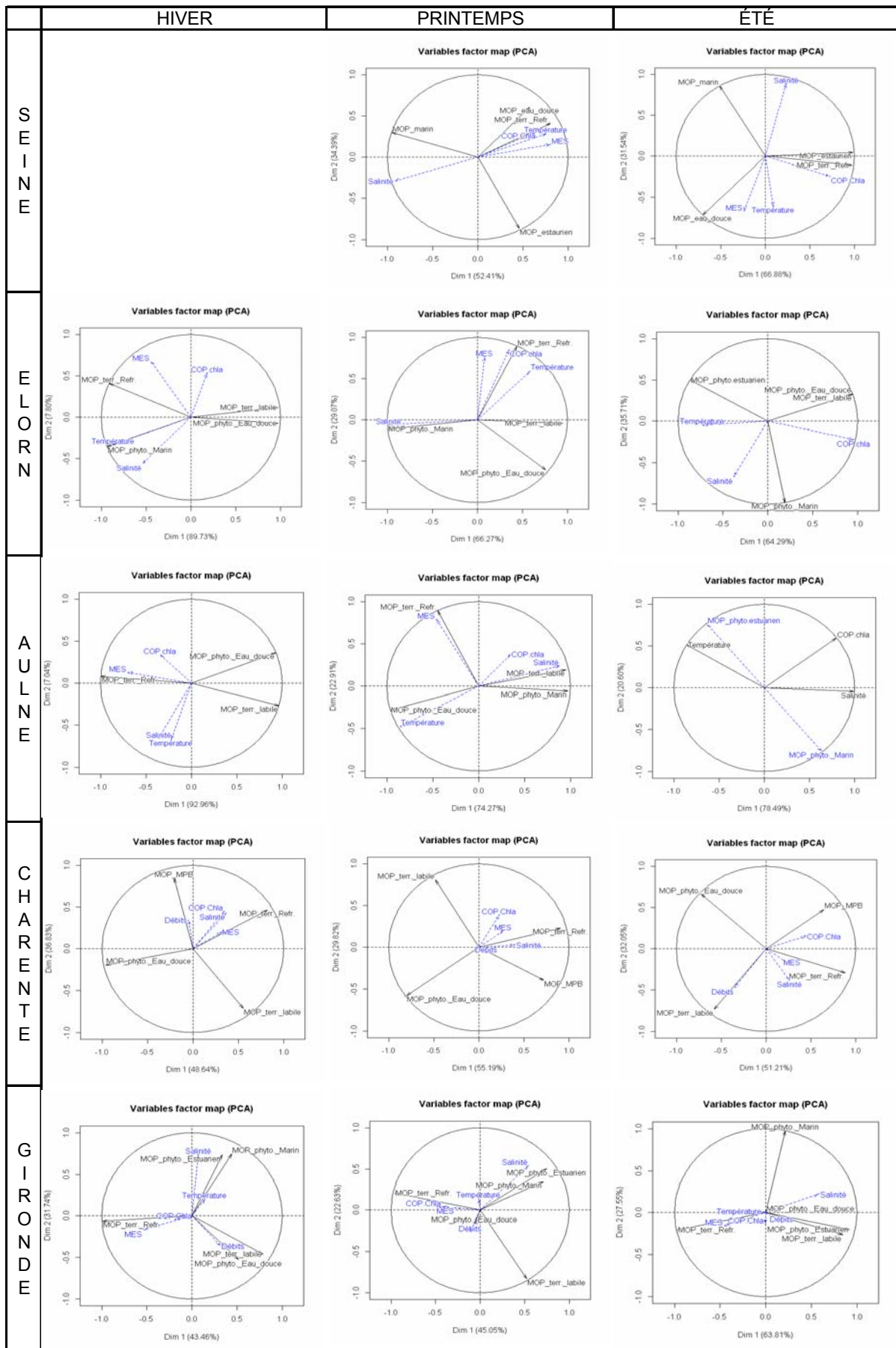


Figure 8: Résultat des analyses en composantes principales avec paramètres supplémentaires (en bleu) pour les estuaires halins.

Peu d'études se sont penchées sur les facteurs pouvant influencer la composition de la MOP en zone estuarienne sur un cycle saisonnier et/ou selon un gradient halin. Cependant Goñi *et al.*, (2009) ont montré que dans le maximum de turbidité de l'estuaire de Winyah (USA), les facteurs physiques tel que les débits et la force/direction des vents influent l'hydrodynamique sédimentaire et par conséquent la composition de la matière organique particulaire. De même Sato *et al.*, (2006) dans l'estuaire hypertrophique de Sumida (baie de Tokyo) ont également montrés que le transport du matériel organique particulaire terrestre est fortement influencé par les débits.

D) Dynamique de la composition de la MOP à l'échelle multi-systémique

Afin d'investiguer la dynamique spatiale (*i.e.* inter-estuaiers) de la composition de la MOP et de mettre en évidence les paramètres forçants, une ACP faisant intervenir la contribution moyenne annuelle des sources et les moyennes annuelles de variables environnementales à été réalisée (Figure 9).

Considérant ces résultats deux gradients se dessinent : un gradient de MOP terrigène réfractaire (axe 1) avec la Garonne et la Dordogne *versus* les autres estuaiers et le Porge en situation intermédiaire, et un gradient MOP microalgal (phytoplancton en Loire, microphytobenthos en Charente) *versus* MOP terrigène labile (*e.g.* Cirés et Milieu). Cette analyse illustre bien la typologie des différents estuaiers fluviaux étudiés.

A l'échelle inter-estuaire, les concentrations en MES et les processus associés (formation/présence du bouchon vaseux, en particulier) déterminent l'importance relative de la MOP terrestre réfractaire, la température moyenne semble avoir une influence sur la contribution relative des microalgues (phytoplancton et microphytobenthos) et la latitude sur celle de la MOP terrestre labile. Le lien entre ces deux derniers paramètres pourrait être dû à la nature des sols (podzoliques riches en matière organique) des tributaires du bassin d'Arcachon (estuaiers les plus au sud) qui représentent plus de la moitié des systèmes étudiés. Les débits, qui ont une forte influence sur les variations saisonnières de composition de la MOP (III.C.1) n'ont pas d'influence majeure sur la variation inter-estuaire des contributions moyennes annuelles. Enfin, il existe de nombreux facteurs non considérés ici tels que la nature et l'occupation des sols des bassins versant, la géomorphologie des estuaiers, l'activité anthropique *etc.*, qui agissent à une échelle plus globale et qui pourrait avoir une influence sur ces variations inter-estuaiers.

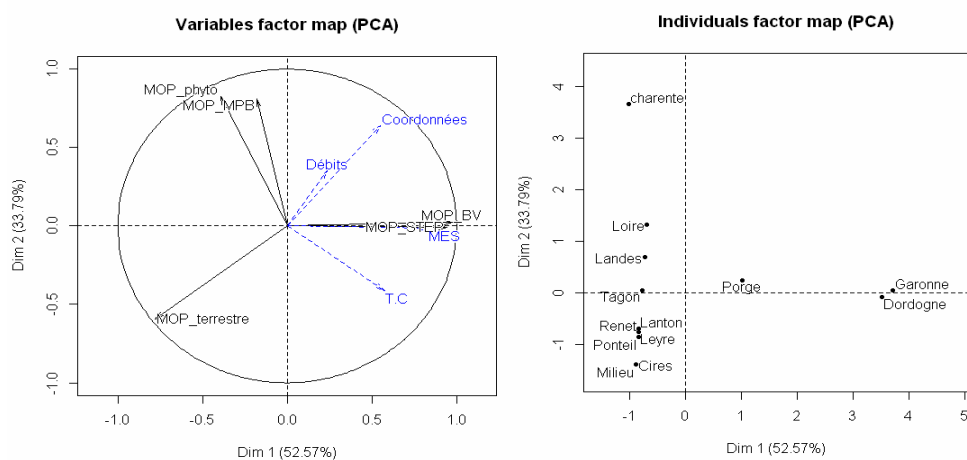


Figure 9: Résultat des analyses en composantes principales avec paramètres supplémentaires (en bleu) pour les estuaiers fluviaux. A droite les facteurs à gauche les différents estuaiers.

Conclusion

Le but de ce travail a été de quantifier les contributions relatives des différentes sources de MOP à la MOP estuarienne dans un large éventail de systèmes estuariens ainsi que de mettre en évidence les forçages environnementaux qui peuvent expliquer les variations spatio-temporelles de ces contributions. Ceci a nécessité préalablement de déterminer les sources potentielles et leurs signatures isotopiques et élémentaires dans différents systèmes fluvio-estuariens.

L'approche isotopique et élémentaire, en association avec d'autres paramètres descripteurs de la matière particulaire (concentration en MES, COP, chlorophylle a, rapport COP/chla), a permis 1) d'identifier les principales sources contribuant à la composition de la MOP (matériel terrestre 'labile' et réfractaire, phytoplancton, microphytobenthos, MOP anthropique) 2) d'en identifier les signatures et 3) d'en quantifier les contributions. Que ce soit dans la partie fluviale ou dans la partie haline, les contributeurs majeurs sont le matériel terrestre (labile et réfractaire) et le phytoplancton (principalement d'eau douce et estuarien). Selon les sites d'étude, les contributions relatives des différentes sources et leur saisonnalité peuvent être très variables.

En effet, deux grandes typologies d'estuaires se démarquent selon la dynamique de la composition de la MOP :

Un premier type d'estuaires présente une saisonnalité très marquée. Leur MOP est dominée par le matériel terrigène issu du sol et de la litière en hiver et par le matériel phytoplanctonique en été. C'est par exemple le cas pour l'estuaire fluvial de la Loire et des estuaires halins de l'Aulne, de l'Elorn et de la Seine.

Un deuxième type d'estuaires présente une faible saisonnalité. Leur MOP est dominée par le matériel terrigène réfractaire (estuaires turbides tels que les estuaires girondins) et/ou labile (la Charente et les estuaires peu turbides du bassin d'Arcachon).

Pour le premier type d'estuaire les forçages associés sont principalement dépendant des températures (saisonnalité, production primaire) et des débits (apport de matériel terrestre labile de l'amont) pour la partie fluviale (*e.g* Loire), auxquels s'ajoutent le mélange des masses d'eaux (salinité) pour la partie haline (*e.g* la Seine, l'Aulne, l'Elorn).

Pour les estuaires turbides du deuxième type, l'hydrodynamique et l'hydrodynamique sédimentaire (formation du bouchon vaseux, débits) jouent un rôle forçant crucial. Toutefois, d'autres facteurs tels que la nature et l'occupation des sols des bassins versant ou la géomorphologie des estuaires pourraient également expliquer ces variations de la composition de la MOP.

Cette étude, inédite dans la littérature scientifique, est très novatrice de part 1) son empreinte spatiale (16 estuaires étudiés), 2) la détermination des signatures isotopiques des sources (en particulier du phytoplancton), 3) l'étude des forçages environnementaux à la composition de la MOP, en particulier à l'échelle multi-systèmes.

Les difficultés principales rencontrées ont été dues 1) à la détermination des signatures des différentes sources — la non prise en compte de certaines sources, l'incertitude associées à chaque source, la variabilité des signatures du phytoplancton peut amener des incertitudes importantes sur l'estimation des compositions relatives — et 2) certains forçages ne sont pas pris en compte car difficiles à appréhender (nature et utilisation des sols, anthropisation, morphologie de l'estuaire..). Cependant malgré ces difficultés cette étude quantitative a permis de mettre en évidence une typologie d'estuaires, basée sur la dynamique de la composition de la MOP.

Bibliographie

- Abril, G., M. Nogueira, H. Etcheber, G. Cabecadas, E.Lemaire & M. J. Brogueira, 2002. Behaviour of Organic Carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54: 241–262.
- Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpre, C., 1980. Effect of tide mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.*,
- Billen G., Cauwet, G., Dessery, S., Meybeck, M., Somville, M., 1986. Origines et comportements du carbone organique dans l'estuaire de la Loire. *Rap. P.-v. Réun. Cons. int. Explor. Mer.*, 186, 375-391.
- Berto, D. ; Rampazzo, F. ; Noventa, S. ; Cacciatore, F. ; Gabellini, M. ; Bernardi Aubry, F. ; Girolimetto, A. ; Boscolo Brusà, R., 2013. Stable carbon and nitrogen isotope ratios as tools to evaluate the nature of particulate organic matter in the Venice lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 135: 66–76.
- Canton M., 2009. Dynamique des éléments biogènes dans le continuum fluvio-étuarien de la zone hydrologique d'influence du bassin d'Arcachon. Thèse, Université Bordeaux 1.
- Canton, M., Anschutz, P., Poirier, D., Chassagne, R., Deborde, J., Savoye, N., 2012. The buffering capacity of a small estuary on nutrient fluxes originating from its catchment (Leyre estuary, SW France) *Source of the Document Estuarine, Coastal and Shelf Science* 99, pp. 171-181
- Chanton, J.P. and Lewis, F.G., 1999. Plankton and dissolved inorganic carbon isotopic composition in a river-dominated estuary: Apalachicola Bay, Florida. *Estuaries*, **22(3A)**, 575-583.
- Cifuentes, L.A., Sharp, J.H., Fogel, M.L., 1988. Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnology and Oceanography* 35 1102-1115.
- 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, 1e15.
- Dubois S., 2012. Origine, qualité et devenir dans le réseau trophique de la matière organique particulaire d'un écosystème littoral : le Bassin d'Arcachon Thèse, Université Bordeaux 1.
- 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, pp. 64-73
- 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, 245e259.

- Fontugne, M.R., 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.
- Fry, B., 1996. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ fractionation by marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series*. 134,283-294.
- Goñi, 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, 683-700
- Goñi, M.A., Voulgaris, G., Kim, Y.H., 2009. Composition and fluxes of particulate organic matter in a temperate estuary (Winyah Bay, South Carolina, USA) under contrasting physical forcings. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 85, 273-291.
- Hellings, L.; Dehairs, F.A.; Tackx, M.; Keppens, E.; Baeyens, W.F.J., 1999. Origin *and* fate of organic carbon in the freshwater part of the Scheldt Estuary *as* traced *by* stable carbon isotope composition. *Biogeochemistry* 47: 167-186;
- Herman, P.M.J., Heip, C.H.R., 1999. Biogeochemistry of the MAXimum TURbidity Zone of Estuaries (MATURE): Some conclusions. *Journal of Marine Systems* 22 (2-3), pp. 89-104
- Higuera, M., Kerhervé, P., Sanchez-Vidal, A., Calafat, A., Ludwig, W., Verdoit-Jarraya, M., Heussner, S., Canals, M., 2014. *Biogeosciences* 11 (1), pp. 157-172
- Irigoien, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (France). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 44, 507-517
- Middelburg, J.J., Herman, P.M.J., 2007. Organic matter processing in tidal estuaries. *Marine Chemistry* 106, 127-147.
- Modéran, J., Bouvais, P., David, V., Le Noc, S., 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*
- Modéran, J., David, V., Bouvais, P., Richard, P., Fichet, D.; 2012. Organic matter exploitation in a highly turbid environment: Planktonic food web in the Charente estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*
- O'Leary, M.H., 1981. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20 (4), 553-567.
- Perdue, E.M., Koprivnjak, J.-F., 2007. Using the C/N ratio to estimate terrigenous inputs of organic matter to aquatic environments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73, 65-72
- Relexans, J. C. & H. Etcheber, 1986. Characterization of the particulate organic matter in the Loire Estuary (France) using ETS activity measurements. *Organic Geochemistry* 10: 743-749.

Riera, P. and Richard, P., 1996. Isotopic determination of food sources of *Crassostrea gigas* along a trophic gradient in the estuarine bay of Marennes-Oléron. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **42**, 347-360.

Richard, P., Riera, P., Galois, R., 1997. Temporal variations in the chemical and carbon isotope compositions of marine and terrestrial organic inputs in the bay of Marennes Oléron, France. *Journal of Coastal Research*, 13(3):879-899

Sato, T., Miyajima, T., Ogawa, T., Umezawa, Y., Koike, I., 2006. Temporal variability of stable carbon and nitrogen isotopic composition of size-fractionated particulate organic matter in the hypertrophic Sumida River Estuary of Tokyo Bay, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 68, 245e258.

Savoye, N., Aminot, A., Tréguer, P., Fontugne, M., Naudet, 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., 2012. Origin and composition of particulate organic matter in a macrotidal turbid estuary: The Gironde Estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* Volume 108, 1 August, Pages 16-28

Tan, F.C. and Strain, P.M., 1983. Source, sinks and distribution of organic carbon in the St Lawrence estuary, Canada. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **47**, 125-132.

Savoye N., 2001. Origine et transfert de la matière organique particulaire dans les écosystèmes littoraux macrotidaux. Thèse. Université de Bretagne Occidentale.

Uncles, R. J., J. A. Stephens & R. E. Smith, 2002. The dependence of estuarine turbidity on tidal intrusion length, tidal range and residence time. *Continental Shelf Research* 22: 1835–1856.

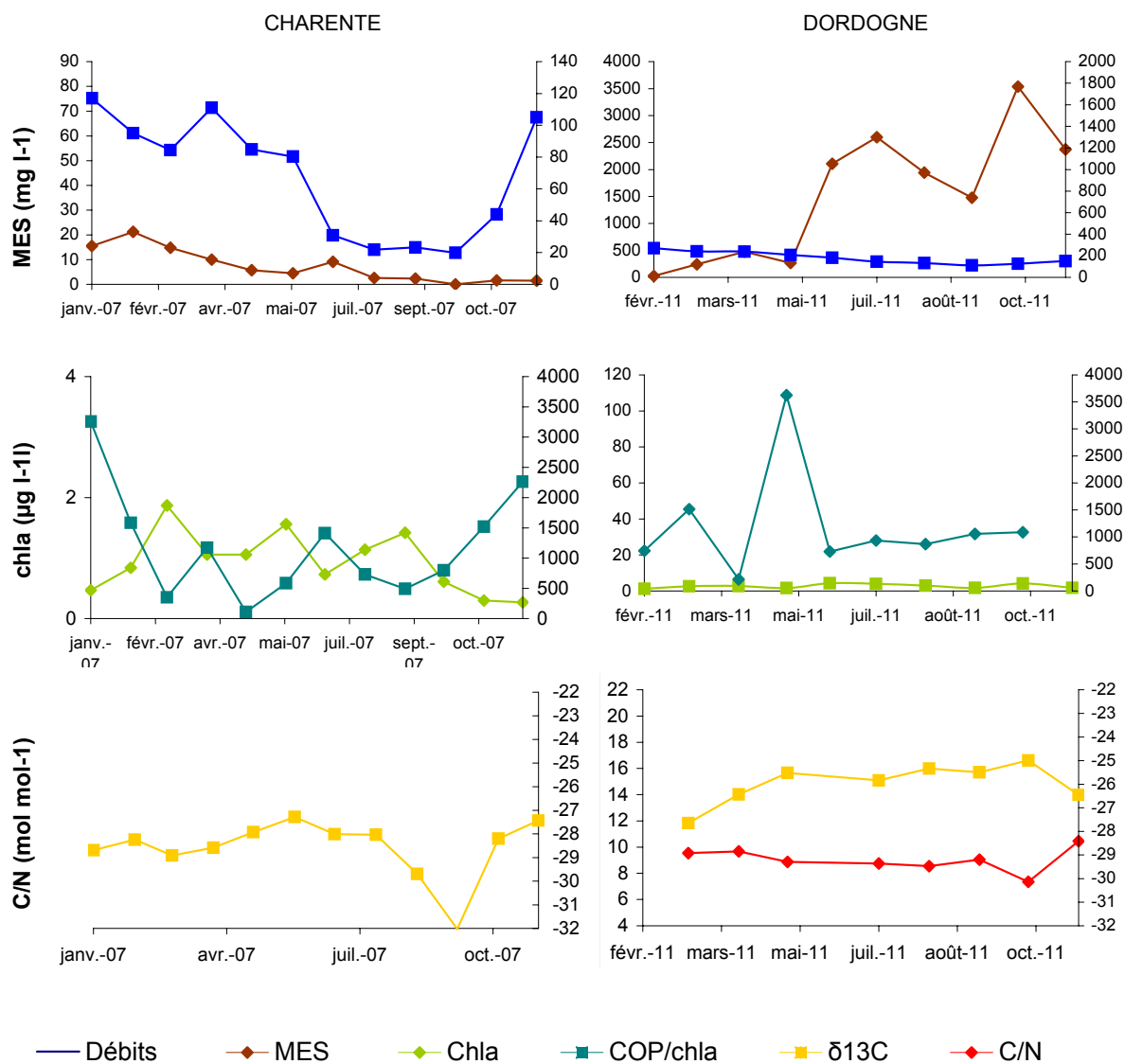
Veyssy, E., Etcheber, H., Lin, R.G., Buat-Menard, P., Maneux, E., 1999. Seasonal variation and origin of particulate organic carbon in the lower Garonne River at La Reole (southwestern France). *Hydrobiologia* 391, 113e126.

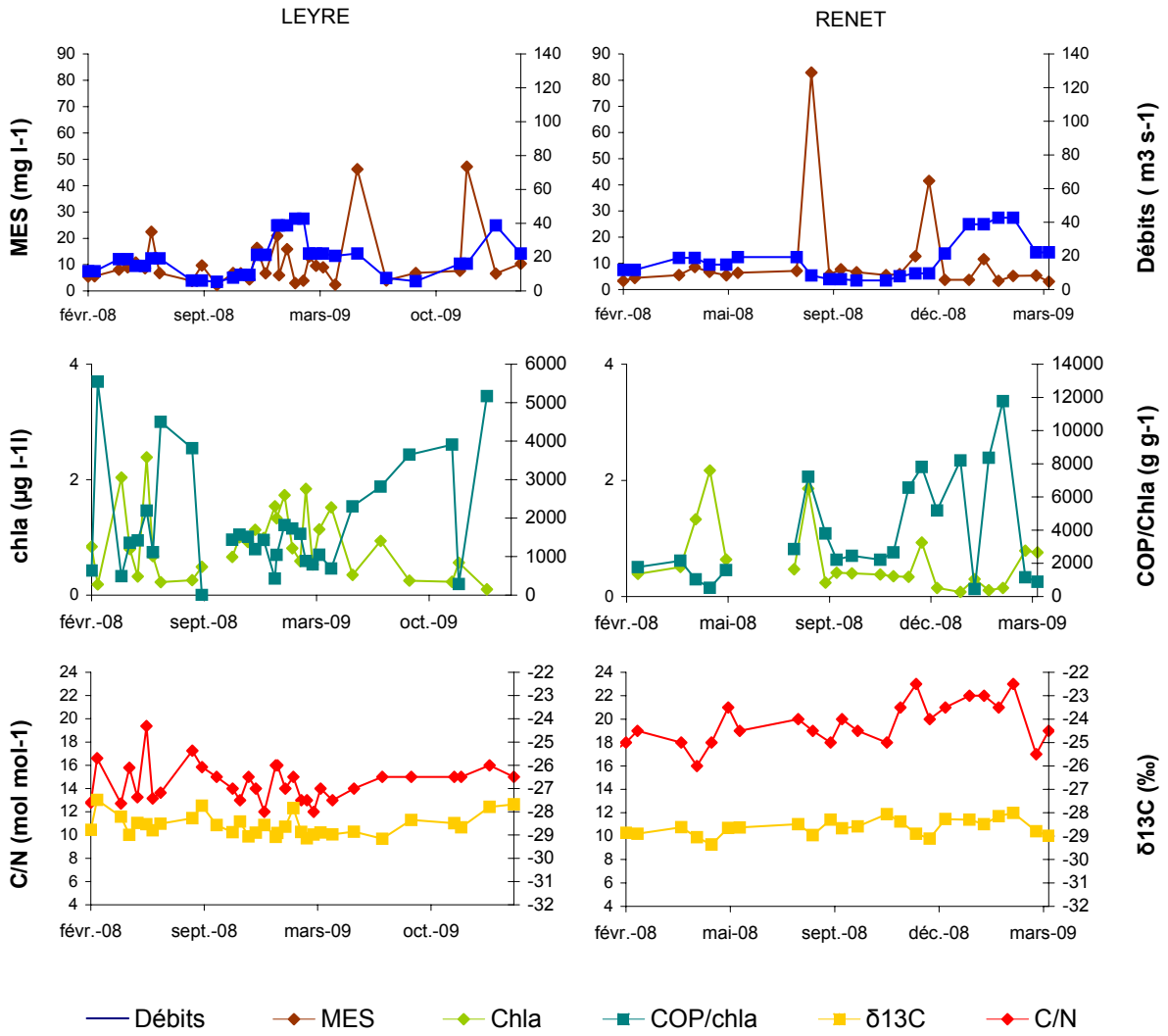
Vuorio, K., Meili, M., Sarvala, J., 2006. Taxon-specific variation in the stable isotopic signatures ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of lake phytoplankton. *Freshwater Biology*

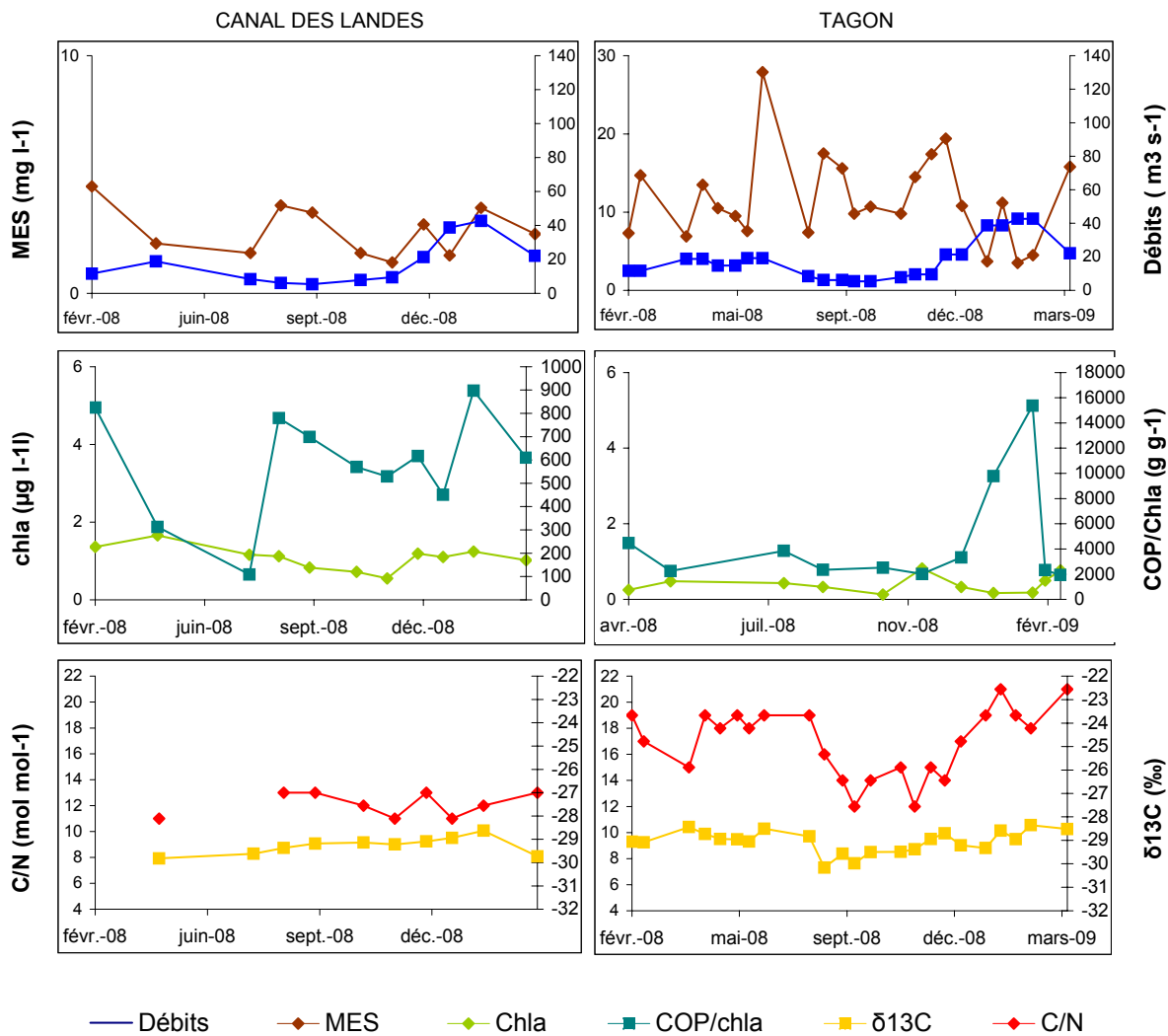
Wang,, Murtugudde, R., Hackert, E., Marañón, E., 2012. Phytoplankton carbon and chlorophyll distributions in the equatorial Pacific and Atlantic: A basin-scale comparative study. *Journal of Marine Systems* 109–110 (2013) 138–148

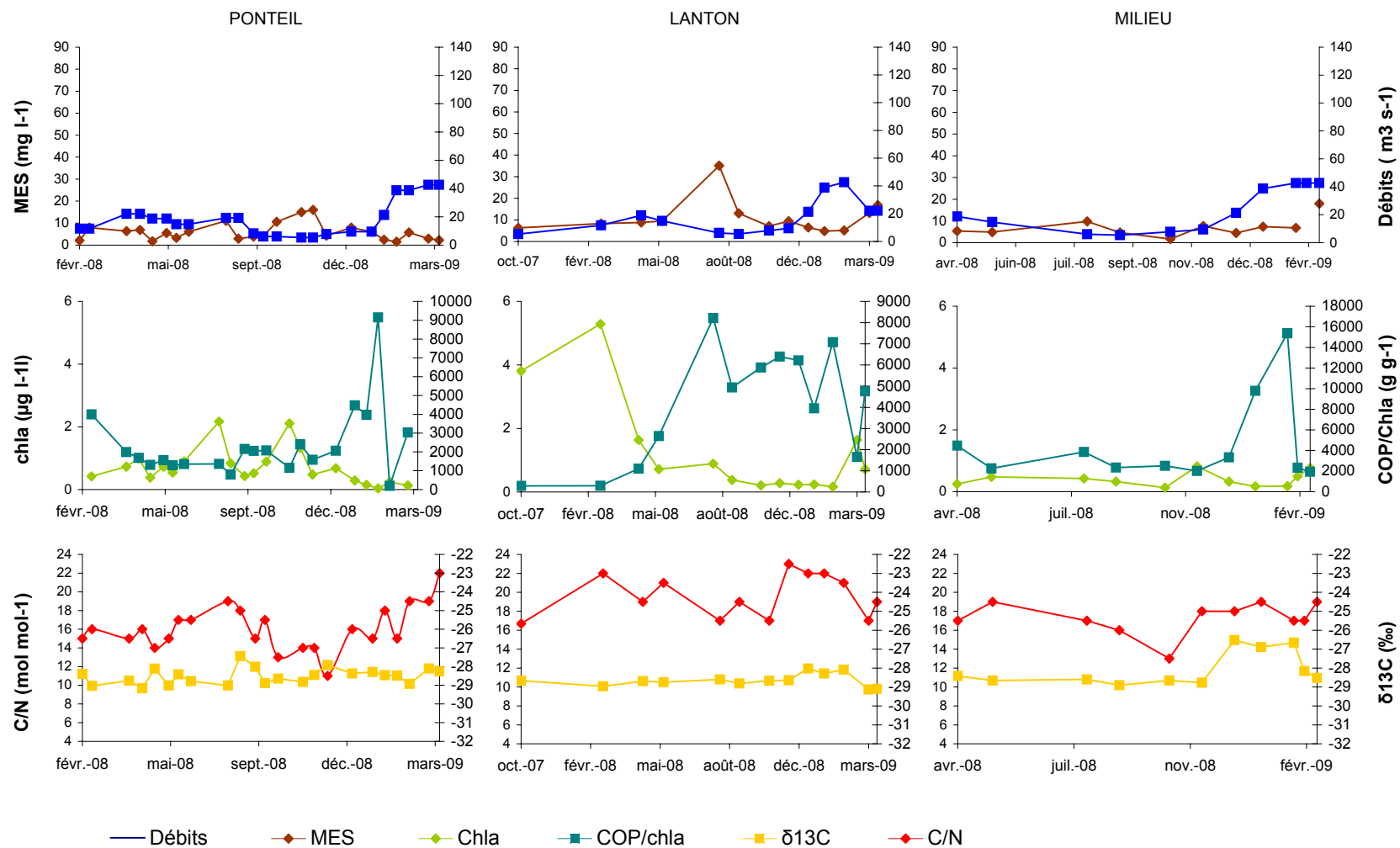
Annexes

ANNEXE 1 : variations temporelles des matières en suspension (MES), de la chlorophylle (Chl a), du rapport COP/ Chla, du rapport C/N et du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone organique particulaire pour les estuaires fluviaux de la Charente et la Dordogne. Renet , Leyre, Canal des Landes et de Tagon, Ponteil, Lanton , Milieu

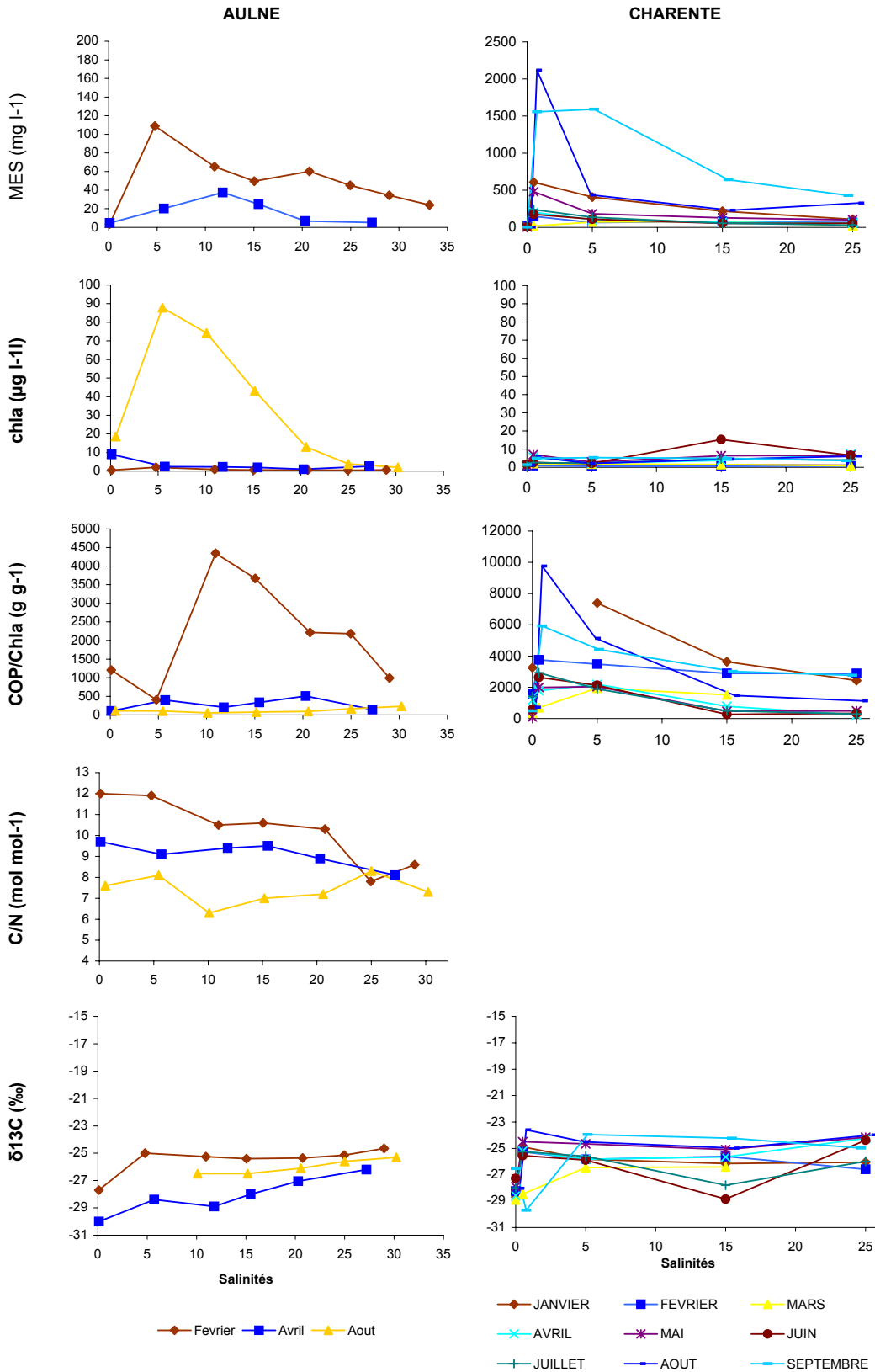




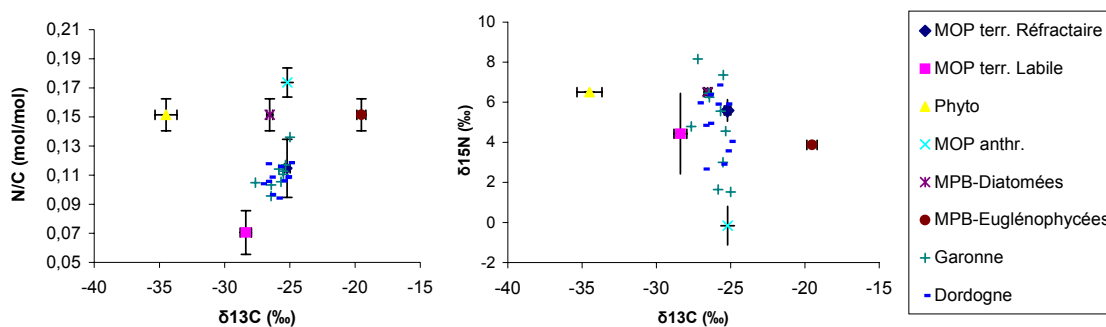




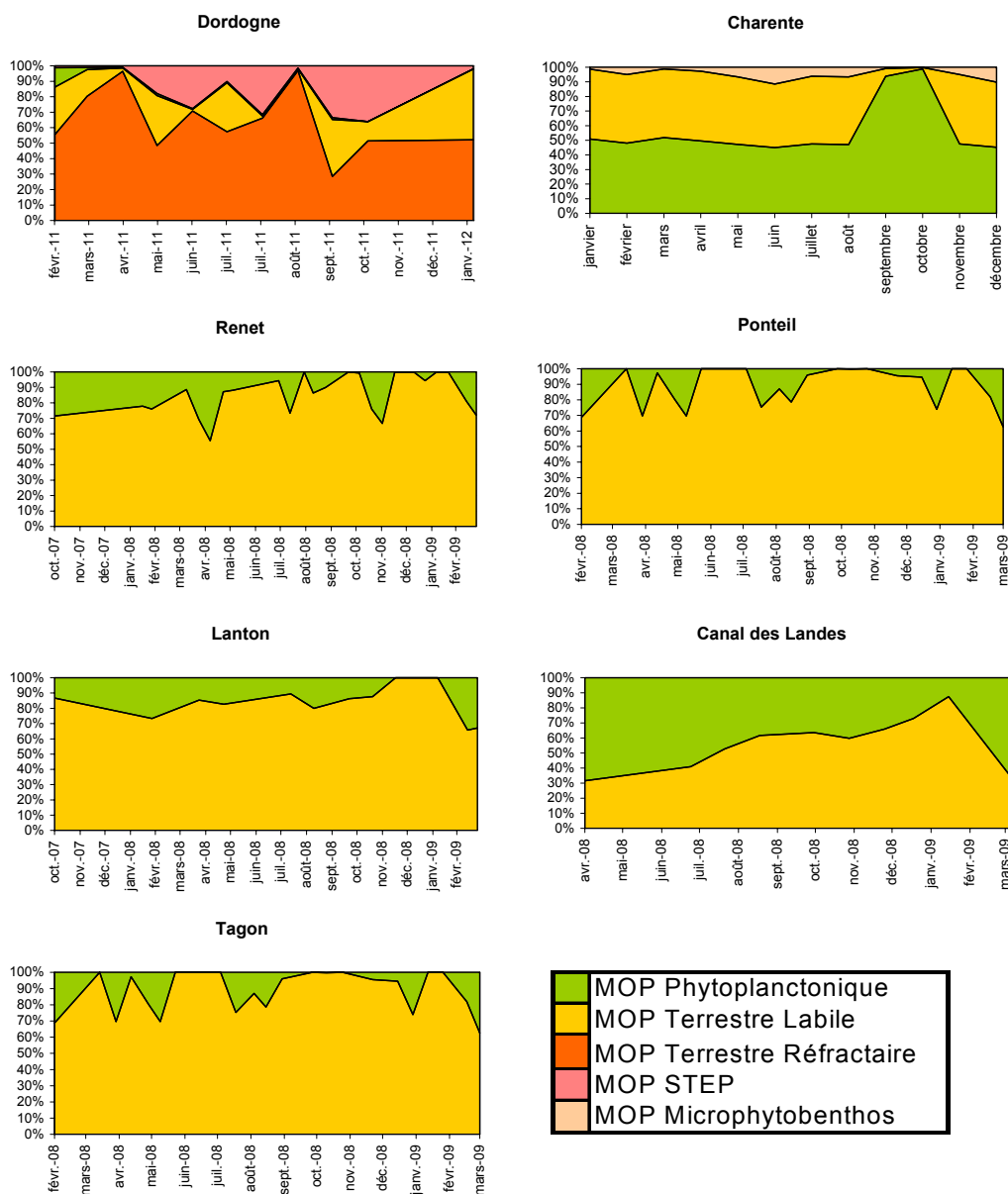
ANNEXE 2 : variations le long du gradient halin des matières en suspension (MES), de la chlorophylle (Chl a), du rapport COP/ Chla, du rapport C/N et du $\delta^{13}C$ du carbone organique particulaire pour les estuaires halins de l'Aulne et de la Charente.



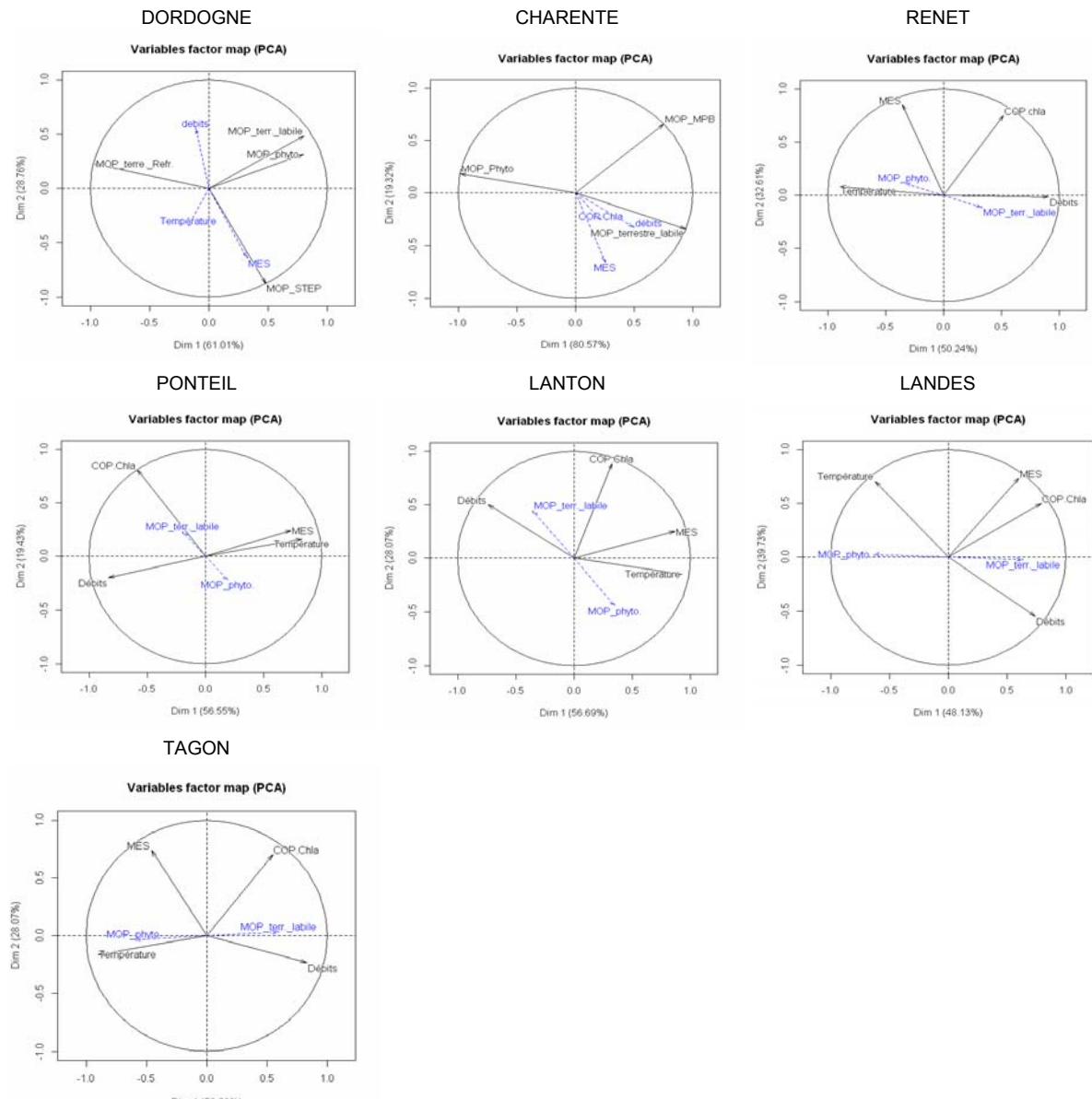
ANNEXE 3: Signature isotopique des six sources potentielles et des échantillons de matière organique particulière dans les estuaires fluviaux de la Garonne et de la Dordogne



ANNEXE 4 : Représentation de l'évolution temporelle de la composition de la MOP en amont de la marée dynamique.



ANNEXE 5: Résultat des analyses en composantes principales avec paramètres supplémentaires (en bleu) pour les estuaires fluviaux.



RESUME : La matière organique particulaire (MOP) estuarienne est un mélange hétérogène et complexe de matière autochtone et allochtone, d'origine aquatique et terrestre. Plusieurs facteurs environnementaux peuvent forcer sa composition (climat, processus hydrodynamiques et sédimentaires, etc.). Dans ce contexte de multiplicité des sources et de forçages associés, cette étude a pour objectif de quantifier les contributions relatives des différentes sources à la composition de la MOP et de mettre en évidence les forçages environnementaux pouvant expliquer les variations spatio-temporelles de ces compositions. Une approche isotopique et élémentaire a été développée et appliquée à de nombreux jeux de données concernant 16 estuaires (onze estuaires fluviaux et cinq estuaires halins) des façades Manche et Atlantique françaises.

Deux typologies d'estuaires majeures sont apparues : 1) des estuaires peu turbides à forte saisonnalité (MOP dominée alternativement par le phytoplancton en été et le matériel terrestre en hiver) et dont les forçages associés sont principalement liés à la température (saisonnalité, production primaire) et aux débits (apport de matériel terrestre de l'amont) pour la partie fluviale (e.g Loire), auxquels s'ajoutent le mélange des masses d'eaux pour la partie haline (e.g. Seine, Aulne, Elorn) ; 2) des estuaires à faible saisonnalité dont la MOP est très fortement dominée par le matériel terrigène réfractaire (e.g. estuaires turbides de la Gironde) et/ou labile (e.g. Charente, estuaires peu turbides du bassin d'Arcachon) et dont l'hydrodynamique et l'hydrodynamique sédimentaire (formation du bouchon vaseux, débits) jouent un rôle forçant crucial. D'autres facteurs (nature et occupation des sols des bassins versant, géomorphologie) pourraient également expliquer les variations des compositions annuelles moyennes à l'échelle inter-systèmes.

ABSTRACT : Particulate organic matter (POM) in estuary is a complex mix of both autochthonous and allochthonous material, originating from aquatic and terrestrial reservoirs. Several environmental conditions may impact on composition of particulate organic matter (climate, hydro-dynamic and sedimentary processes etc). In this context of multiple sources and associated forcings, and associated forcings, this study aims to quantify relative contribution of different sources to composition of POM, and highlight environmental forcings may force spatio-temporal variations of these compositions. An isotopic and elementary approach has been used with a database about 16 estuaries (eleven fluvial estuaries, five haline estuaries).

Major results highlight two estuaries types: 1) a very marked seasonality on less turbid estuaries (MOP dominated by phytoplankton in summer and terrestrial material in winter). Associated forcings are dependant on temperatures (seasonality, primary production) and river flow (contribution of terrestrial labile material upstream) for fluvial estuaries (e.g Loire), with in addition mixing of water masses (salinity) for haline estuaries (e.g la Seine, l'Aulne, l'Elorn).

2) estuaries with low seasonality Their particulate organic matter is dominated by refractory terrigenous material (Gironde turbid estuary) or/and labile (Charente and less turbid estuaries of Arcachon basin). Hydro-dynamic and sedimentary processes (formation of maximum turbidity zone, river flow) are the major environmental forcings to the composition of the POM. However, other factors (watersheds land cover, géomorphology) would explain annual variability of organic matter composition especially on a multi-systemic approach

MOTS CLEFS:

Matière organique particulaire, estuaire fluvial, estuaire halin, signature isotopique, approche écosystémique, forçages environnementaux

Annexe 15

Fougères Paul-Antoine.

Caractérisation de la matière organique dissoute des stations d'épuration de l'estuaire de la Gironde.

Rapport de stage de M1, Juin 2013



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

Année Universitaire 2012/2013

RAPPORT DE STAGE

FOUGERES Paul-Antoine
STAGE Master 1

**Caractérisation de la matière organique dissoute des stations
d'épuration de l'estuaire de la Gironde**

Stage effectué du 29/04 au 28/06

Maître de stage : Edith PARLANTI

Laboratoire d'accueil : EPOC-LPTC

Adresse : EPOC-LPTC Cours de la libération - 33400 Talence

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements à Edith Parlanti pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire EPOC-LPTC et de m'avoir fait confiance pour analyser les échantillons du projet ETIAGE. Mes remerciements vont aussi à Aurélie Lanoux qui m'a fourni les données dont j'avais besoin et répondu à mes questions.

Un grand merci à Yuzhe pour avoir partagé son expérience et m'avoir toujours apporté son aide précieuse avec les appareils récalcitrants. Merci à Marie-Ange pour son encadrement et cela toujours avec le sourire.

Merci à Betty, Marie, Sabrina et Thomas pour leurs gâteaux et crêpes qui ont illuminé mes journées pendant ce long mois de mai pluvieux. Une pensée pour les autres stagiaires et doctorant de l'étage, Mathilde, Jérôme, Florian et Thanh qui partageaient mes pauses et nos discussions parfois philosophiques, parfois pas.

Abréviations

ACP : Analyse en **C**omposantes **P**incipales

BIX : **B**iological **I**ndex (Indice biologique)

COD : Carbone **O**rganique **D**issous

CUB : Communauté **U**rbaine de **B**ordeaux

HIX : **H**umification **I**ndex (Indice d'humification)

MEE : **M**atrice d'**E**xcitation et d'**E**mission

EPOC : **E**nvironnements et **P**aléoenvironnements **O**céaniques et **C**ontinentaux

HAP : **H**ydrocarbure **A**romatique **P**olycyclique

INRA : **I**nstitut **N**ational de la **R**echerche **A**gronomique

IRSTEA : **I**nstitut national de **R**echerche en **S**ciences et **T**echnologies pour l'**E**nvironnement et l'**A**griculture

LPTC : **L**aboratoire de **P**hysico-**T**oxicochimie des systèmes naturels

PARAFAC : **P**ARAllel **F**ACTor analysis

STEP : **S**Tation d'**E**puration

UMR : **U**nité **M**ixte de **R**echerche

Sommaire

<u>1 Introduction</u>	1
<u>2 Matériel et méthodes</u>	2
2.1 La campagne ETIAGE	2
2.2 Les stations d'épuration	2
2.3 Plan du site et échantillonnage	3
2.4 Spectromètre UV	4
2.5 Spectrofluorimetre	4
2.6 Traitement PARAFAC sous MATLAB	6
<u>3 Résultats et discussion</u>	7
3.1 Analyse préliminaire par absorbance	7
3.2 Caractérisation par indices de fluorescence	7
3.3 Interprétation des résultats PARAFAC	8
<u>Conclusion et perspectives</u>	10
<u>Bibliographie</u>	11
<u>Annexes</u>	12

1 Introduction

L'estuaire de la Gironde joue un rôle écologique majeur en tant que nourricerie de nombreuses espèces qui sont aussi bien d'intérêt commercial que patrimonial. Il est lieu de reproduction d'espèces amphihalines migratrices, notamment l'anguille, le saumon et l'esturgeon (Cotten, 1996). L'estuaire couvre une superficie de 625 Km² ce qui en fait le plus grand d'Europe. Il est de type macrotidal, en effet son fort marnage est perceptible jusqu'à 150 km en amont. Il est donc important d'y surveiller la qualité de l'eau. La proximité de l'agglomération de Bordeaux qui rassemble plus de 700 000 personnes est préoccupante par les risques de pollution anthropique due au rejet de matière organique.

La matière organique est composée d'une fraction particulaire et d'une fraction dissoute. Elle est issue de l'excrétion ou de la décomposition d'organismes vivants. Un apport important de matière organique engendre des risques d'anoxie, causée par l'activité bactérienne qui consomme de l'oxygène pour dégrader ce matériel. Ce phénomène épisodique peut provoquer un blocage des migrations s'il persiste trop longtemps et se trouve amplifié en période de basses eaux ou d'étiage. Les produits pharmaceutiques, les pesticides, les HAP et les métaux sont des polluants préoccupants problématiques sur l'estuaire qui peuvent s'adsorber sur la matière organique dissoute (MOD), qui devient ainsi vecteur de pollution.

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) impose le retour à un bon état chimique et écologique des eaux du territoire de l'Union Européenne d'ici 2015. Afin de comprendre les mécanismes de transferts et d'accumulations des polluants, il est primordial de connaître le comportement de la matière organique en milieu aquatique. Ce rapport réalisé au sein de l'équipe LPTC de l'UMR EPOC s'inscrit dans le cadre des axes 1 et 2 du projet ETIAGE (**ET**ude **I**ntégrée de l'effet des **A**pports amont et locaux sur le fonctionnement de la **G**aronne **E**stuarienne) qui ont pour but de caractériser et d'étudier le devenir de la matière organique issue de la CUB au sein de l'estuaire de la Gironde. Pour cela, des échantillons de STEP et de la Garonne ont été analysés. Ces travaux s'appuient principalement sur la fluorimétrie 3D et l'analyse des données a été faite avec le traitement mathématique PARAFAC.

2 Matériel et méthodes

2.1 La campagne ETIAGE

Le projet ETIAGE a été mis en place pour répondre aux problématiques environnementales de la Garonne estuarienne. Divisé en 5 axes majeurs et mené sur 4 ans, il est né de la collaboration de l'Université Bordeaux 1, du CNRS et de l'IRSTEA.

Axe 1 : Caractérisation et rôle respectif des apports organiques amont et locaux sur l'oxygénation des eaux de la Garonne estuarienne.

Axe 2 : Caractérisation et flux des contaminants organiques (classiques et émergents) dans les eaux de la Garonne estuarienne.

Axe 3 : Etude des apports métalliques dans les eaux de la section garonnaise de l'estuaire de la Gironde.

Axe 4 : Approche de l'impact des conditions physico-chimiques affectant la masse d'eau estuarienne garonnaise sur les cortèges biologiques.

Axe 5 : Synthèses des pressions et des impacts caractérisant les eaux de la Garonne estuarienne. Recommandations de gestion.

2.2 Les stations d'épuration

Pour faire face aux règlementations environnementales l'agglomération bordelaise traite ses eaux usées aux moyens de 4 stations d'épuration dont les plus importantes sont les STEP de Louis Fargue et Clos de Hilde. La proportion de rejet d'origine industrielle est faible et représente environ 6 % du rejet total en équivalent habitant. Les stations sont exploitées par la Lyonnaise des Eaux, leur fonctionnement repose sur un double traitement physico-chimique et biologique. Les eaux brutes subissent en premier lieu un dégrillage fin (maille de 16 mm), où la majorité des déchets vont être retenus et envoyés en incinération, puis vient une étape de dessablage/dégraissage. Le sable décante alors que la graisse est mise en flottaison, favorisé par l'injection de microbulles d'air. S'en suit un tamisage (maille de 3 mm).

A ce moment les effluents subissent un traitement primaire physico-chimique de coagulation/floculation qui consiste en une injection de chlorure ferrique comme coagulant et de polymère pour la floculation. Les floccs sont décantés par l'action de la gravité et les eaux sont clarifiées via un système de grille lamellaire.

Vient ensuite un traitement secondaire biologique. Il est assuré par une biofiltration aérobie dans un biofor®, qui est un biolite qui permet la conservation des bactéries dans une structure microporeuse. Un biofilm se constitue et permet d'éliminer une grande partie de la pollution carbonée et une partie de la pollution azotée. Une partie du réseau est unitaire ce qui rend les stations sensibles aux fortes précipitations, de plus le traitement par biofiltration demande une attention particulière. (De jean, 2007)

Il faut noter que la Station Louis Fargue n'a possédé ce système d'épuration qu'à partir de janvier 2012, antérieurement elle fonctionnait avec un système secondaire de traitement biologique par boues activées.

2.3 Plan du site et échantillonnage

Les échantillons ont été collectés sur plusieurs sites et sur plusieurs périodes. La Garonne a été échantillonnée sur un transect au niveau du port autonome (figure 1). Les pr lvements ont été effectués au moyen d'une bouteille Niskin (Annexe 1)   1 mètre de la surface, 1 mètre du fond, au niveau de chaque rive et du milieu du fleuve et tout ceci à différentes périodes de la marée. Ils ont été effectués les 1,7 et 11 avril 2011 ce qui correspond respectivement aux périodes avant, pendant et après les travaux de rénovation sur la Station d'épuration Louis Fargue. D'autres échantillons proviennent des Station Louis Fargue et Clos de Hilde sur les années 2010, 2011 et 2012. Ces échantillons correspondent tous à la période estivale pour s'affranchir des nombreuses variables saisonnières tel que les précipitations, la composition des eaux brutes et la flore bactérienne présente. Ils ont été prélevés en plusieurs points, en entrée de STEP, après décantation puis en sortie de station (figure 2). Des mesures de carbone organique dissous (COD) ont préalablement été effectuées sur les pr lvements.



Figure 1 : Plan du site d'étude

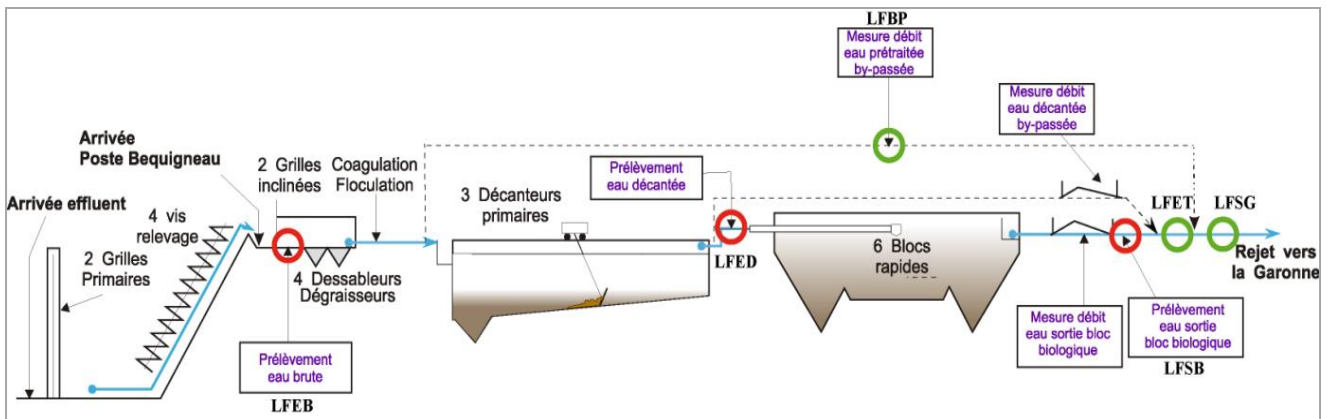


Figure 2 : Points de pr lvements sur la chaine de traitement de la station Louis Fargue

Les pr lvements ont été filtrés sur des filtres en fibre de verre Whatman® GF/F (porosité nominale 0,7 m) préalablement pyrolysés   500 C  pour supprimer toute trace de matière organique. La filtration s'effectue avec des unités de filtration NALGENE® sous vide, préalablement nettoyées au RBS® et testées par fluorescence. Les échantillons sont ensuite conditionnés dans des flacons de verre de 5 ml et stockés à l'abri de la lumière et au réfrigérateur à 4 C . Les

flacons ayant eux aussi subis un nettoyage rigoureux au détergent RBS[®] puis un test par fluorescence pour s'assurer de leur propreté.

2.4 Spectromètre UV

Appareil : Jasco V-560

Il est utilisé pour évaluer la concentration en MOD des échantillons afin de s'assurer d'être dans le domaine de linéarité entre intensité de fluorescence et concentration. On souhaite une absorbance inférieure à 0.1 pour le maximum d'absorbance situé à 250 nm. Si la matière organique analysée est en trop forte concentration, entre en jeu l'effet de filtre interne (Zhao, 2011). C'est-à-dire que les molécules, trop nombreuses obstruent une partie du signal lumineux de fluorescence, les mesures s'en trouveraient faussées. Les échantillons seront dilués en conséquence avec de l'eau ultrapure (milliQ[®], MilliporeTM) pour atteindre une absorbance inférieure à 0.1.

2.5 Spectrofluorimètre

Appareil : FL3-22 SPEX-JOBIN-YVON

Le spectrofluorimètre est utilisé pour la détermination des caractéristiques générales de la matière organique. La fluorimétrie a l'avantage d'être une méthode non destructive et sensible qui permet d'analyser des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/L}$. Le principe de cette méthode repose sur l'excitation radiative des liaisons π des molécules fluorophores. Une faible proportion de leurs électrons acquiert un état excité pendant un temps de l'ordre de la nanoseconde. Quand un électron excité retourne à son niveau d'énergie fondamental il en résulte l'émission d'un photon à une longueur d'onde égale ou supérieure à l'onde d'excitation, c'est le décalage de Stokes. Cette technique permet d'obtenir des spectres d'émission de fluorescence de la MOD en assemblant 17 spectres 2D mesurés tous les 10 nm. Le domaine d'excitation se situe de 250 à 410 nm et le signal d'émission des fluorophores qui en résulte de 260 et 700 nm.

Les cuves utilisées pour l'analyse sont en quartz. Elles sont nettoyées entre chaque série de mesures par une solution de 10% RBS[®] puis rincer abondamment à l'eau claire et enfin à l'eau ultrapure. L'appareil est équipé d'une lampe au Xenon et de 2 doubles monochromateurs.

Lors des analyses on peut observer des pics fins très caractéristiques qui correspondent à la diffusion de Raman due au solvant (Annexe 2), bien que faible pour l'eau ce phénomène inélastique de diffusion des photons va perturber la modélisation des spectres par le traitement mathématique. On élimine les bandes de diffusion Raman de l'eau en soustrayant un blanc effectué avec de l'eau ultrapure. Les cuves sont préalablement testées dans les mêmes conditions que les flacons d'échantillonnages afin de vérifier qu'elles sont correctement nettoyées.

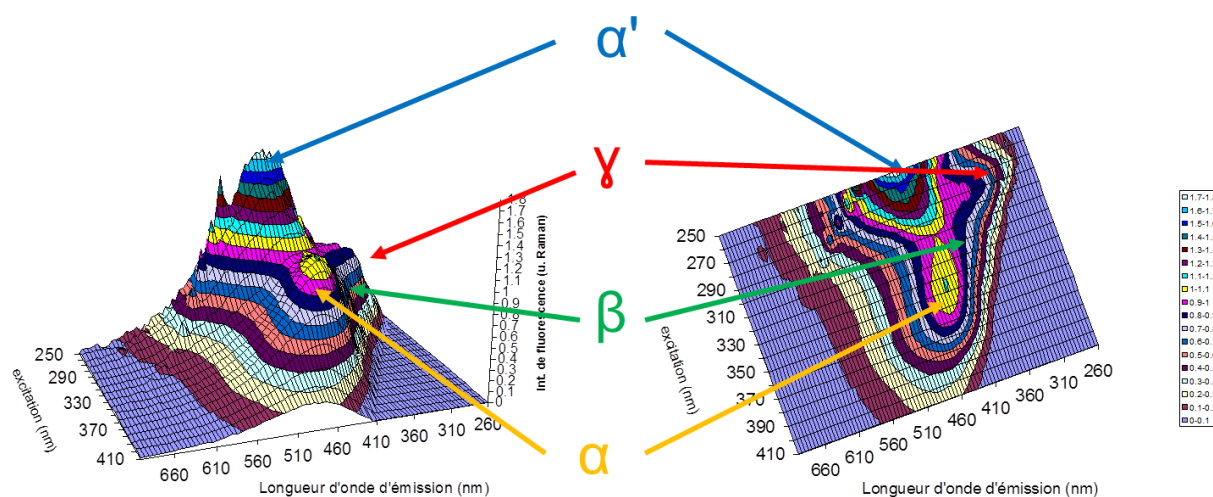


Figure 3 : Principales bandes de fluorescence observées, illustrées par un échantillon d'eau brute , Louis Fargue 2010

Cette méthode va nous permettre de mettre en évidence les bandes caractéristiques de la matière organique présente (figure 3). Car bien qu'il s'agisse d'une matière complexe, il est possible de la caractériser en fonction de ses fluorophores qui varient selon son origine. On peut ainsi généralement distinguer les pics suivants résumé dans le tableau I (Coble, 1996; Parlanti et al., 2000).

Tableau I : Origines et longueurs d'ondes de différents composés fluorophores

Pic	Autre nomenclature	λ excitation (nm)	λ émission (nm)	Type de composés
α	C	330-350	420-480	Substances humiques
α'	A	250-260	380-480	Substances humiques + Matériel récent
β	M	310-320	380-420	Matériel récent
γ	T	270-280	320-350	Composé de type protéique + Activité bactérienne

Les bandes α et α' caractérisent les substances humiques. La bande α correspond à des substances majoritairement anciennes et qui sont donc difficilement biodégradables, elle varie donc peu au cours du temps. La bande α' caractérise le matériel humique en général, aussi bien récent qu'ancien. La bande β correspond à du matériel fraîchement produit dans le milieu, elle est proportionnellement plus importante dans les eaux marines. Les fluorophores de type γ proviennent de matériel protéique et sont souvent liés à l'activité bactérienne dans le milieu.

Des rapports d'intensités d'émission ont été créés afin de pouvoir évaluer le degré d'évolution de la matière organique dissoute. L'indice HIX est un indice d'humification défini par Zsolnay et al. (1999). C'est le rapport de la bande de fluorescence située de 435 et 480 nm sur la bande entre 300 et 345 nm pour une longueur d'onde d'excitation de 254 nm (figure 4). Un indice HIX fort correspond à une matière organique mature, et donc à une plus grande proportion de composés aromatiques, plus réfractaires à la dégradation.

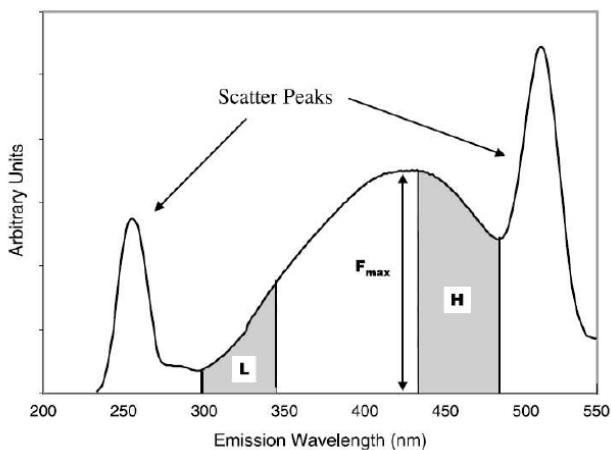


Figure 4 : Calcul de l'indice HIX pour λ d'excitation de 254 nm

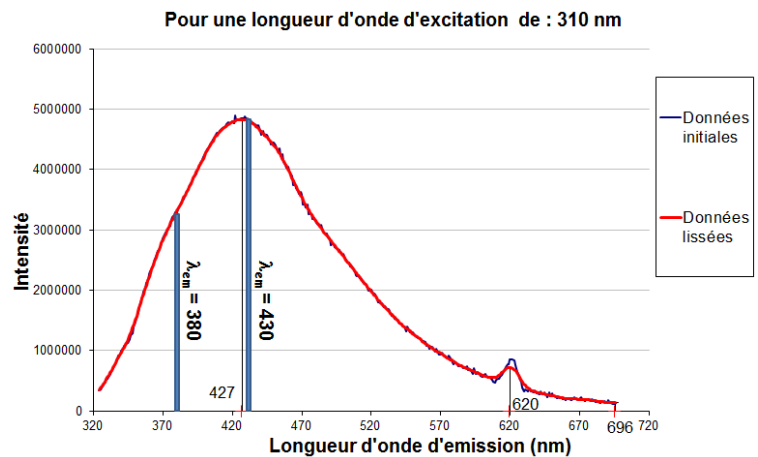


Figure 5 : Longeurs d'ondes d'émissions utilisé pour le calcul de l'indice BIX, Clos de hilde 26 juillet 2011

Un second indice, l'indice BIX, est révélateur de la proportion autochtone de MO. Il est calculé par le rapport des intensités d'émission à 380 nm sur 430 nm pour une longueur d'excitation de 310 nm (figure 5). Plus l'indice est fort plus la production de MO d'origine autochtone est importante car l'indice est assimilable à un rapport β/α et donc à un rapport de matériel récent sur un matériel mature.

2.6 Traitement PARAFAC sous MATLAB

Ce programme fonctionnant sous le logiciel MATLAB est un puissant algorithme trilineaire de décomposition à l'origine développé pour la psychométrie. Il permet la déconvolution de la matrice de fluorescence 3D. Il est capable de discerner des pics dissimulés dans la masse qui ne serait pas identifiables par simple observation des spectres. Les matrices d'excitation et d'émission des échantillons (MEE) sont rassemblées en un jeu de données afin de déterminer les composants principaux expliquant la fluorescence de cet ensemble.

Les phénomènes de diffusions perturbent ce traitement mathématique des données. Bien qu'un blanc soit préalablement soustrait pour éliminer la diffusion de Raman, un second phénomène de diffusion, appelé diffusion de Rayleigh est causé par les molécules de diamètres très inférieurs à la longueur d'onde du rayonnement incident. Cette diffusion est élastique, elle engendre des bandes intenses et provoque une atténuation du signal par dispersion.

On coupe donc les spectres au niveau des diffusions de 1^{er} et second ordre, c'est pourquoi les composants présentés page 8 ne couvrent pas tout le domaine spectral acquis par le fluorimètre.

3 Résultats et discussion

3.1 Analyse préliminaire par absorbance

L'analyse des absorbances A rend compte de l'action d'épuration des STEP, on peut observer une diminution de A après le traitement (Figure 6). On peut relier l'absorbance aux concentrations en carbone organique dissous qui suit les mêmes tendances, néanmoins la relation n'est pas proportionnelle. L'absorbance et le COD permettent de faire la distinction entre eaux naturelles et eaux de rejet. On remarque que la Garonne a une concentration en carbone organique dissous stable et de faible concentration ($2,0 \pm 0,3$ mg/L) d'autant plus qu'une partie de ces mesures ont été réalisées pendant les travaux de rénovation de Louis Fargue, qui a donc rejetée en amont des eaux non traitées. A l'opposé, les eaux en entrée des stations sont très chargées et de concentration très variables d'un jour à l'autre.

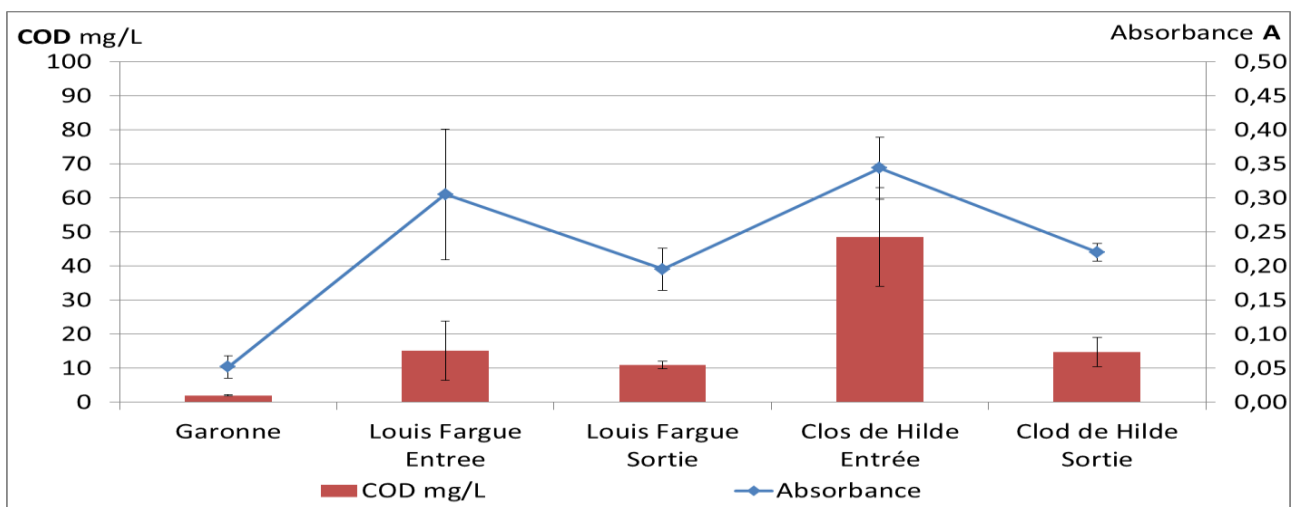


Figure 6 : Absorbances et COD en entrée et sortie STEP et Absorbance de la Garonne

3.2 Caractérisation par indices de fluorescence

Les indices HIX et BIX permettent de faire une distinction nette entre la Garonne et les eaux originaires des STEP (figure 7). HIX est plus fort pour la Garonne, ce qui signifie que sa matière organique est plus mature. En revanche BIX y est plus faible, ce qui est révélateur d'une faible activité biologique.

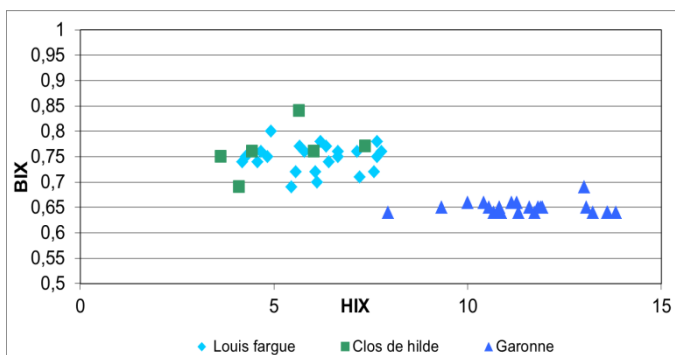


Figure 7 : HIX en fonction de BIX pour les 2 stations et la Garonne

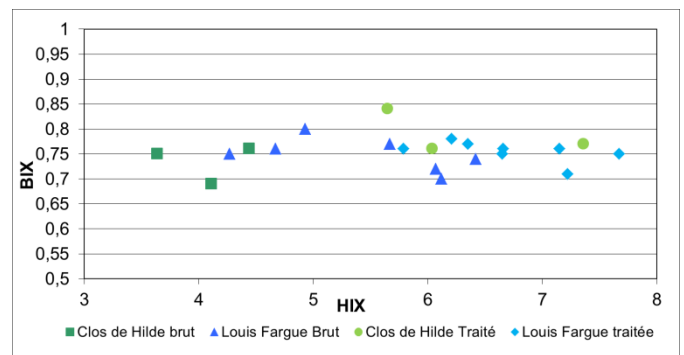


Figure 8 : HIX en fonction de BIX pour les stations d'épurations uniquement

Néanmoins comme le montre la figure 8, les indices BIX et HIX ne sont pas suffisants pour permettre une différenciation claire des eaux avant et après leurs traitements dans les STEP. L'indice BIX a sensiblement la même valeur pour tous les échantillons de STEP, il est donc mal adapté pour l'étude des STEP. L'indice HIX permet une caractérisation des eaux brutes qui ont un indice de 4-6, différent des eaux traitées dont l'indice d'humification se trouve aux alentours de 5,5-8. Cela s'explique par le fait qu'une partie du matériel récent est transformée par la station en acides humiques.

3.3 Interprétation des résultats PARAFAC

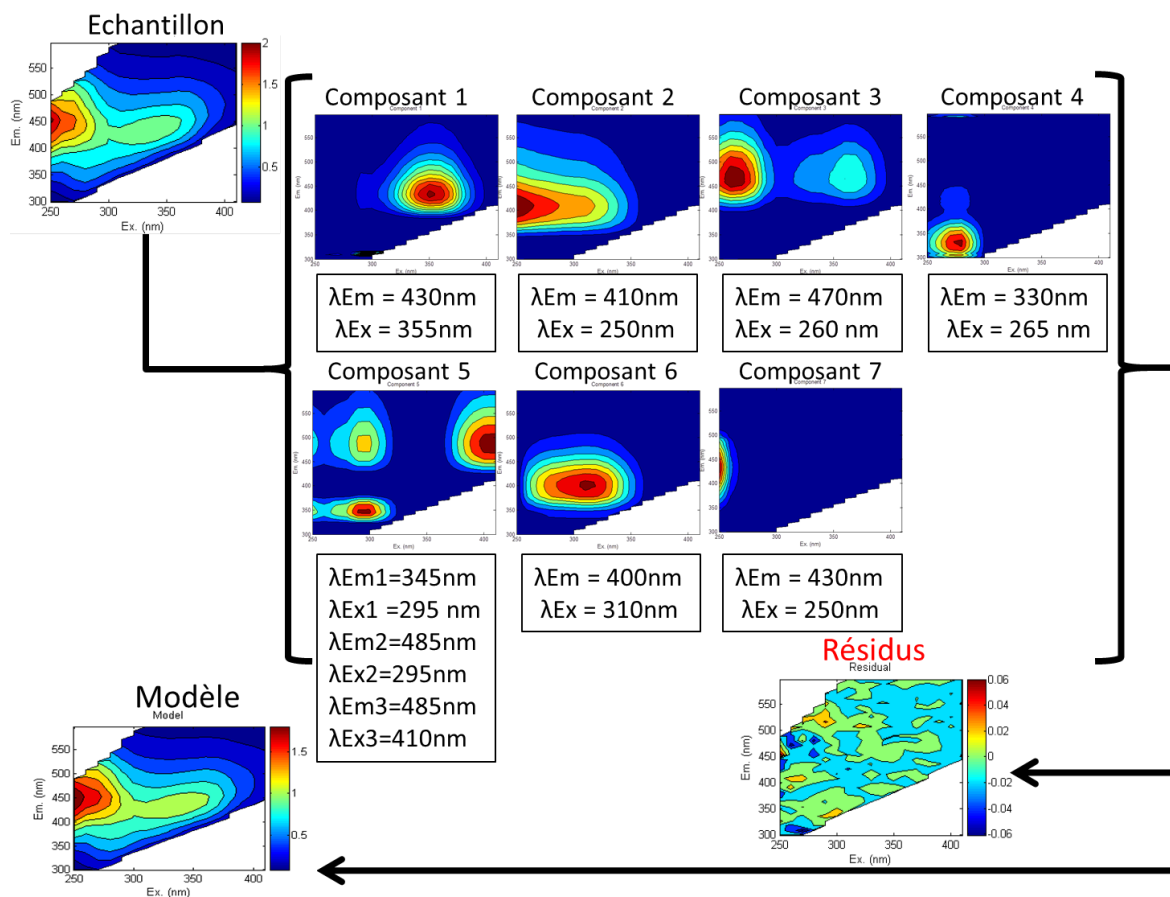


Figure 9 : 7 composants et le modèle global qui en résulte par soustraction des résidus définis par PARAFAC pour un jeu de données rassemblant les eaux brutes, décantées et traitées des STEP

Les mesures de fluorescences de 29 échantillons de stations d'épuration ont été réunies dans un jeu de données et analysées par PARAFAC. Un modèle à 7 composants s'est avéré être le plus satisfaisant de par ses faibles résidus et ses composants bien délimités. Néanmoins certains pics ne sont pas parfaitement isolés comme c'est le cas dans le composant 5.

Pour évaluer l'évolution des différents pics de fluorescences modélisés, on calcule les moyennes de chaque composant pour chaque étape du traitement dans les stations d'épuration. Le composant 1 explique la modélisation à plus de 50%, mais celui-ci n'évolue pas au cours du traitement et n'apporte donc pas d'information. De plus il allonge l'échelle (figure 10), on préfère donc représenter seulement les 6 autres composants. En observant la répartition des composants (tableau II) on voit que ce sont les 4,6 et 7 qui ont les plus fortes variations. En se référant au

Tableau II : Tableau des participations des composants a la modélisations des eaux et pourcentage de variation relatif à l'eau brute.

	composant 1	composant 2	composant 3	composant 4	composant 5	composant 6	composant 7
moyennes eaux brutes	53,83	11,38	10,64	9,48	5,25	3,37	6,05
moyennes eaux décantées	52,21	12,73	12,02	8,05	5,61	3,28	6,09
% de variation eaux décantées	3,01%	-11,88%	-12,97%	15,06%	-6,96%	2,74%	-0,67%
moyennes eaux traitées	53,10	10,88	11,65	6,45	5,62	4,75	7,55
% de variation eaux traitées	1,35%	4,37%	-9,47%	31,99%	-7,09%	-40,94%	-24,78%

tableau I et à la figure 9 on relie le composant 4 au fluorophore γ , le composant 6 à β et le composant 7 à α' . Le composant 4 décroît à la fois à l'étape de décantation puis de traitement biologique. Les composants 6 et 7 croissent mais seulement au cours de l'étape de biofiltration. Ces 3 bandes γ , β et α' sont bien connues et identifiables sans passer par PARAFAC on compare donc ces 3 composants (Figure 11) avec leurs intensités de fluorescence (Annexe 6). La répartition est identique et confirme donc bien l'identité des 3 bandes.

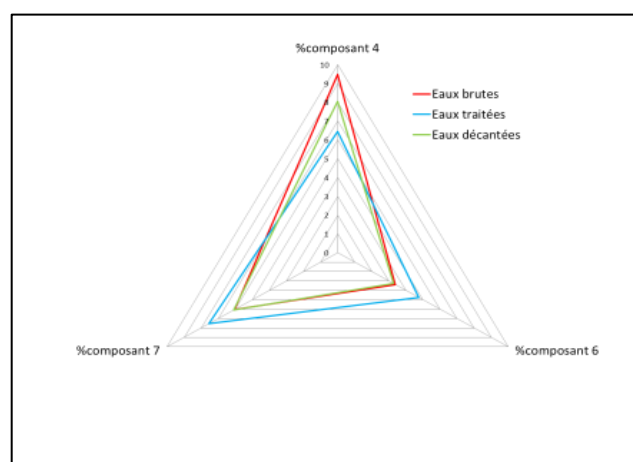
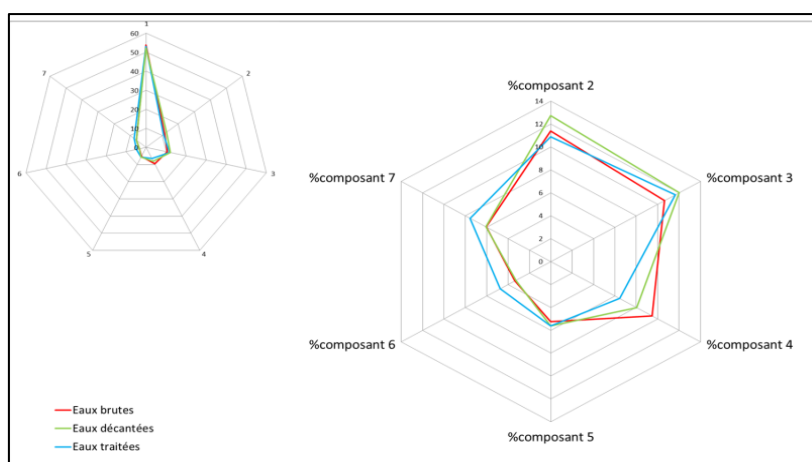


Figure 10 : Répartition en % des 7 composants puis de 6 (composants 1 retiré)

Figure 11 : Répartition en % des 3 composants les plus variables d'une eau à l'autre

Les eaux décantées ont un profil proche des eaux brutes (figure 6), ce qui est logique car le processus de décantation agit essentiellement sur la phase particulaire et non sur la phase dissoute. Pourtant il a un phénomène indéterminé qui réduit la concentration en produit protéique dans le décanteur sans pour autant engendrer d'augmentation des autres fluorophores. A l'étape de traitement biologique en revanche, cette diminution de γ est accompagné d'une augmentation de β et α' (Tableau II et Figure 10 et 11). Ici il s'agit donc bien d'un processus biologique imputable à l'action des biofilms des stations d'épurations. On peut penser que ce matériel a été transformé. Ainsi ces bandes peuvent être utilisées pour différencier les eaux brutes des eaux traitées (figure 12 et 13). Le composant 6 en fonction du composant 4 offrant la meilleure séparation des nuages de point.

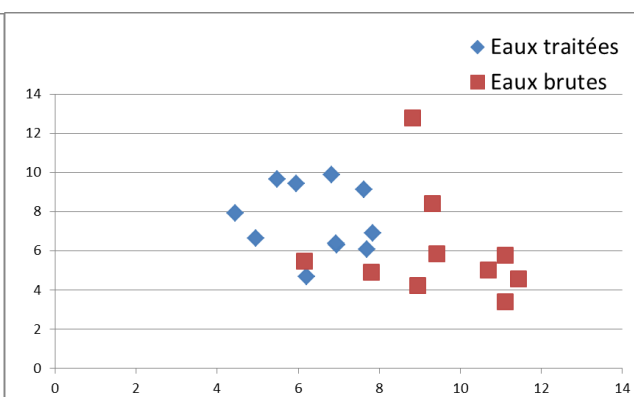
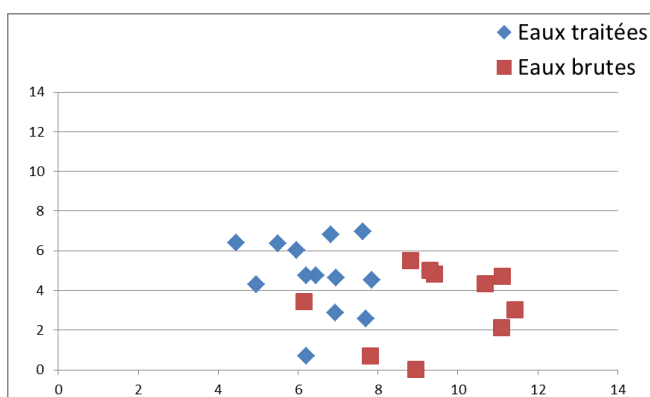


Figure 12 : Composant 6 en fonction du composant 4

Figure 12 : Composant 7 en fonction du composant 4

Conclusion et perspectives

Ce travail a permis d'identifier les différences de composition de la matière organique dissoute entre les eaux naturelles de la Garonne et les eaux usées. L'eau du fleuve transporte une MOD riche en apports terrigènes et de composition mature, tandis que celle des eaux usées est plus récente et surtout plus concentrée. Il s'est avéré que les indices HIX et BIX sont des outils bien adaptés pour les différencier.

En revanche, faire la distinction entre une eau brute et une eau traitée est moins aisée, car la composition de la matière organique générée par l'activité anthropique est variable. A cela s'ajoute des variations climatiques, comme des précipitations qui dilueront la MOD générée par les activités humaines et apportera de la matière organique d'origine terrigène par lessivage des sols. De plus les stations ne sont pas rigoureusement identiques, et la sensibilité des biofilms en font une technique d'épuration aux performances variables. Cependant l'analyse des fluorophores permet tout de même de mettre en évidence une différence de composition de la MOD. Cela à un premier phénomène qui réduit la bande γ , probablement physico-chimique tel que la floculation, puis survient en second temps une consommation de γ avec cette fois production de β et α' ce qui est parfaitement compatible avec une activité biologique, logiquement ces composés seront à leurs tours dégradés pour finir en acides humiques comme observé par Parlanti et al(2000) dans le cas de macro-algues. Cela pourra être vérifié par une augmentation de l'intensité de α et donc de l'indice HIX.

Le logiciel PARAFAC a permis d'identifier de nombreux pics de fluorescence. mais seul quelques-uns ont un intérêt dans la caractérisation des effluents et cela ont déjà été identifié (Coble, 1996; Parlanti et al., 2000). Le logiciel est performant pour aider à l'identification de pics présents mais atteint ses limites quand il s'agit de caractériser des eaux de constitutions trop similaires (Annexe 4 et 5).

Elargir le champ spectral d'investigation en fluorimétrie pourrait permettre de mieux identifier les pics connus situés aux extrémités et de peut-être découvrir de nouveaux fluorophores caractéristique de la dégradation de la MOD. Il faut en complément développer des techniques pour analyser la partie non fluorescente de la matière organique dissoute. De la même façon il serait intéressant de procéder à des analyses de la phase particulaire est ainsi déterminer ses interactions avec les contaminations et ces possibles échanges avec la MOD.

Dans l'optique d'une lutte contre les contaminations il serait intéressant de doser les métaux, HAP, PCB, pesticides etc adsorbés sur des échantillons de MOD et de chercher à faire la relation avec leurs profils de fluorescence. Si l'on peut ainsi déterminer qu'un type d'effluent est vecteur d'un type de pollution en particulier, cela permettrait de prévenir la dispersion de pollution et les influences néfastes sur leurs biodisponibilités. On pourra ainsi envisager d'adapter les techniques d'épurations aux problématiques locales. On peut par exemple prévoir que les HAP, composés apolaires, auront plus d'affinités avec les composés aromatiques. Or les acides humiques possèdent de nombreux noyaux aromatiques, ils sont caractérisables par le pic de fluorescence α . A contrario le Cadmium, problématique dans l'estuaire de la Gironde, devrait avoir plus d'affinités avec les acides fulviques, matériels plus polaire. De plus, la complexation de la matière organique avec des métaux peut-être observé par fluorescence, en effet elle entraîne généralement une extinction des pics de fluorescence, ce phénomène est nommé le quenching.

Pour aller encore plus loin, on peut s'interroger sur l'évolution de ce matériel une fois dans l'océan, l'impact de la salinité, du PH, et bouchon vaseux sur l'évolution de la matière organiques et de ses interactions avec les différentes familles de contaminant.

Bibliographie

Coble, G.P., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* 51, 325–346.

Cotten A, 1996, La Gironde, un écosystème estuarien, Conservatoire de l'Estuaire de la Gironde, 1-11, <http://estuairegironde.net/doc/docu/ecosyst.pdf>

Dejean S, 2007. Etude de la production du biogas sur la station d'épuration Louis Fargue (Bordeaux), son utilisation, son exédant.pp 7-9

Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organ. Geochem.* 31 (12), 1765–1781.

Ohno T., Chen P., Jefits S.S., Mallory E. et McCormick E.K., 2004. Sorption of crop residue-derived dissolved organic matter by soils and its effect on allelopathic expression. *Allelopathy, Journal*, 14(1), pp.13-21

Zhao, H, 2011, Analyse de la matière organique et ses propriétés dans l'environnement naturel en spectroscopie de fluorescence 3D traité par PARAFAC. 32-42

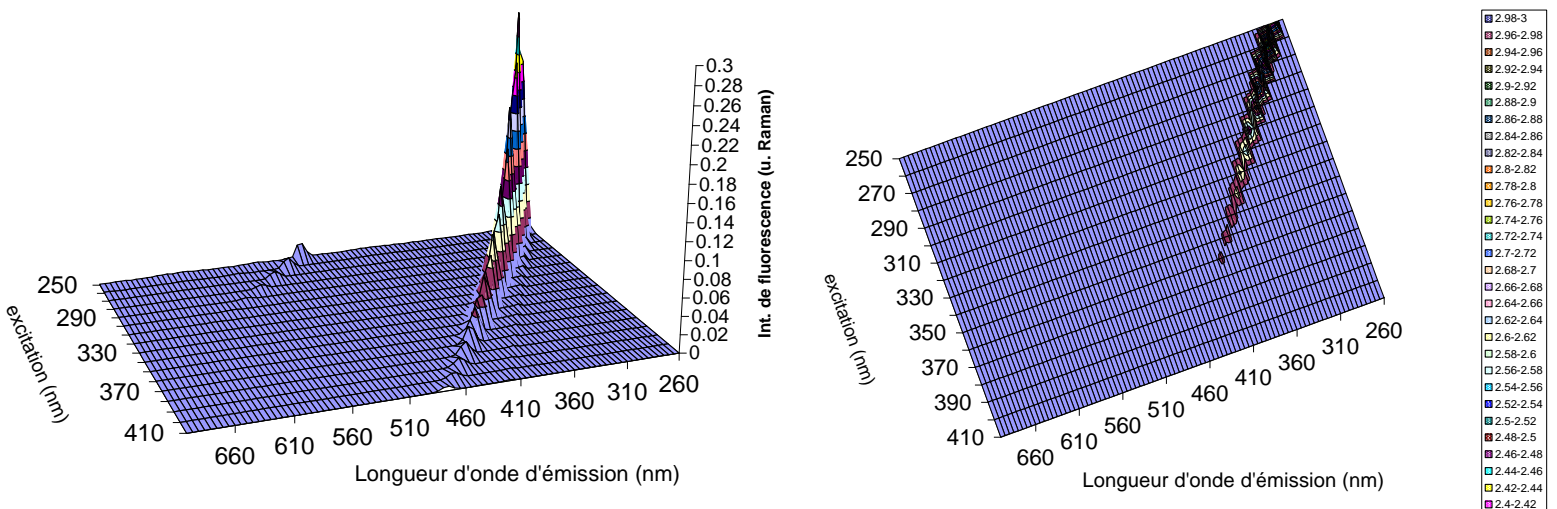
Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50.

Annexes

Annexe 1 : bouteille Niskin

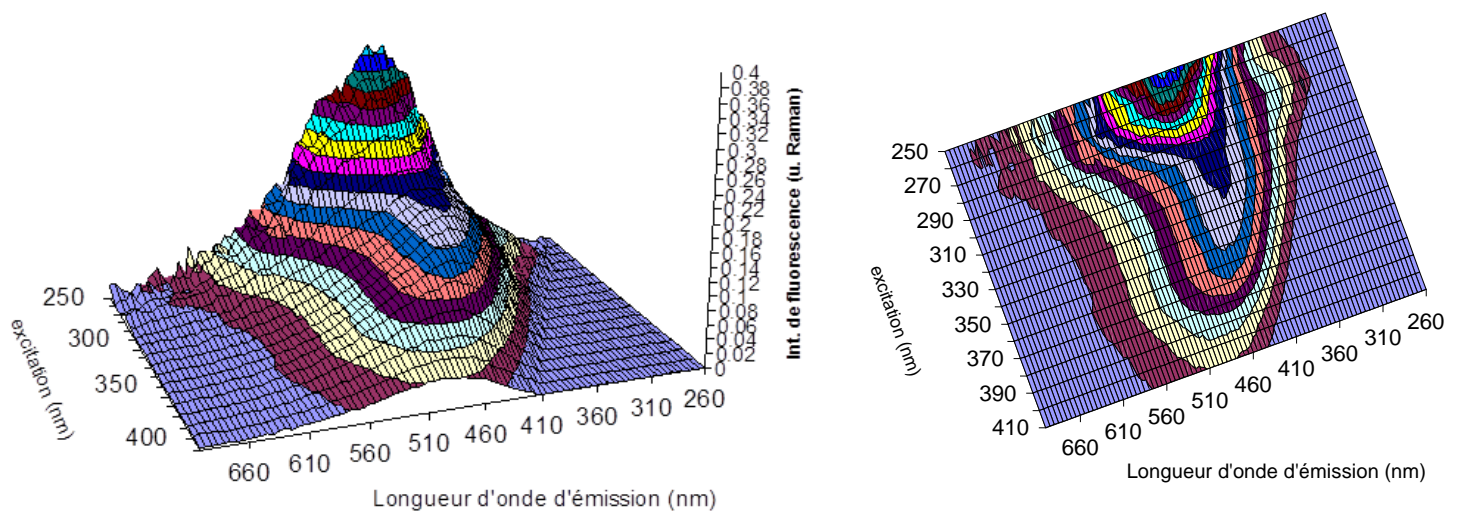


Annexe 2 : Diffusion Raman

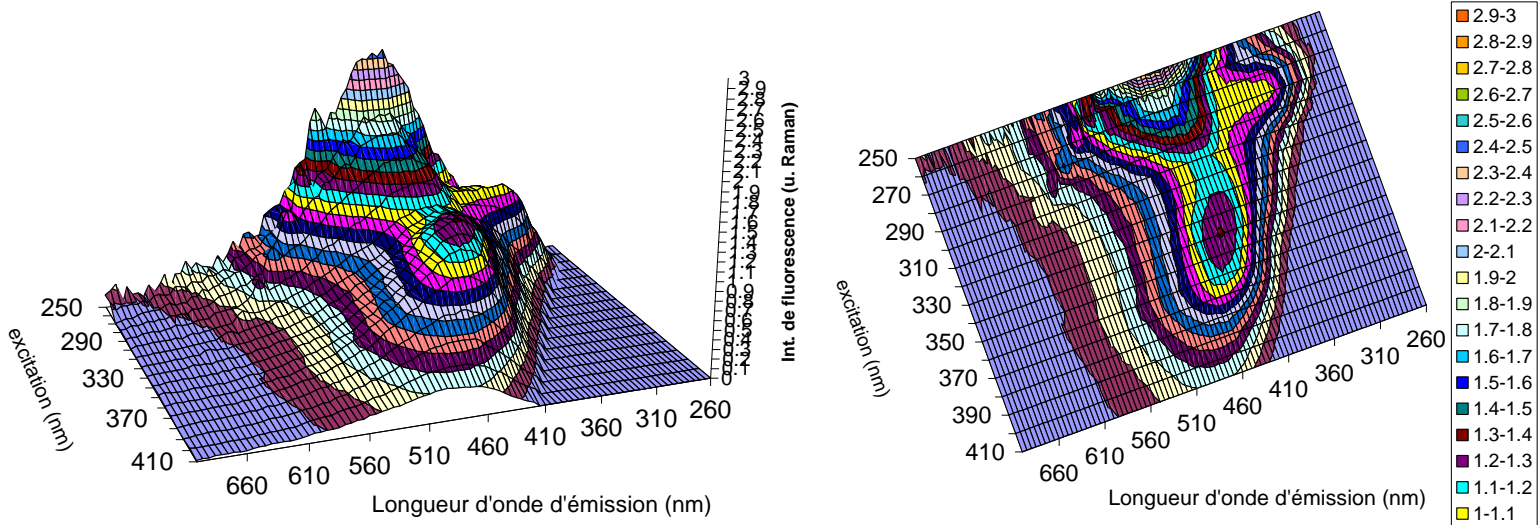


Annexe 3 : Echantillon Garonne

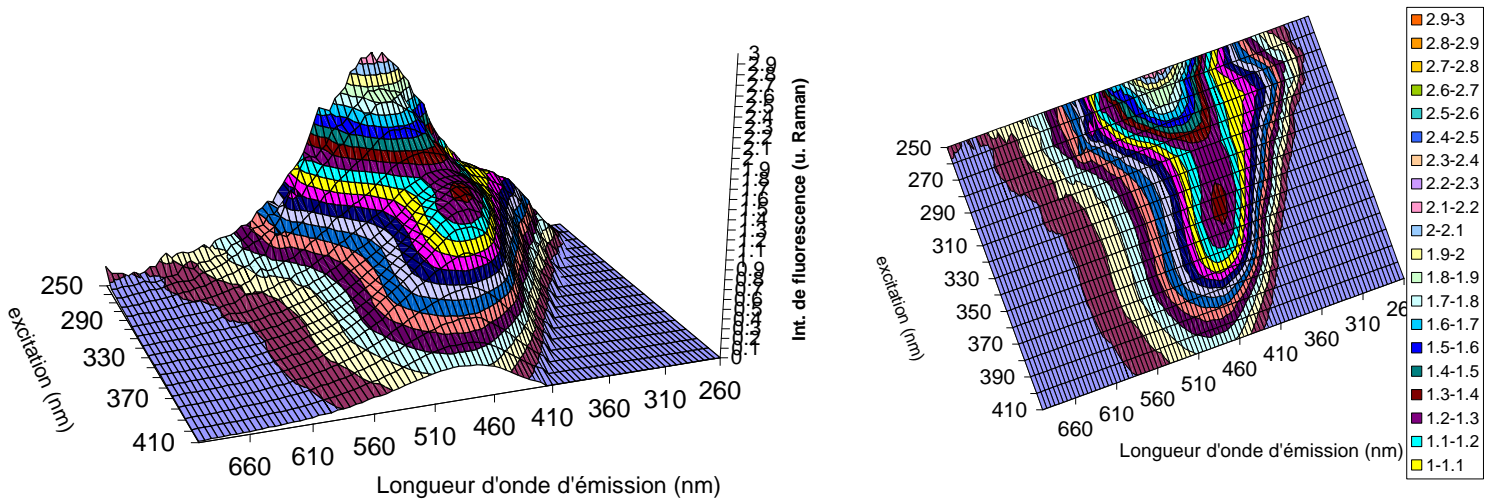
Analyse Fluorimetre 3D :Garonne BASSE MER rive gauche SURFACE 7 Avril 2011



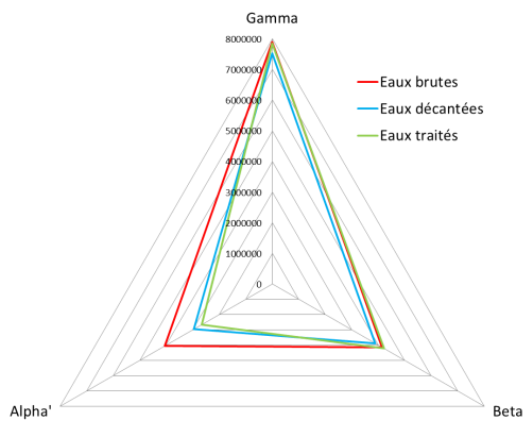
Annexe 4 : Echantillons Louis Fargue 30 juillet eau brute



Annexe 5 : Echantillons Louis Fargue 30 juillet, eau traitée



Annexe 6 : Répartitions des bandes alpha', beta et gamma



Entreprise : UMR EPOC équipe LPTC

Tuteurs : Edith Parlanti

Caractérisation de la matière organique dissoute des stations d'épuration de l'estuaire de la Gironde

Résumé

La matière organique dissoute joue un rôle de premier ordre dans le cycle du carbone et dans la biodisponibilité des contaminants dans les milieux aquatiques. De ce fait, bien qu'elle soit de nature complexe il est important de connaître les propriétés générales et d'identifier les différentes compositions qu'elle peut prendre. Cette étude a pour objectif de caractériser la matière organique dissoute des 2 principales stations d'épurations de la communauté urbaine de Bordeaux. Elle s'appuie pour ses analyses sur les prélèvements de la campagne d'échantillonnage effectuée dans le cadre du projet ETIAGE. Les propriétés fluorescentes de la phase dissoute des eaux urbaines et de la Garonne sont utilisées pour déterminer la maturité et l'origine de la MOD. Les indices HIX, BIX et certains fluorophores sont exploités pour définir les profils de ces eaux. Il est étudié l'impact du traitement de décantation et du biologique sur la distribution des fluorophores. Les analyses sont réalisées par spectrofluorimétrie 3D. Les résultats sont modélisés avec le traitement mathématique PARAFAC.

Mots clefs : Matière organique dissoute, fluorescence 3D, STEP, Gironde, Garonne.

Abstract

Dissolved organic matter plays a leading role in the carbon cycle and the bioavailability of contaminants in aquatic environments. Therefore, although it is complex in nature it is important to know the general properties and identify different compositions it can take. Characterization of dissolved organic matter in two major purges of the urban community of Bordeaux stations this study aims. It relies for its analysis on samples of the sampling campaign conducted under ETIAGE project. The fluorescent properties of the dissolved phase of urban water and Garonne are used to determine the maturity and the origin of the DOM. Indices HIX, BIX and some fluorophores are used for defining the profiles of these waters. It examined the impact of treatment on sedimentation and biological distribution of fluorophores. The analyzes were performed by 3D Spectrofluorometric. The results are modeled with the mathematical treatment PARAFAC.

Keywords: Dissolved organic matter, 3D fluorescence, STEP, Gironde, Garonne.