

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'ENVIRONNEMENT**

Laboratoire Image Ville Environnement UMR 7362

THÈSE présentée par :

Sarah KOENIG

soutenue le: 15 Décembre 2016

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : **Géochimie/Écologie**

**Rôle des Zones Tampon Végétalisées
sur les transferts d'azote et phosphore
vers les milieux aquatiques**

THÈSE dirigée par :

Pr. TRÉMOLIÈRES Michèle

Professeure, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Pr. HAURY Jacques

Professeur, Agrocampus Ouest, Rennes

Pr. SANCHEZ-PEREZ José

Directeur de recherche, Université de Toulouse

AUTRES MEMBRES DU JURY :

Dr BOIS Paul

Maitre de conférences, Université de Strasbourg

Dr BOUTIN Catherine

Chef de mission, Ministère de l'Agriculture (IRSTEA)

Rôle des Zones Tampon Végétalisées sur
les transferts d'azote et phosphore vers
les milieux aquatiques



« L'important n'est pas de convaincre, mais de donner à réfléchir »

Bernard Werber

Remerciements

Ce travail a été initié par Georges Reeb, Michèle Trémolières et moi-même après un stage réalisé au sein de l'atelier REEB sur les Zones Tampon Végétalisées. Grâce aux financements de la Région Alsace, de l'Agence de l'Eau Rhin Meuse, de Crystal Union (sucrierie d'Erstein), d'Olry Arkedia, de l'Atelier REEB et de Rittmo, la réalisation de ce projet a été possible. Je tiens à les remercier pour leur soutien financier mais aussi pour leurs nombreux conseils et remarques constructives.

Je souhaite remercier les membres du jury: Pr Jacques Haury, Pr José-Miguel Sanchez Perez, Dr Paul Bois, Dr Catherine Boutin et les membres invités Mr Nicolas Venandet, Mr Franck Favre, Mr Etienne Dantan et Dr Laure Metzger qui me font l'honneur de leur présence.

Je voulais remercier Michèle Trémolières, ma directrice de thèse, d'avoir permis à ce projet de voir le jour et de m'avoir fait confiance, pour l'accompagnement sur des terrains parfois difficiles et pour tous les conseils prodigués pendant toute la durée de la thèse.

Je tiens à remercier Georges Reeb, qui m'a permis de faire mon stage dans son entreprise et m'a fait découvrir l'épuration végétalisée et les Zones tampon menant à la mise en place et à la réalisation de ce projet. Merci pour sa confiance et sa passion communicative.

Je tiens à remercier Monsieur Ackerer, directeur du LHyGeS puis directeur de l'école doctorale 413, Monsieur Chabaux, directeur de l'école doctorale 413 puis directeur du LHyGeS et Monsieur Badariotti, directeur du LIVE pour leur accueil. Merci à toutes les personnes qui m'ont aidée dans toutes mes démarches administratives et notamment Francine Cerni, Francine Kolb, Estelle Baehrel et Leyla Ermis.

Je tenais à remercier l'équipe de l'ENGEES, Marie-Pierre Ottermate, Carole Lutz et Eric Pernin pour m'avoir aidée dans les nombreuses analyses effectuées au laboratoire, pour l'adaptation du planning, pour l'aide sur le terrain mais surtout pour leur bonne humeur communicative. Je tenais aussi à remercier Sophie Gangloff et Colin Fourtet du LHyGeS pour les analyses chromatographiques de l'eau et Martine Trautmann du Laboratoire des Sols pour sa présence sur le terrain, les analyses physiques de sol, son aide et son écoute. Merci à Najat Nassr et à son équipe pour avoir dirigé l'étude sur la biomasse bactérienne et la nitrification ainsi que l'équipe Ecolab de Toulouse pour avoir drivé de manière sympathique et efficace Fériel lors de ses analyses de dénitrification. Un grand merci à Frédéric Tisserant du SATESE du Haut Rhin pour m'avoir aidée à mieux appréhender le terrain de Liebsdorf, pour la transmission de ses données et pour ses nombreux conseils. Merci à Etienne Dantan et Bruno Chausson pour l'aide sur le terrain de Colmar, et pour avoir évité un remake de « Massacre à la tronçonneuse ».

Je remercie les Maires des communes de Raon sur Plaine et de Liebsdorf pour m'avoir donné accès aux stations à chaque fois que je le souhaitais, ainsi qu'aux agents communaux qui ont respecté mes directives sur les ZTVs et à tout le personnel de Rittmo pour l'accès au site expérimental de Colmar et à leurs locaux.

Merci aux différents stagiaires, notamment Elodie qui a permis la mise en place et l'analyse des campagnes mensuelles et Fériel qui a réalisé les analyses préliminaires d'activité bactérienne. J'ai pu grâce à elles amener le projet encore plus loin. Un grand merci aussi à

Floriane, Houria, Guillaume, Laura, Jean et Camille, j'en oublie certainement, qui ont égayé le quotidien et ont été d'une aide très importante notamment sur le terrain.

Merci aux différents membres de notre petite équipe. Merci à Laurent Hardion pour les petites discussions, à Gisèle Hann-Archipoff pour avoir été comme une petite maman pour toutes les doctorantes et à Isabelle Combroux pour les conseils, les délires et pour m'avoir écoutée et soutenue lors de mes petits coups de blues. Merci à Albin Meyer de m'avoir appris toutes les techniques d'analyses durant mon stage et au début de ma thèse.

Une pensée et des remerciements tout particuliers pour mes collègues de bureau Cybill Staenzel et Eugénie Schwoertzig. Ma Cybillou, on revient de loin mais j'ai aimé tous ces moments partagés, ces discussions, ces fou-rires, notre stage ouverture de porte avec bouteille de Coca et ma plus belle fête de Noël, je penserai toujours à toi en écoutant Last Christmas. Ma Ninichou, je ne sais pas comment te remercier de tout ce que tu as fait pour moi, cette thèse n'aurait pas été la même sans toi, malgré qu'à cause de ta Cracotte au chocolat j'ai failli perdre une dent. Nos discussions m'ont été d'une grande aide et ton soutien, notamment à la fin de cette thèse, primordial. Notre vie de doctorantes et de collègues se termine, j'espère que notre amitié ne fait que commencer.

Je remercie mes amis, peu nombreux mais de qualité. Martial Goupil, mon Baboon, merci d'être toujours là pour moi depuis toutes ces années, je ne vois pas ma vie sans toi, tes appels, nos questions existentielles et nos délires. Hélène, ma petite sœur, même loin tu es toujours avec moi. Merci à Simo, Manou, Florian et Lucie d'avoir mis un peu de fête dans cette thèse. Un grand merci à Alexandre et Déborah, d'avoir fait de toutes ces années à l'Université un bonheur perpétuel, excepté peut être en période d'examen. Un merci particulier à Riad, qui m'a soutenue plus que quiconque pendant cette thèse, pour ses corrections, ses conseils, ses paroles apaisantes: je n'oublierai jamais tout ce que tu as fait pour moi.

Enfin, et non pas des moindres, je termine mes remerciements par ma famille. Mes parents, tout d'abord qui m'ont permis de faire mes études avec sérénité, qui ont toujours été présents pour moi, je les aime infiniment. Mes frères, Juju et Titi, mes exemples, dont l'avis compte toujours beaucoup pour moi, qui savent me remettre droite dans mes bottines et avec qui je passe de supers moments depuis mon enfance, ainsi que mes belles sœurette qui sont toujours de bon conseil et d'un soutien sans faille, j'ai de la chance, j'ai gagné deux sœurs au top. Mes neveux Maxence, Balthazar et ma nièce Grâce, mes loupiaux, qui me procurent un bonheur quotidien par leurs rires et leurs petites histoires, ainsi qu'un sens de l'humour typique de notre famille. Un grand merci au reste de ma famille. Une grosse pensée pour ma mamie qui est un exemple pour nous tous. Une pensée pour les grands parents partis plus tôt, j'espère que là où ils sont, ils sont fiers de moi.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1 Etat des connaissances sur l'élimination des nutriments, azote et phosphore, dans les zones humides	5
1 Azote et Phosphore	5
1.1 Décomposition de la matière organique (Bot and Benites, 2005)	5
1.1.1 Composition de la matière organique	5
1.1.2 Mécanismes et acteurs de la décomposition de la matière organique	5
1.1.3 Facteurs influençant la décomposition de la MO	6
1.2 Le cycle de l'azote	7
1.2.1 Les formes de l'azote	7
1.2.1.1 Le diazote	8
1.2.1.2 Azote géologique	8
1.2.1.3 Azote organique	8
1.2.1.4 Azote ammoniacal	8
1.2.1.5 Azote nitreux	9
1.2.1.6 Azote nitrique	9
1.2.1.7 L'oxyde nitreux	9
1.2.2 Réactions de transfert de l'azote (Figure 1-2)	9
1.2.2.1 Ammonification	9
1.2.2.2 Volatilisation de l'ammoniac	10
1.2.2.3 Nitrification	11
1.2.2.4 Réduction dissimilative du nitrate en ammonium	12
1.2.2.5 Anammox (Anaerobic ammonium oxidation)	14
1.2.2.6 Dénitrification	15
1.2.2.7 Assimilation de l'azote (Marschner, 1986)	16
1.2.2.8 Fixation de l'azote atmosphérique (Postgate, 1998)	18
1.3 Cycle du phosphore (Figure 1-4)	18
1.3.1 Les formes du phosphore (Andrieux-Loyer, 1997)	18
1.3.2 Transferts du phosphore dans l'environnement	20
1.3.2.1 Les apports naturels	20
1.3.2.2 Les apports anthropogéniques majeurs	20
1.3.2.3 La décomposition du phosphore organique	21
1.3.2.4 Mécanismes de rétention du phosphore dans le sol	21
1.3.2.5 Libération du phosphore dans l'eau	22
1.3.2.6 Assimilation du phosphore	23

1.3.2.7	Rôle des microorganismes	23
2	L'eau: Enjeux et pollution	25
2.1	Enjeux de la préservation de l'eau	25
2.2	Pollution azotée et phosphorée: les risques	26
3	L'épuration classique des eaux usées	30
3.1	Principe général	32
3.2	Elimination de l'azote et du phosphore dans les STEPs classiques	34
4	Les zones humides des « usines » d'épuration naturelles	37
4.1	Les zones humides naturelles	37
4.1.1	Définition et classification (Girard et al., 2007)	37
4.1.2	Historique des zones humides	38
4.1.3	Amélioration de la qualité de l'eau et de l'air	38
4.1.3.1	Rétention du phosphore	38
4.1.3.2	Rétention de l'azote	39
4.1.3.3	Rôle tampon des zones humides	40
4.1.3.4	Rétention de la matière en suspension (MES)	41
4.1.3.5	Rôle dans l'amélioration de la qualité de l'atmosphère	41
4.2	Zones humides construites	42
4.2.1	Les filtres plantés de macrophytes (Paulus, 2011)	42
4.2.2	Le lagunage	45
4.2.3	Les taillis à très courte rotation (TTCR)	47
4.2.4	Les dispositifs enherbés	48
4.2.4.1	Définition	48
4.2.4.2	Fonctions des bandes enherbées (Dorioz and Gascuel, 2009)	49
4.2.4.3	Efficacité des bandes enherbées	49
5	Les Zones tampon végétalisées	51
5.1	Les zones tampon végétalisées en France (Prost-Boucle et Boutin, 2013)	51
5.2	Fonctionnement d'une Zone Tampon Végétalisée	52
6	Les espèces végétales des zones humides	55
6.1	Rôle fonctionnel des espèces des zones humides	55

Chapitre 2 Matériel et méthodes **59**

1	Présentation et aménagement des sites	59
1.1	Raon sur Plaine	59
1.2	Liebsdorf	62
1.3	Le site expérimental de Colmar	66
1.3.1	Aménagement de la Zone Tampon pour l'étude (Figure 2-6)	66
1.3.1.1	Système d'irrigation	66
1.3.1.2	Végétation	68

1.3.1.3	Sol	68
1.3.1.4	Céramiques poreuses et tensiomètres	68
2	Méthode d'échantillonnage	72
2.1	Campagnes de terrain	72
2.2	Protocole d'irrigation de la ZTV expérimentale de Colmar	72
2.2.1	Remplissage des cuves	72
2.2.2	Irrigation des noues et infiltration	72
2.3	Prélèvement des échantillons	74
2.3.1	Eau	74
2.3.2	Sol et Sédiment	78
2.3.2.1	Prélèvement du sol pour analyses physiques	78
2.3.2.2	Prélèvements du sédiment pour analyses chimiques	78
2.3.2.3	Prélèvements du sol pour étude de la nitrification, dénitrification et biomasse bactérienne	80
2.3.3	Végétaux	81
2.3.3.1	Prélèvements pour analyses chimiques	81
2.3.3.2	Détermination de la biomasse	82
3	Analyses	85
3.1	Eau	85
3.1.1	Paramètres physicochimiques	85
3.1.2	Dosage de l'azote ammoniacal (N-NH ₄)	86
3.1.3	Dosage de l'azote Kjeldahl (NTK)	86
3.1.4	Dosage de l'azote nitrique (N-NO ₃), des sulfates (SO ₄ ²⁻) et chlorures (Cl ⁻)	86
3.1.5	Dosage de l'azote nitreux (N-NO ₂)	87
3.1.6	Dosage du phosphore des ortho-phosphates (P-PO ₄)	87
3.1.7	Dosage du phosphore total (P(t))	88
3.2	Sol	88
3.2.1	Paramètres physico-chimiques	88
3.2.1.1	Dosage du pH	88
3.2.1.2	Détermination des courbes de rétention hydrique	88
3.2.1.3	Mesure de la conductivité hydraulique à saturation	90
3.2.1.4	Mesure de la calcimétrie	91
3.2.1.5	Détermination du pourcentage de matière organique	91
3.2.1.6	Granulométrie	92
3.2.2	Paramètres chimiques	92
3.2.2.1	Dosage de l'azote ammoniacal	92
3.2.2.2	Dosage de l'azote nitrique	92
3.2.2.3	Dosage de l'azote total organique	92

3.2.2.4	Dosage du phosphore assimilable	93
3.2.2.5	Dosage du phosphore total	93
3.2.3	Paramètres microbiologiques	93
3.2.3.1	Nitrification potentielle	93
3.2.3.2	Dénitrification potentielle	94
3.2.3.3	Détermination de la biomasse bactérienne totale et celle contenant le gène AmoA et NirK	95
3.3	Dosage de l'Azote et du phosphore total dans les végétaux	95
4	Tests statistiques	95

Chapitre 3 Impact de zones tampon végétalisées, recevant les effluents de station

d'épuration, sur les transferts d'azote et phosphore 97

1	Article: Impact of vegetated buffer zones (VBZs), receiving treatment plant effluent in transfer of nitrogen and phosphorus	98
1.1	Abstract	98
1.2	Introduction	99
1.3	Material and Methods	101
1.3.1	Characteristics of the experimental sites (Figure 3-1)	101
1.3.2	Sampling method	103
1.3.3	Chemical analysis	103
1.3.4	Biomass determination	104
1.3.5	Statistical analysis	105
1.4	Results	105
1.4.1	Comparison of two water sampling procedures	105
1.4.2	Physicochemical parameters	106
1.4.3	Nitrogen and phosphorus concentrations in water	106
1.4.4	Nitrogen and Phosphorus content in sediment	110
1.4.5	Nitrogen and Phosphorus content in plants	111
1.4.6	Nitrogen and Phosphorus distribution in compartments -water, sediment and plant-	111
1.5	Discussion	114
1.5.1	Reliability of the methodology	114
1.5.2	Reduction of nutrients in both VBZs	115
1.5.3	Role of plants in reduction of nutrient transfer	117
1.6	Conclusion	118
2	Résumé des principaux résultats et discussion	118

Chapitre 4 Transferts de nutriments sous conditions contrôlées dans un site expérimental

		121
1	Résultats	123
1.1	Caractéristiques physico-chimiques du sol	123
1.2	Succion du sol	124
1.3	Nutriments dans la solution du sol	125
1.4	Contenu et rétention des nutriments dans le sol	129
1.5	Contenu en nutriments des saules et biomasse végétale	138
1.6	Rétention des nutriments dans les compartiments sol et plantes	140
2	Discussion	142
2.1	Transfert des nutriments dans le sol	142
2.2	Rétention des nutriments par les saules	144
2.3	Rôle des compartiments (sol-végétation) dans la rétention des nutriments	145
3	Conclusion	145

Chapitre 5 Activité microbienne des zones tampon végétalisées

		147
1	Rappel des caractéristiques des zones tampon végétalisées	148
2	Résultats	149
2.1	Biomasse bactérienne	149
2.2	Activité nitrifiante	151
2.2.1	Biomasse nitrifiante	151
2.2.2	Nitrification potentielle	153
2.3	Activité dénitrifiante	156
2.3.1	Biomasse dénitrifiante	156
2.3.2	Dénitrification potentielle	156
3	Discussion	160
3.1	Rôle de la biomasse bactérienne dans les ZTVs	160
3.2	Fertirrigation et activité microbienne	163
3.3	Bilan de masse estimatif de l'activité microbienne dans les ZTVs étudiées	164
4	Conclusion	165

Chapitre 6 Rétention des nutriments dans la biomasse végétale des Zones Tampon

		167
1	Capacité d'accumulation des macrophytes	168
1.1	Variations intra-spécifiques et temporelles du contenu en nutriments	168
1.2	Variations inter-spécifiques du contenu en nutriments	174
1.3	Ratio N/P (Figure 6-5)	176
1.4	Biomasse aérienne	178

2	Capacité d'accumulation des saules	179
2.1	Variations temporelles	179
2.2	Variations inter-spécifiques et inter-sites (Figure 6-8)	183
2.3	Ratio N/P	185
2.4	Biomasse aérienne	185
2.4.1	Nécromasse (apport de litière) (Tableau 1-4)	187
3	Protocole non destructif de détermination de la biomasse aérienne des saules	188
3.1	Méthode	188
3.2	Résultats et discussion	188
4	Conclusion	192

Chapitre 7 Bilan des transferts de nutriments au sein des ZTVs et perspectives _____ 193

1	Bilan des transferts d'azote et phosphore dans les ZTV	193
2	Proposition de mesures de construction et de gestion pour une amélioration du fonctionnement d'une ZTV	196
3	Perspectives	199
3.1	Amélioration des protocoles	199
3.2	Analyse de fonctionnement de ZTV: mise en évidence des processus et facteurs de contrôle	199

Conclusion _____ 201

Références _____ 203

Annexes _____ 225

Liste des tableaux

Chapitre 1- Etat des connaissances sur l'élimination des nutriments, azote et phosphore, dans les zones humides

<i>Tableau 1-1: Volume traité et nombre de stations d'épuration en fonction de la taille de la station en France en 2008. Tableau tiré du site officiel du Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie. ____</i>	<i>30</i>
<i>Tableau 1-2: Composition moyenne de l'eau usée en entrée de STEP pour un EH. Tableau tiré de Cardot (2010). MES (matières en suspension), DCO (Demande chimique en oxygène), DBO (Demande biologique en oxygène)</i>	<i>31</i>
<i>Tableau 1-3 : Concentration moyenne en polluants des eaux usées en entrée de STEP. Tableau tiré de Cardot(2010). MES (matières en suspension), DCO (demande chimique en oxygène), DBO (demande biologique en oxygène) _____</i>	<i>31</i>
<i>Tableau 1-4 : Conditions nécessaires pour une nitrification et dénitrification optimum _____</i>	<i>34</i>
<i>Tableau 1-5 : Présence et importance des processus de transformation de l'azote dans les filtres plantés à écoulement horizontal (FPH) et à écoulement vertical (FPV). Tiré de (Vymazal, 2007). _____</i>	<i>44</i>

Chapitre 2- Matériel et méthodes

<i>Tableau 2-1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de Raon sur Plaine déterminées au début de l'étude _</i>	<i>62</i>
<i>Tableau 2-2 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de la ZTV de Liebsdorf déterminées au début de l'étude _____</i>	<i>64</i>
<i>Tableau 2-3 : Caractéristiques physicochimiques du sol du site de Colmar _____</i>	<i>68</i>
<i>Tableau 2-4: Résultats des tests ammonium et phosphate des céramiques poreuses _____</i>	<i>73</i>
<i>Tableau 2-5 : Echantillonnage des espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf et Raon. PA = Parties aériennes _____</i>	<i>82</i>
<i>Tableau 2-6 : Echantillonnage des espèces de saules de la ZTV de Colmar. _____</i>	<i>83</i>
<i>Tableau 2-7 : Récapitulatif des différentes tensions hydriques appliquées aux échantillons _____</i>	<i>89</i>

Chapitre 3- Impact de zones tampon végétalisées, recevant les effluents de station d'épuration, sur les transferts d'azote et phosphore

<i>Tableau 3-1: Comparison of average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus for two sampling water procedures at Liebsdorf: 24H sample and point sample. Mean comparison test P-value (wilcoxon test). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, NS=Not Significant. Zi = Vegetated buffer zone input, Zo = Vegetated buffer zone output, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus. 105</i>	
<i>Table 3-2: Average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus for two sampling water methodologies at Liebsdorf: quarterly sampling (March, June and September 2014) and monthly sampling (March, April, May, June, July, August and September 2014). Means comparison test P-value (wilcoxon test). * p</i>	

< 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, NS=Not Significant. Zi = Vegetated buffer zone input, Zo = Vegetated buffer zone output, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus.	106
Table 3-3: Water physicochemical parameters means in VBZs of Raon and Liebsdorf. N=sample size. Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations for each parameter.	106
Table 3-4 : Average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus in water, means comparison test P-value (wilcoxon test). * P-value < 0.05, ** P-value < 0.01, *** P < 0.001, NS: Not significant. VBZi = Vegetated Buffer Zone input, VBZo = Vegetated Buffer Zone output, D = ditch, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus.	107
Table 3-5 : Evaluation of water quality in receiving streams in Raon and Liebsdorf based on the French referential SEQ-Eau. TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, TP = Total Phosphorus. Blue = very good quality, Green = good quality, Yellow = medium quality, Orange = poor quality, Red = very poor quality. upstream- downstream of the effluent of ZVB	110
Table 3-6 : Average contents of nitrogen and phosphorus forms in sediment of Raon and Liebsdorf VBZs N= 6 over the study period (2013-2015)	110
Table 3-7 : Distribution of nitrogen and phosphorus in water, sediment (September 2014), and the aerial parts of the plant (September 2014) of VBZs Liebsdorf and Raon	114
Table 3-8 : Estimated nitrogen (N) and phosphorus (P) content supplied by fertirrigation, released into the river, retained by the ground on 25 cm and plants, in one year.	114

Chapitre 4- Transferts de nutriments sous conditions contrôlées dans un site expérimental

Tableau 4-1 : Caractéristiques de l'aménagement et de la gestion des noues du site expérimental de Colmar. La noue A représente la noue de référence. N = taille de l'échantillon.	123
Tableau 4-2: Caractéristiques physicochimiques du sol de Colmar. C=couche. N=3	124
Tableau 4-3: Succion moyenne du sol en -hPa pour les profondeurs de 25, 50, 75 et 100 cm dans les différentes noues de la zone de Colmar. N= taille de l'échantillon. Les lettres entre parenthèses représentent les résultats du test statistique de comparaison des moyennes (test wilcoxon). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les différentes noues et profondeurs. (pvaleur<0,05, wilcoxon test). (*) Taille de l'échantillon insuffisant pour le test statistique.	124
Tableau 4-4: Contenu (g) en azote minéral, azote organique, azote total, phosphore assimilable et phosphore total des profondeurs 0-5 cm, 20-30 cm, 45-55 cm, 70-80 cm et 95-105 cm dans chaque noue de 25 m ² en début d'étude (Août 2013) et fin d'étude (Avril 2015) (pour les calculs voir annexe 3). Les pourcentages en vert marquent un gain en nutriment entre le début et la fin de l'étude alors que les pourcentages en rouge marquent une perte en nutriments. En dessous de 15 % (chiffres en noir) le pourcentage est considéré comme non significatif.	136

Tableau 4-5: Estimation du contenu en azote nitrique (N-NO₃) et phosphore (P-PO₄) apportés lors de l'irrigation, retenus dans les 105 premiers cm du sol et lessivés dans les couches inférieures, dénitrifiés (cas du nitrate) ou captés par la flore, durant la période d'étude (Novembre 2013 à Juin 2015) _____ 137

Tableau 4-6: Biomasse des saules récoltée dans la noue B de Colmar en Novembre (années 2014 et 2015) et dans chacune des quatre noues en Novembre 2015 et estimation du contenu en azote et phosphore. Dans les noues A, C et D la biomasse et le contenu en nutriments représentent le stockage depuis la plantation des saules en 2009. _____ 139

Tableau 4-7: Estimation du contenu en azote (Nminéral) et phosphore (P-PO₄) apporté par irrigation durant la période d'étude (Novembre 2013 à Juin 2015), retenu par le sol sur 105 cm et par les rameaux de saules et quantité d'azote et phosphore total retenue par les 105 premiers cm du sol. (Feuille de calcul en annexe 4) _____ 141

Chapitre 5- Activité microbienne des zones tampon végétalisées

Tableau 5-1: Paramètres d'irrigation, chimie du sol et de l'eau des noues des Zones Tampon Végétalisées de Raon, Liebsdorf et Colmar le jour de l'échantillonnage de la biomasse microbienne. _____ 148

Tableau 5-2: Quantité de N-NH₄ et N-NO₃ apportée lors de l'irrigation des noues, contenue dans le sol et quantité potentielle de N-NO₃ produit par nitrification et de N-N₂O produit par dénitrification durant le mois de mars 2015 sur les 30 premiers cm de sol. Les quantités apportées dans la noue 1 de Raon ne sont pas déterminables (ND = non déterminé) car une quantité d'eau négligeable arrive dans cette noue. _____ 165

Chapitre 6- Rétention des nutriments dans la biomasse végétale des Zones Tampon Végétalisées

Tableau 6-1: Contenu moyen en azote et phosphore (%PS) dans les parties aériennes d'espèces macrophytes collectées dans la ZTV de Liebsdorf, et dans des zones humides naturelles. _____ 177

Tableau 6-2: Biomasse (PS/m²) et contenu en azote (N) et phosphore (P) des parties aériennes des espèces d'hélophytes estimé en Septembre 2014 (excepté Veronica dont les données datent de septembre 2013) dans la ZTV de Liebsdorf. Le détail des calculs se trouve en annexe 5. _____ 179

Tableau 6-3: Biomasse moyenne mesurée en Septembre 2014, et contenu moyen en azote et phosphore d'un individu de saule planté sur le site de Raon. Le détail des calculs se trouve en annexe 6. _____ 186

Tableau 6-4 : Quantité de litière (nécromasse), d'azote et de phosphore contenus dans cette litière au m² dans les zones tampon végétalisées de Liebsdorf et Raon (mesurée en 2015). _____ 187

Tableau 6-5 : Comparaison entre la biomasse de saule estimée via le protocole testé et la biomasse obtenue après la coupe des saules de la ZTV de Raon pour une surface de ZTV de 240 m². _____ 191

Liste des figures

Chapitre 1- Etat des connaissances sur l'élimination des nutriments, azote et phosphore, dans les zones humides

Figure 1-1: Composés de la matière organique du sol et leur fonction. (Tiré de Bot and Benites, 2005)	6
Figure 1-2 : Réactions de transfert de l'azote. NH_4^+ = ammonium, NO_2^- = nitrite, NO_3^- = nitrate, NO = oxyde d'azote, N_2O = oxyde nitreux, N_2 = diazote.	13
Figure 1-3 : Réactions impliquées dans le processus Anammox. (Tiré de Saeed and Sun, 2012)	14
Figure 1-4 : Cycle terrestre du phosphore. (Modifié du site SOTT (signes of the time) et site seillero)	19
Figure 1-5 : Exemple d'eutrophisation en zone côtière (A), dans un canal (B) et dans un lac (C).	27
Figure 1-6 : Processus d'eutrophisation en lac. Modifié du site mille-isles.ca	27
Figure 1-7 : Photo de l'expérience d'eutrophisation réalisée dans le grand lac Ontario au Canada. Le lac a été séparé en deux par une bêche étanche. Les deux parties ont été amendées avec la même quantité d'azote et carbone, seule la partie inférieure a reçu du phosphore. La couleur verte claire est due à la prolifération d'algues vertes microscopiques. Source : site astrosurf.com	28
Figure 1-8 : Schéma du concept de base du traitement par boues activées. (Tiré de Cardot (2010)	33
Figure 1-9: Les différents traitements possibles d'une station d'épuration dite « classique »	33
Figure 1-10: Schéma du processus de boues activées a) à deux bassins b) à bassin unique, adapté à l'élimination de l'azote par nitrification/dénitrification.	34
Figure 1-11 : Schéma du principe amélioré d'élimination biologique du phosphore (Mañas Llamas (2011). VFA= Acides gras volatils (volatil Fatty Acids), PHA= poly-β-alcanoates, PP= Polyphosphates, GLY= glycogène	35
Figure 1-12: Procédé Phoredox. Tiré de Oldham and Stevens, (1984)	36
Figure 1-13 : Voie d'écoulement de l'eau dans un bassin versant agricole. Les deux zones du haut sont déconnectées hydrologiquement de la zone humide. Tiré de Girard et al. (2007)	40
Figure 1-14 : Schéma d'un filtre planté de roseaux à écoulement vertical (source : Epnac.irstea.fr)	42
Figure 1-15 : Schéma d'un filtre planté de roseaux à écoulement horizontal. Source Epnac.irstea.fr	43
Figure 1-16 : Photo d'un bassin lagunaire. Source: site traitement des eaux	46
Figure 1-17 : Schéma de la filière lagune. Source : assainissement.ooreka.fr	46
Figure 1-18 : Photo d'un taillis à très courte rotation de peuplier (TTCR). Source : site charleslebbe.be	48
Figure 1-19 : Classification des zones tampon végétalisées (Prost-Boucle et Boutin, 2013). FPR=Filtres plantés de roseaux	52
Figure 1-20 : Processus hydrauliques lors de la fertirrigation d'une ZTV (modifié de Licht and Isebrands, 2005)	53
Figure 1-21 : Zonation transversale des espèces végétales dans un étang. (Source: http://atelierpeche.free.fr)	56
Figure 1-22: Rôle fonctionnel de la ripisylve. (Source: http://atelierpeche.free.fr)	57

Chapitre 2 -Matériel et méthodes

<i>Figure 2-1: Station de Raon sur Plaine A : plan représentatif des différentes structures de la station, B : photographie aérienne de la station (source géoportail, données 2010), C et D : photographies de la station (Mai 2014, source personnelle)</i>	60
<i>Figure 2-2 : Répartition de la végétation dans les deux noues de la ZTV de Raon sur Plaine. Les saules numérotés de 1 à 3 sont ceux choisis pour l'étude du contenu en nutriment, ceux numérotés de 1 à 16 sont les saules sélectionnés pour l'étude de la biomasse</i>	61
<i>Figure 2-3: Station de Liebsdorf A : plan représentatif des différentes structures de la station, B : photographie aérienne de la station (source géoportail, données 2010), C et D : photographies de la station (source personnelle)</i>	63
<i>Figure 2-4 : Répartition de la végétation dans les deux noues parallèles de la ZTV de Liebsdorf, A : Mars 2013, B : Mars 2014</i>	65
<i>Figure 2-5 : Site expérimental de Colmar. A : plan représentatif des différentes structures du site. Les traits de couleurs montrent les interactions possibles entre les étages de traitement et la Zone Tampon, B : photographie aérienne du site. (Source Google Earth, données 2012), C : : photographie du site lors de sa construction (source personnelle)</i>	67
<i>Figure 2-6: Schéma représentant les différents aménagements apportés à la Zone Tampon expérimentale de Colmar. Sur cette figure, sont représentées les 4 demi-noues utilisées pour l'étude</i>	69
<i>Figure 2-7 : Répartition des espèces ligneuses dans la ZTV de Colmar. Les parties en vert sont celles conservées pour l'étude. Les saules échantillonnés ont été choisis selon l'espèce et l'emplacement dans la noue.</i>	70
<i>Figure 2-8: Remplissage des cuves. A : préparation de la solution de KH_2PO_4 et KNO_3 dans un bidon de 10L. (Source personnelle), B : cuve de 1m³ en cours de remplissage. (Source personnelle)</i>	74
<i>Figure 2-9: Fertirrigation. A : tuyaux incendie raccordés à la borne incendie. (Source personnelle). B : cols de cygne raccordés à une série de tuyaux incendie par un T. (Source personnelle). C : raccordement de l'arrivée d'eau principale (tuyau noir) et de la cuve (tuyau rose) à la noue (tuyau bleu). (Source personnelle). D : répartition de l'eau sur toute la longueur de la noue à l'aide d'un tube PVC raccordé au tuyau bleu. (Source personnelle)</i>	75
<i>Figure 2-10: Points de prélèvement d'eau sur le site de Raon sur Plaine</i>	76
<i>Figure 2-11: Points de prélèvement d'eau sur le site de Liebsdorf</i>	77
<i>Figure 2-12: Prélèvement d'eau dans les céramiques poreuses. A : schéma du système de prélèvement d'eau dans des céramiques poreuses, B : photo du système (source personnelle)</i>	79
<i>Figure 2-13: Photo représentant la fosse creusée dans la noue C de Colmar. Les pics de couleurs montrent la limite entre les différents horizons. (Source personnelle)</i>	80
<i>Figure 2-14: Photo représentant une ZTV avec des saules recépés et non-recépés. (Source personnelle)</i>	84

Figure 2-15: Détermination de la biomasse fraîche à l'aide d'un peson (Source personnelle)	85
Figure 2-16: Technique 5du bac à sable et à Kaolin (Source : site du laboratoire des sols de l'UNISTRA)	89
Figure 2-17: Mesure du Ks par la méthode du perméamètre à charge constante. (Source : Laboratoire des sols UNISTRA)	90

Chapitre 3- Impact de zones tampon végétalisées, recevant les effluents de station d'épuration, sur les transferts d'azote et phosphore⁹⁷

Figure 3-1: Schematic representation of Liebsdorf and Raon Vegetated Buffer Zone. D= Ditch	102
Figure 3-2: Comparison of average concentrations of nitrogen and phosphorus in water, between input, middle and output of each ditch at Raon and Liebsdorf VBZs (wilcoxon-test). Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations. D = ditch, TP = total phosphorus. Liebsdorf: N = 12, Raon D1: N=4, Raon D2: N = 12. The scales are different for the two sites	109
Figure 3-3: Total nitrogen and phosphorus average amounts in plants. Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations. R= Raon, L=Liebsdorf, He=Helophyte	113

Chapitre 4- Transferts de nutriments sous conditions contrôlées dans un site expérimental

Figure 4-1: Concentrations moyennes de la solution du sol, après fertirrigation, en azote ammoniacal (N-NH ₄), azote nitrique (N-NO ₃) et phosphore des phosphates (P-PO ₄) à différentes profondeurs du sol de chacune des noues. Les lettres permettent une comparaison des concentrations pour les différentes profondeurs d'une même noue. Le test statistique a été réalisé au sein de chaque noue. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). BP25=bougie poreuse 25cm, BP50=bougie poreuse 50cm, BP75=bougie poreuse 75cm et BP100=bougie poreuse 100cm. N=taille de l'échantillon. La noue A représente la noue témoin.	126
Figure 4-2: Concentrations moyennes en azote ammoniacal, azote nitrique et phosphore des phosphates dans la solution du sol, prélevée dans les 4 noues et à plusieurs profondeurs, après fertirrigation (fertirrigation) et après période sans aucune irrigation (hors irrigation). Taille de l'échantillon pour fertirrigation : 5 ≤ N ≤ 11. Taille de l'échantillon hors irrigation : 1 ≤ N ≤ 3.	128
Figure 4-3: Contenu moyen en ammonium(mg/kg PS), nitrate (mg/kg PS) , azote organique (mg/g PS)(N organique), phosphore assimilable (mg/g PS) (P assimilable) et phosphore total (mg/g PS) (P total) dans le sol des 4 noues (NA= noue A, NB= noue B, NC= noue C et ND= noue D) du site de Colmar et à 5 profondeurs (CI= couche I : 0-5 cm, CII= couche II : 20-30 cm, CIII= couche III : 45-55 cm, CIV=couche IV : 70-80 cm et CV= couche 5 : 95-105 cm). La série notée A compare le contenu en nutriments du sol entre les différentes profondeurs d'une même noue. La série B compare le contenu en nutriments du sol entre les différentes noues pour une même profondeur. Le test statistique a été réalisé pour chaque couche. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N=5.	132
Figure 4-4: Variation du contenu en ammonium, nitrate, azote organique (N organique), phosphore assimilable (P assimilable) et phosphore total (P total) dans le sol des 4 noues du site expérimental de Colmar entre le début	

de l'étude (Août 2013) et la fin de l'étude (Avril 2015) à 5 profondeurs (CI= couche I : 0-5 cm, CII= couche II : 20-30 cm, CIII= couche III : 45-55 cm, CIV= couche IV : 70-80 cm et CV= couche V : 95-105 cm). _____ 135

Figure 4-5: Contenu moyen en azote (N) et phosphore (P) dans les feuilles (F) et rameaux (R) des saules des noues A (NA), B (NB), C (NC) et D (ND) de la zone expérimentale de Colmar. Cette moyenne a été calculée à partir des données de toutes les campagnes de terrain confondues. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N= taille de l'échantillon. _____ 139

Chapitre 5- Activité microbienne des zones tampon végétalisées

Figure 5-1: Biomasse bactérienne totale (Nombre de copies du gène ARNr 16S) en entrée et milieu de noue et à deux profondeurs (0-5 cm et 15-25 cm) du sol des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. AvI= avant irrigation, ApI= après irrigation, AvF= avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Taille de l'échantillon=2. _____ 150

Figure 5-2: Biomasse bactérienne du sédiment des ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4 _____ 150

Figure 5-3: Biomasse nitrifiante (Nombre de copies du gène amoA) en entrée et milieu de noue et à deux profondeurs (0-5 cm et 15-25 cm) du sol des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. AvI= avant irrigation, ApI= après irrigation, AvF= avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation, ND= Non déterminé. Taille de l'échantillon=2. _____ 152

Figure 5-4: Variation de la biomasse nitrifiante dans les différentes ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4 _____ 152

Figure 5-5: Nitrate (N-NO₃) produit et ammonium (N-NH₄) consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et milieu des noues de la ZTV de Liebsdorf. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noue, Na= pas de valeurs. 1 ≤ Taille de l'échantillon ≤ 3 _____ 154

Figure 5-6: Nitrate (N-NO₃) produit et ammonium (N-NH₄) consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et milieu des noues de la ZTV de Raon. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N= noue. 1 ≤ taille de l'échantillon ≤ 3 _____ 154

Figure 5-7: Nitrate N-NO₃ produit et ammonium N-NH₄ consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant des différentes noues de la ZTV de Colmar avant et après fertirrigation. A noter que dans la noue A témoin, une simple irrigation sans ajout a été réalisée. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N= Noue. Taille de l'échantillon=3 _____ 155

Figure 5-8: Comparaison du N-NO₃ produit et N-NH₄ consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant des noues de la ZTV de

<i>Colmar avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3</i>	155
<i>Figure 5-9: Biomasse dénitrifiante (Nombre de copies du gène nirK) en entrée et milieu de noe et 0-5 cm et 15-25 cm de profondeurs du sol des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. AvF= avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Taille de l'échantillon=2.</i>	157
<i>Figure 5-10: Variation de la biomasse dénitrifiante dans les différentes ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4</i>	157
<i>Figure 5-11: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et du milieu des noe de la ZTV de Liebsdorf en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25cm). Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3</i>	158
<i>Figure 5-12: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et du milieu des noe de la ZTV de Raon en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25cm). Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3</i>	158
<i>Figure 5-13: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol de surface (0-5 cm) et de profondeur (15-25 cm) provenant des différentes noe de la ZTV de Colmar avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3.</i>	159
<i>Figure 5-14: Production d'oxyde d'azote (N-N₂O) en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol de surface (0-5 cm) et de profondeur (15-25 cm) provenant des noe de la ZTV de Colmar, entre avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3</i>	159

Chapitre 6- Rétention des nutriments dans la biomasse végétale des Zones Tampon Végétalisées

Figure 6-1 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les parties aériennes de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (Veronica beccabunga, Mentha aquatica, Poa palustris, Juncus sp, Lemna minor, Iris pseudacorus, Typha latifolia, Sparganium erectum, Carex acutiformis et Phragmites australis) et Raon (Lemna minor). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (pvaleur<0,05, wilcoxon test). 3≤taille de l'échantillon≤27

Figure 6-2 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les racines de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (Veronica beccabunga, Mentha aquatiris, Iris pseudacorus, Typha latifolia, Sparganium erectum, Carex acutiformis et Phragmites australis). Des lettres différentes marquent une

différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (pvaleur<0,05, wilcoxon test). 3≤taille de l'échantillon≤18	172
Figure 6-3 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les rhizomes de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (<i>Iris pseudacorus</i> , <i>Typha latifolia</i> , <i>Sparganium erectum</i> , <i>Carex acutiformis</i> et <i>Phragmites australis</i>). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (pvaleur<0,05, wilcoxon test). 3≤taille de l'échantillon≤18	173
Figure 6-4: Contenu en azote (N) et phosphore (P) en mg/g PS dans les parties aériennes, racines et rhizomes des macrophytes plantés sur le site de Liebsdorf. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). Le nombre entre parenthèses indique la taille de l'échantillon.	175
Figure 6-5 : Boîtes à moustache des ratios N/P dans les parties aériennes de <i>Juncus sp</i> (Ju, N=95), <i>Veronica beccabunga</i> (Ver, N=18), <i>Mentha aquatica</i> (Men, N=37), <i>Typha latifolia</i> (Ty, N=57), <i>Iris pseudacorus</i> (Ir, N=32), <i>Poa palustris</i> (Poa, N=21), <i>Lemna minor</i> (Lem, N=27), <i>Phragmites australis</i> (Phrag, N=28), <i>Sparganium erectum</i> (Sparg, N=24) et <i>Carex acutiformis</i> (Car, N=29).	178
Figure 6-6: Contenu en azote des feuilles et rameaux de saules des sites de Raon et Liebsdorf sur la période de végétation. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=Taille de l'échantillon.	181
Figure 6-7: Contenu en phosphore des feuilles et rameaux de saules des sites de Raon et Liebsdorf à différents mois. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). N=Taille de l'échantillon.	182
Figure 6-8: Contenu en azote (N) et phosphore (P) en mg/g PS des feuilles et rameaux des espèces de saules plantées sur les sites de Raon, Liebsdorf et Colmar. Des lettres différentes marquent une différence significative (pvaleur<0,05, wilcoxon test). Le nombre entre parenthèses indique la taille de l'échantillon.	184
Figure 6-9 : Boîtes à moustache des ratios N/P dans les feuilles de saules de Raon (N=80), Liebsdorf (N=75) et Colmar (N=142).	186
Figure 6-10: Relation linéaire des poids sec des tiges (g) en fonction de leur longueur (cm) pour les quatre espèces de saules présents dans la ZTV de Raon. R ² = coefficient de détermination. Y=ax+b est la formule expliquant le maximum des points.	190
Figure 6-11: Relation linéaire des poids sec des tiges (g) en fonction de leur diamètre basal (mm) pour les quatre espèces de saules présents dans la ZTV de Raon. R ² = coefficient de détermination. Y=ax+b est la formule expliquant le maximum des points.	191

Introduction

L'eau est une ressource indispensable à la vie, il est donc impératif de la préserver c'est à dire de la maintenir de bonne qualité et en quantité suffisante. La source d'eau la plus facile à utiliser pour la consommation humaine, l'irrigation ou encore l'industrie agro-alimentaire est l'eau de surface (cours d'eau, plans d'eau) puisque l'eau y est libre. Or, ces derniers, milieux récepteurs de nombreux rejets, sont de plus en plus pollués. L'une des conséquences de ces rejets dans le milieu naturel, est l'augmentation de la charge en azote et surtout en phosphore provoquant une eutrophisation des eaux.

Bien que l'eutrophisation soit un processus naturel observé lors d'apports en nutriments liés à l'érosion ou à la décomposition et minéralisation de la matière organique, les sources anthropogéniques augmentent considérablement les risques d'hyper-eutrophisation. Il est maintenant bien acquis que l'utilisation d'engrais en agriculture représente une importante source diffuse de nutriments dans les cours d'eau et les nappes phréatiques, participant ainsi au phénomène d'eutrophisation (Ulén et al., 2007). Mais il existe aussi des sources ponctuelles de nutriments telles que les effluents de sortie de stations d'épuration des eaux usées. Ces derniers constituent le risque le plus important pour l'eutrophisation des rivières, notamment car ils sont chargés en phosphates solubles directement assimilables par les organismes (Jarvie et al., 2006).

Le problème posé par les rejets de stations d'épuration dans les masses d'eaux naturelles est réel ; en effet, il n'est pas rare que ces dernières présentent des teneurs en azote et en phosphore supérieures aux seuils réglementaires, et provoquent des proliférations végétales incontrôlées (Jarvie et al., 2006).

Afin de respecter ces normes de rejets, de plus en plus de stations d'épuration classiques sont munies d'un système de traitement tertiaire. Dans les années 50, Kate Seide, botaniste allemande, a mis au point des stations d'épuration végétalisées par filtres plantés de macrophytes, en traitement principal et tertiaire, largement inspirés du fonctionnement des zones humides. Or, dans ces zones humides, les boisements riverains ont démontré une certaine efficacité dans l'abattement de l'azote et du phosphore provenant de sources diffuses (Ruffinoni

et al., in Piégay et al. 2003 ; Sanchez-Perez et al., 1991; Sanchez-Pérez et al., 2003). Partant de ce constat, plusieurs entreprises spécialisées dans la « phytoépuration » ont proposé d'aménager des zones de dispersion végétalisées en traitement tertiaire appelées Zones Tampon Végétalisées (ZTVs), afin de protéger au mieux le milieu récepteur.

Cette méthode de traitement par infiltration/percolation/évapotranspiration est en plein essor. En effet, même si en France l'implantation de ZTVs est récente et augmente depuis ces dix dernières années (<http://www.loire.fr>), en Suède, l'implantation de taillis à très courte rotation (TTCR) suite à la crise pétrolière de 1970 s'est largement développée et représente à l'heure actuelle 16 000 ha du territoire national, le modèle le plus connu étant celui de la ville d'Enköping où 75 ha sont fertirrigués par des eaux d'égouttage des boues qui permettent la production de 9 T(MS)/ha/an de bois utilisé pour le chauffage.

Les ZTVs consistent en l'irrigation d'une zone plantée d'espèces ligneuses et/ou de macrophytes, les espèces ligneuses y sont recépées généralement tous les deux à cinq ans. Le rôle de ces ZTVs est d'éviter un rejet des eaux et des minéraux eutrophisants, entre autre, dans le milieu récepteur. Contrairement aux taillis à très courte rotation Suédois, implantés sur des parcelles de grandes surfaces avec des densités d'espèces ligneuses importantes, les ZTVs sont implantées sur la surface restante des parcelles de stations d'épuration sans cahier des charges établi.

De nombreuses études ont été menées sur les filtres plantés de macrophytes et les taillis à très courte rotation montrant une efficacité de ces zones humides construites en termes de rétention et d'élimination de l'azote et du phosphore, ainsi que du rôle primordial des plantes dans les TTCRs. Cependant le résultat de ces études n'est pas totalement transposable aux ZTVs telles qu'elles sont implantées dans les stations d'épuration en France. D'une part les ZTVs utilisent le plus souvent le substrat en place et sont des systèmes ouverts sans équipements supplémentaires, au contraire des filtres plantés qui sont constitués d'un substrat rapportés avec utilisation d'une géomembrane et dans certains cas de systèmes d'oxygénation du substrat. D'autre part, contrairement aux TTCRs de grandes surfaces et de densité de ligneux importante, les ZTVs utilisent la surface restante avec des densités de saules inférieures et la présence en plus dans certains cas d'espèces macrophytes. Or très peu d'études abordent spécifiquement le rôle des ZTVs dans les transferts de polluants et notamment d'azote et phosphore. Ces ZTVs étant de plus en plus implantées en France, il est donc important de com-

prendre au mieux leur fonctionnement notamment dans les transferts de nutriments, puisque l'élimination de ces derniers est l'un des objectifs principaux attendus par les communes.

C'est dans ce contexte d'augmentation de l'implantation des zones tampon végétalisées, que ce projet a été proposé et mis en œuvre grâce à la collaboration notamment de la Région Alsace, de l'Agence de l'Eau Rhin Meuse, de Cristal Union via la sucrerie d'Erstein, d'Olry Arkedia, de Rittmo et de l'Atelier REEB et à l'accueil du LHyGeS (Laboratoire d'hydrologie et géochimie de Strasbourg), puis du LIVE (Laboratoire Image Ville Environnement, Strasbourg), avec pour objectif principal de mettre en évidence les mécanismes de réduction des transferts de nutriments (Azote et Phosphore) et les facteurs les influençant. Plus précisément nous tentons de répondre aux questions suivantes :

- La ZTV a-t-elle un impact réel sur les concentrations et les flux d'eau et de nutriments en provenance d'une STEP végétalisée ?
- Quel est l'impact des végétaux sur ces transferts?
- Quel est le rôle du compartiment microbien? Nous nous sommes restreint à l'étude du processus de nitrification versus processus de dénitrification.
- Y-a-t-il un compartiment plus efficace que l'autre entre sol, microflore et/ou plantes ? ou complémentarité entre les 3 compartiments?
- Des modalités particulières de gestion de la végétation (densité, recépage des ligneux ...) peuvent-elles modifier l'efficacité des ZTVs?

Pour répondre à ces questions, la méthodologie qui suit a été mise en place. Nous avons retenu 3 sites d'études où le contenu en nutriments dans les compartiments Eau-Sol-Plante ainsi que la biomasse végétale et microbienne ont été déterminés. Les sites sont deux STEPs en activité : Liebsdorf où la STEP est complétée d'une ZTV avec plantation de saules sur les berges et de macrophytes à l'intérieur des noues (tranchées) et Raon sur Plaine où la STEP est complétée d'une Zone Tampon Boisée plantée exclusivement de saules. Le troisième site est une zone pilote expérimentale située à Colmar, dont 3 noues sont fertirriguées une fois par mois en nitrates et phosphates et une noue témoin irriguée avec de l'eau du réseau sans apports supplémentaires. Sur ce site sont aussi testés l'impact du recépage et de la densité des saules.

Afin de mieux répondre aux problématiques, l'étude a été découpée en plusieurs chapitres reportés dans ce manuscrit.

Le **chapitre 1** intitulé «Etat des connaissances sur l'élimination des nutriments, azote et phosphore, dans les zones humides » est un résumé bibliographique des connaissances acquises sur l'élimination de l'azote et du phosphore dans les eaux naturellement polluées et les eaux brutes.

Le **chapitre 2** intitulé « Matériel et méthodes » décrit de manière précise la méthodologie mise en place pour mener cette étude. Les sites d'études, l'échantillonnage sur le terrain, les techniques d'analyses et les tests statistiques utilisés y sont décrits.

Le **chapitre 3** intitulé « Impact de zones tampon végétalisées, recevant les effluents de station d'épuration, sur les transferts d'azote et phosphore » porte sur les transferts de nutriments au sein des compartiments Eau-Sol-Plante des ZTVs de deux sites Raon et Liebsdorf aux caractéristiques physico chimiques différentes et non contrôlées.

Le **chapitre 4** intitulé « Transferts de nutriments sous conditions contrôlées d'apports de nutriments et de gestion de la végétation ligneuse dans un site expérimental » constitue la même démarche que pour le chapitre 3, à savoir l'étude de transfert des nutriments dans les compartiments Eau-Sol-Plante, mais dans une ZTV expérimentale où les conditions d'irrigation et d'apports de nutriments ont été contrôlés, ainsi que le paramètre densité des ligneux.

Le **chapitre 5** intitulé « Rétention des nutriments dans la biomasse végétale des Zones Tampon Végétalisées » est dédié entièrement à la végétation des ZTVs. La capacité de rétention des nutriments des différentes espèces a été comparée, ainsi que la saisonnalité du contenu en nutriments des différents organes de plantes. Les résultats d'un protocole test de détermination de la biomasse de saules coupés en têtard ont été présentés.

Le **chapitre 6** intitulé « Activité microbienne des zones tampon végétalisées » s'est focalisée sur les modifications du cycle de l'azote : et porte sur l'étude de la biomasse bactérienne totale ainsi que de la nitrification et dénitrification potentielle dans les trois sites de l'étude.

Le **chapitre 7** intitulé « Bilan des transferts de nutriments au sein des ZTVs et Perspectives » est un chapitre reprenant les résultats des chapitres précédents, afin de proposer des réponses aux questions et objectifs fixés et donnant des perspectives de gestion et de futures études sur ces ZTVs.

Chapitre 1

Etat des connaissances sur l'élimination des nutriments, azote et phosphore, dans les zones humides

1 Azote et Phosphore

Les processus impliqués dans les cycles de l'azote et du phosphore s'avèrent très différents. Alors que le cycle de l'azote est régi principalement par des processus biologiques, le cycle du phosphore intègre plus de processus physico-chimiques. Cependant, une étape commune à tous les cycles biogéochimiques dont ceux de N et P est la décomposition de la matière organique.

1.1 Décomposition de la matière organique (Bot and Benites, 2005)

1.1.1 Composition de la matière organique

La matière organique est l'ensemble du matériel produit par des organismes vivants (plantes et animaux, champignons...) et qui peut être décomposé en produits « simples » et minéralisés. On l'appelle la biomasse pour le matériel vivant et la nécromasse pour le matériel mort qui va être décomposé par les microorganismes. Dans le sol on recense deux types de matière organique : les composés non humiques (protéines, acides aminés, sucres,...) qui sont éliminés directement des résidus frais, facilement décomposés sous forme de CO₂, H₂O, etc. (part active) et l'humus issu de la transformation par les microorganismes (**Figure 1-1**). L'humus se lie facilement aux argiles pour former le complexe argilo-humique qui assure des interactions avec la plupart des éléments ionisés ; il présente une capacité d'échange d'ions, cations et certains anions comme les phosphates et les sulfates, et participe ainsi à la fertilité du sol et donc à l'amélioration de la croissance des plantes mais aussi à la régulation du pH et à la rétention de l'eau. (Schnitzer, 1986).

1.1.2 Mécanismes et acteurs de la décomposition de la matière organique

La décomposition de la matière organique (MO) est un processus comprenant une rupture physique et une transformation biochimique de composés complexes en composés organiques moins complexes et composés inorganiques. Selon la composition de la MO, la décomposition est plus ou moins rapide: rapide avec des composés comme les sucres et protéines, lente avec des composés tels que la cellulose et les résines et plus lente encore avec la lignine. Elle modifie les propriétés du sol: augmentation des agrégats, coloration noire et meilleure rétention des nutriments. Cette décomposition est réalisée par des microorganismes de type saprophytes détritivores, champignons, bactéries, actinomycètes et autres organismes qui la favorisent comme les lombrics. Cette décomposition est accélérée lors d'un meilleur fractionnement des résidus et lors de rajouts d'organismes protozoaires (Harrison and Mann, 1975). L'humification concerne les composés qui ne subissent pas de minéralisation primaire (composés humiques) et qui vont servir de base à l'édification de molécules nouvelles de plus en plus complexes à travers l'action directe et indirecte de la microflore et de la faune du sol. Ces nouveaux composés seront ensuite minéralisés, mais plus lentement (Duchaufour, 2001)

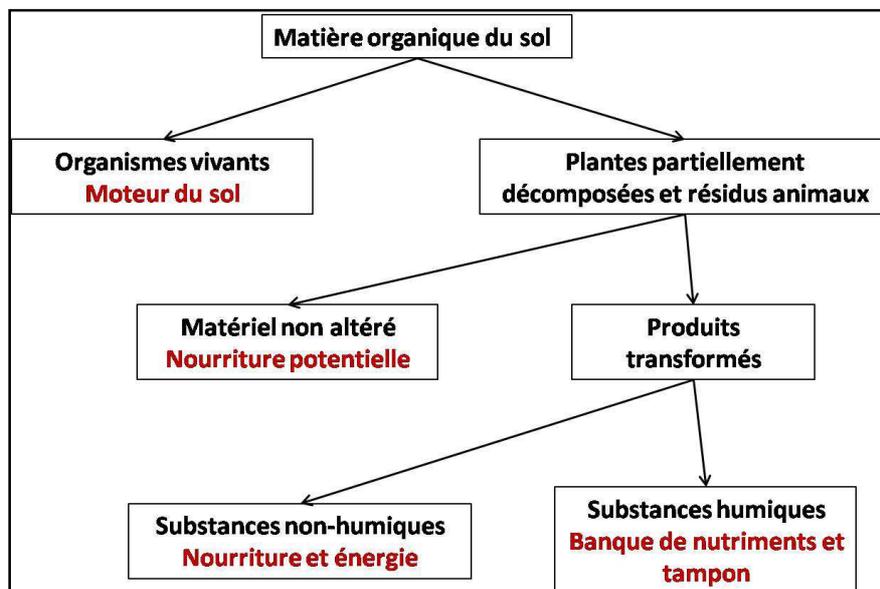


Figure 1-1: Composés de la matière organique du sol et leur fonction. (Tiré de Bot and Benites, 2005)

1.1.3 Facteurs influençant la décomposition de la MO

La décomposition de la MO augmente avec la température. Elle est plus efficace dans les zones tropicales que dans les climats tempérés et la vitesse de décomposition double tous les 8-9°C (Jenkinson and Ayanaba, 1977). La meilleure activité microbienne pour la décomposi-

tion a été déterminée pour 60% de remplissage d'eau des espaces poreux du sol (Linn and Doran, 1984). Cependant sous des conditions de saturation en eau prolongée, on observe une baisse de la décomposition de la matière organique et une accumulation de cette dernière due à une baisse de la biomasse bactérienne aérobie. On note aussi une influence importante de la texture du sol. Dans un sol argileux et à forte quantité d'agrégats, la baisse du taux de décomposition de la MO est due à sa liaison aux particules du sol, ce qui la rend moins disponible aux attaques des microorganismes (Veen and Kuikman, 1990). Les pH extrêmes ainsi que les faibles taux d'oxygène nuisent à la décomposition de la matière organique en inhibant la biomasse bactérienne, ainsi que la production végétale (McLatchey and Reddy, 1998). Enfin, la qualité de la MO est déterminante dans la vitesse de décomposition. Plus encore que le climat, l'espèce végétale est un facteur important. Les plantes ayant un faible ratio C/N dans les feuilles se décomposent plus vite. Plus la MO contient un pourcentage important de lignine, plus la décomposition est lente car la lignine interfère dans la dégradation enzymatique de la cellulose et autres carbohydrates, et sous des formes moins complexes partiellement dégradées elle participe à la formation de l'humus (Melillo et al., 1982). De plus la rhizosphère aurait un effet positif sur la décomposition de la matière organique du sol en produisant des exsudats attractifs pour les microorganismes, plus particulièrement lors de la photosynthèse et de la saison de croissance (printemps-été), alors que la respiration et la saison hivernale (automne-hiver) favoriseraient l'humification des résidus de plantes (Kuzyakov and Cheng, 2001). Enfin la stratégie écologique, telle que la stratégie nutritive, adoptée par les espèces en lien avec les cycles biogéochimiques, serait un facteur ayant un impact non négligeable sur la décomposition de la MO. En effet, la stratégie « économique » utilisée par la plante pour le gain en carbone et donc leur croissance a un impact important sur la vitesse de décomposition ainsi que le pourcentage d'azote dans la feuille verte. Ainsi les composants des feuilles caduques auraient une vitesse de décomposition 60% plus rapide que les espèces persistantes (Cornwell et al., 2008).

1.2 Le cycle de l'azote

L'azote est un élément majeur de la planète Terre. Il est présent dans tous les compartiments : roche, sol, atmosphère, eau et dans les êtres vivants. Il est donc primordial de connaître son cycle pour mieux appréhender ses transferts dans les différents compartiments à l'échelle de l'écosystème et à celle de la Terre.

1.2.1 Les formes de l'azote

Les différentes formes du cycle de l'azote correspondent à différents degrés d'oxydation, et sont retrouvées sous les trois formes physiques existantes : Solide, liquide et gaz.

1.2.1.1 Le diazote

Le diazote (N_2) est un gaz inerte et très stable de par sa triple liaison covalente. Il est le composant principal de l'atmosphère (78%).

1.2.1.2 Azote géologique

L'un des compartiments contenant une importante quantité d'azote sont les roches (nitro-natrite, letovicite,...). Cet azote provient de la matière organique fixée par sédimentation mais aussi du manteau d'origine et peut même avoir une source météorique. Cet azote naturellement exposé par érosion de la roche, phénomène largement amplifié par les activités humaines, représenterait 20% de l'azote global. La concentration moyenne serait de 1,27 mg N/kg (Allègre et al., 2001) pouvant dans certaines couches, notamment sédimentaires, atteindre les 1000 mg N/kg. Dans certaines régions et lors d'épisodes orageux violents, ces roches peuvent devenir une source importante de nitrates pour les écosystèmes aquatiques par ruissellement (Holloway et al., 1998, Holloway and Dahlgren, 2002).

1.2.1.3 Azote organique

L'azote organique est l'azote incorporé dans les êtres vivants ainsi que dans la nécromasse (cadavres). Il représente une part importante de l'azote puisque ce dernier rentre dans la composition des protéines qui en contiennent en moyenne 16 %, ainsi que dans celle de molécules telles que la chlorophylle, le collagène et la chitine des arthropodes. Dans le sol, la quantité d'azote organique est faible car il peut être rapidement minéralisé (Ohkouchi and Takano, 2014). Cependant dans les sols inondés on observe un ralentissement de la décomposition de la matière organique, et donc un stock plus important d'azote organique (Reddy et al., 1984).

1.2.1.4 Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal (NH_4) est la forme la plus réduite de l'azote. Il existe une forme non dissociée appelée ammoniac (NH_3) majoritairement gazeuse mais qui peut être parfois solubilisée dans l'eau. L'ammoniac est en équilibre avec une forme dissociée appelée ammonium (NH_4^+), soluble dans l'eau ($NH_3 + H_2O \leftrightarrow NH_4^+ + OH^-$) (Lemaire and Nicolardot, 1997).

Dans le sol, l'ammonium est une forme prédominante (Reddy et al., 1984) et provient notamment de la dégradation de la matière organique, des eaux usées (bien que les politiques d'assainissement menées depuis quelques décennies aient permis la réduction de ces apports notamment dans les pays développés) et des fertilisants agricoles. L'ammonium, de par sa charge cationique, peut être retenu sur le complexe argilo-humique du sol.

1.2.1.5 Azote nitreux

L'azote nitreux (NO_2^-) est un oxyde d'azote soluble dans l'eau. C'est une forme oxydée intermédiaire produite lors de l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate et lors des réactions de réduction des nitrates. Etant un produit intermédiaire peu stable, l'azote nitreux n'est présent qu'en petite quantité dans l'environnement, même s'il peut, sous certaines conditions, s'accumuler (Lemaire and Nicolardot, 1997).

1.2.1.6 Azote nitrique

L'azote nitrique (NO_3^-) est un oxyde d'azote soluble dans l'eau. Il représente la forme de l'azote la plus oxydée ce qui le rend très mobile dans les sols et donc peu retenu. Dans les écosystèmes aquatiques, l'azote nitrique est très répandu, et, de par sa solubilité, est assimilable par les plantes sous certaines conditions (Cf. §1.2.2.7 Assimilation de l'azote) par les plantes. Il a aussi un rôle d'agent oxydant (Lemaire and Nicolardot, 1997).

1.2.1.7 L'oxyde nitreux

L'oxyde nitreux (N_2O) est un gaz, produit intermédiaire du processus de dénitrification. Il est utilisé en anesthésie sous le nom de protoxyde d'azote (gaz hilarant) et participe à l'effet de serre.

1.2.2 Réactions de transfert de l'azote (Figure 1-2)

1.2.2.1 Ammonification

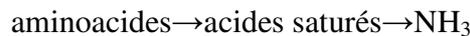
Mécanisme

L'ammonification est la première étape de la minéralisation. Il ne faut pas confondre ammonification et minéralisation, l'ammonification est le passage de l'azote organique à l'azote ammoniacal alors que la minéralisation rassemble tout processus responsable du passage d'une forme organique à une forme minérale. L'ammonification est une hydrolyse enzyma-

tique et une désamination couplée à l'immobilisation de l'azote (Bacon, 1995). C'est une réaction complexe, biochimique, multi-étapes et libératrice d'énergie (Vymazal, 2007). Dans un sol bien oxygéné, Savant and De Datta (1982) décrivent l'ammonification comme une désamination oxydative :



Dans les sols pauvres en oxygène ou anoxiques, Rose, (1976) décrit l'ammonification comme une désamination réductrice :



Le taux d'ammonification peut varier entre 0,004 et 0,53 gN/m²/jour (Reddy and D'Angelo, 1994 ; Tanner et al., 2002).

Facteurs influençant l'ammonification

La température joue un rôle dans le taux d'ammonification qui doublerait tous les 10°C, avec une meilleure ammonification entre 40°C et 60°C et un optimum à 50°C avec une production d'azote de 28µg/g/jour (Reddy et al., 1984 ; Myers, 1975). Le pH optimal se situe entre 6,5 et 8,5 (Reddy et al., 1984). L'ammonification est plus rapide sous aérobiose, car l'activité microbienne y est plus développée, de plus, les conditions aérobies permettent une nitrification simultanée. Le ratio C/N critique sous anaérobiose pour l'ammonification est de 80 alors qu'il est de 23 en conditions anaérobies. Au-dessus de ces ratios, l'ammonification est fortement impactée ; ceci implique que malgré une vitesse d'ammonification plus importante en aérobiose, il y a plus de NH₄ produit en anaérobiose de par un ratio C/N moins restrictif (Reddy et al., 1984). Enfin la vitesse du processus d'ammonification est plus ou moins rapide selon la composition en acides aminés de la matière organique (Ohkouchi and Takano, 2014), mais aussi selon l'espèce de plante considérée (le taux d'ammonification augmente avec les légumineuses) même si ce facteur n'expliquerait que 13 % des différences de taux d'ammonification in situ (Rosenkranz et al., 2012).

1.2.2.2 Volatilisation de l'ammoniac

Mécanisme

La volatilisation de l'ammoniac est un processus physicochimique qui peut être responsable de la faible prise d'azote par les plantes. Il dépend de trois équilibres différents (Lemaire

and Nicolardot, 1997) : i) équilibre entre les ions NH_4 adsorbés sur un complexe argilo-humique et les ions NH_4^+ de la solution du sol (degré de saturation) ii) équilibre entre les ions NH_4 et le NH_3 dissous dans la solution du sol (dépend du pH et de la température) iii) équilibre entre le NH_3 dissous et le NH_3 gazeux (température dépendant). Si la pression partielle du NH_3 dissous dans la solution du sol est supérieure à la pression partielle du NH_3 atmosphérique à la surface du sol il y a volatilisation du NH_3 (Loi d'Henry) (Reddy et al., 1984).

Apports externes favorisant la volatilisation de l'ammoniac

Les apports principaux favorisant la volatilisation d'ammoniac sont les déchets animaux (33 millions de tonnes N/an), les fertilisants (78 millions de tonnes N/an) et l'activité industrielle, mais aussi quoique de moindre importance le trafic routier, les sols naturels, la respiration humaine et la combustion (Buijsman et al., 1987; Bouwman et al., 2002). L'urée et les fluides contenant de l'urée sont ceux produisant le meilleur taux de volatilisation (Jones et al., 2013).

Facteurs influençant la volatilisation de l'ammoniac

Le pH et la température sont des facteurs influençant la volatilisation. Sous pH (8.5 et plus) et températures élevés, la concentration en NH_3 dissous dans la solution du sol augmente et la chaleur ne permet pas au sol de retenir le NH_3 gazeux (Reddy et al., 1984; Jones et al., 2013). La volatilisation dépend aussi du mouvement de l'air, notamment en surface des zones inondées, de la concentration en ammonium, de la nature et de la densité de plantes aquatiques et des radiations solaires. En effet, certaines espèces comme *Typha sp*, *Egeria sp* et certaines algues font augmenter le pH alors que d'autres comme la jacinthe d'eau ou l'hydrocotyle maintiennent un pH neutre (Reddy et al., 1984). Ce phénomène d'augmentation du pH est dû à l'activité respiratoire totale de tous les organismes hétérotrophes et à l'activité photosynthétique brute (Vymazal, 2007).

1.2.2.3 Nitrification

Mécanisme

La nitrification est une réaction en deux étapes, sous conditions aérobies car le dioxygène est utilisé comme accepteur terminal d'électron et où l'énergie libérée est utilisée par les bactéries qui utilisent le carbone pour synthétiser de nouvelles cellules (Bacon, 1995 ; (Vymazal, 2007). Les deux étapes sont les suivantes :

Etape 1) $\text{NH}_4^+ + 3/2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$ réalisée par des bactéries chimiolithotrophes, dépendantes de l'azote pour s'accroître: les genres *Nitrosomonas* et *Nitrospira* et de moindre importance *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobis* et *Nitrosococcus*.

Etape 2) $\text{NO}_2^- + 1/2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$ réalisée par des bactéries chimiolithotrophes facultatives pouvant utiliser l'azote minéral mais aussi les composés organiques, telles que *Nitrobacter* (dans eaux douces) et *Nitrospira* et *Nitrosococcus mobilis* (mers, océans).



L'étape 2 est plus rapide que la première, ce qui évite une accumulation de NO_2^- toxique sauf dans les cas de températures trop basses et de pH trop élevés. Des champignons hétérotrophes tels que *Aspergillus flavus*, *Penicillium* ou encore *Cephalosporium* peuvent en de rares occasions (pH acides) être responsables de nitrification (Paul and Clark, 1996). D'un point de vue cinétique, l'ammonification est plus rapide que la nitrification, permettant ainsi une nitrification continue (Kadlec and Knight, 1996).

Facteurs influençant la nitrification

Outre l'aérobiose, d'autres facteurs comme la température, le pH et la concentration en ammonium influencent la nitrification. La température optimale de nitrification est située entre 25°C et 35°C en culture libre et 30°C et 40°C dans le sol. En dessous de 15°C, la nitrification baisse drastiquement et est limitée. Le pH optimal est situé entre 6,6 et 8 même si on observe de la nitrification à des pH inférieurs (Reddy et al., 1984; Vymazal, 2007). Même si la nitrification semble indépendante de la concentration en substrat, sous pH alcalin, des concentrations trop importantes de NH_4^+ inhibent l'activité de *Nitrobacter*, ceci probablement dû à la production d'ammonium libre (NH_3 dissous) (Aleem and Alexander, 1960; Erh et al., 1967). Enfin la présence de carbone inorganique (ex: CO_2) améliore le taux de nitrification (Reddy and Graetz, 1981).

1.2.2.4 Réduction dissimilative du nitrate en ammonium

Lors du passage en anaérobiose d'un sol, le premier processus mis en place est la réduction dissimilative du nitrate. Contrairement à la réduction assimilative, la réduction dissimilative du nitrate n'incorpore pas ce dernier dans l'organisme responsable de la réaction. Il en existe deux types : la dénitrification (**voir § 1.2.2.6 Dénitrification**) et la réduction dissimilative du nitrate en ammonium (RDNA). Huit électrons sont utilisés par la RDNA contre 5 par

la dénitrification ; il y a donc plus de carbone organique oxydé par molécule de nitrate et l'azote dans le sol est conservé alors que lors de la dénitrification l'azote est perdu sous forme gazeuse. La RDNA prend place dans des milieux pauvres en nitrate mais surtout très riches en carbone (Koike and Hattori, 1978). Or avec un ratio C/N important, la réaction va vers l'organisme accepteur d'électron de plus haute capacité (RDNA), alors qu'avec un ratio C/N faible, la réaction va vers l'organisme qui gagne le plus d'énergie (dénitrification). (Tiedje, 1988 ; Vymazal, 2007). La RDNA est un processus en deux étapes. La première est la « respiration du nitrate » : $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ durant laquelle il y a production d'énergie excepté avec l'espèce *Clostridium* qui utiliserait une enzyme spécifique avec pour donneur d'électron la ferrédoxine. La seconde étape de transformation du NO_2^- en NH_4^+ induit une perte en nitrite, un puisage d'électrons et une production d'énergie (Cole, 1996). Les organismes responsables de la RDNA sont des bactéries ammonificatrices du nitrate, anaérobies strictes ou facultatives. Ce sont le plus souvent des bactéries fermentaires, non dépendantes de la concentration en nitrate telles que *Clostridium*, *E. coli*, *Bacillus* et *Desulfovibrio veillonella*.

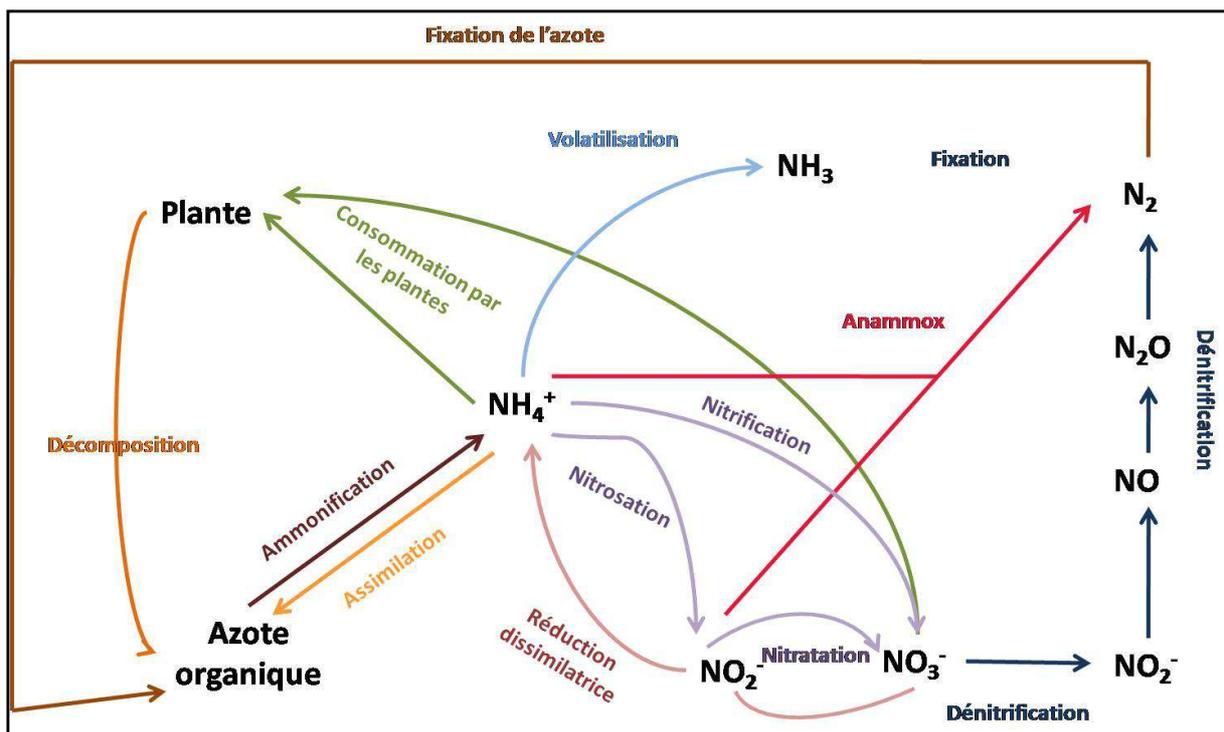


Figure 1-2 : Réactions de transfert de l'azote. NH_4^+ = ammonium, NO_2^- = nitrite, NO_3^- = nitrate, NO = oxyde d'azote, N_2O = oxyde nitreux, N_2 = diazote.

1.2.2.5 Anammox (Anaerobic ammonium oxidation)

Le processus Anammox de transformation du nitrite et de l'ammonium en diazote a été découvert tardivement (1999). La réaction est décrite dans la **figure 1-3**. Il est réalisé par des bactéries de la famille des Planctomycètes au faible taux de croissance et de biomasse (Strous et al., 1997). Il se déroule sous conditions anaérobies sans source externe de carbone requise et consomme peu d'énergie (Saeed and Sun, 2012). L'élimination complète de l'ammonium par le processus Anammox requiert un ratio $\text{NH}_4^+/\text{NO}_2^-$ de 1/1.32 (Dongen et al., 2007). Le pH et la température optimaux sont situés entre 6,7 et 8,3 et 30 et 37°C respectivement (Strous et al., 1999a).

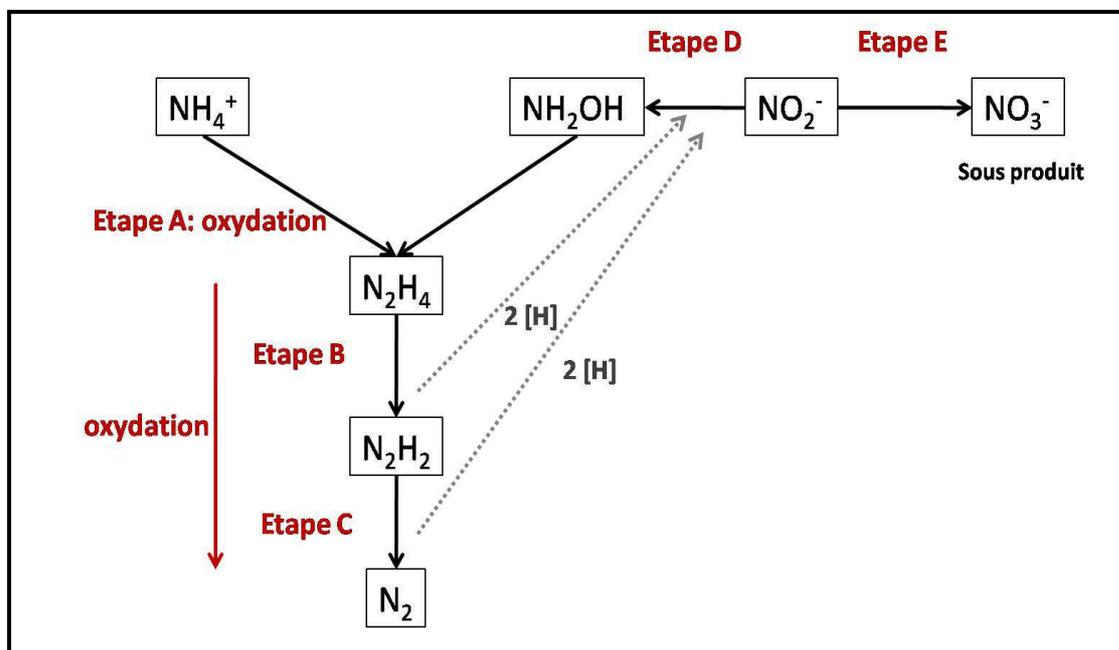


Figure 1-3 : Réactions impliquées dans le processus Anammox. (Tiré de Saeed and Sun, 2012)

Le processus Anammox peut être inhibé par de nombreux facteurs. Une trop grande concentration en ammonium ($>1\text{g N-NH}_4/\text{L}$ d'après Strous et al., 1999b) peut inhiber le processus, mais cette inhibition serait plus le fait de la concentration en ammonium libre (NH_3) (Chen et al., 2008). L'exposition à des concentrations prolongées en nitrite supérieures à 40 mg N/L mènerait à une inactivation irréversible des organismes responsables du processus Anammox (Hulle et al., 2010). De grandes concentrations en matière organique inhibent l'Anammox soit par compétition avec des bactéries hétérotrophes à croissance plus rapide (Chamchoi et al., 2008; Güven et al., 2005), soit par changement de voie métabolique des bactéries responsables de l'Anammox, qui vont utiliser cette matière organique plutôt que l'azote (Kartal et al., 2007). La présence d'oxygène dissous même à très faible pourcentage

(2%) (Strous et al., 1997) ainsi que la présence de métaux lourds, d'alcool, d'aldéhydes, de phénol et d'antibiotiques peuvent inhiber ou réduire le processus (Jin et al., 2012). Enfin, une salinité trop importante peut mener à la plasmolyse ou à la dormance des bactéries responsables d'Anammox ou de nitrification (Jin et al., 2007).

1.2.2.6 Dénitrification

Chimiodénitrification

La dénitrification peut être induite par des agents abiotiques. A pH < 5, il peut y avoir destruction des nitrites dont le principal produit sera l'oxyde d'azote (NO) (Van Cleemput et al., 1976). Lorsqu'il y a présence de grandes émissions de NO on peut donc supputer une chimiodénitrification. Dans des sols gelés, on peut observer une oxydation de l'azote organique par le nitrite qui produit du diazote (Christianson and Cho, 1983).

Mécanisme de la dénitrification bactérienne

La dénitrification est le processus durant lequel le nitrate est converti en diazote via différents produits secondaires : $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. Dans cette réaction multi-étapes, les oxydes d'azote sont des accepteurs terminaux d'électrons, à la place de l'oxygène, dans le processus de transport d'électrons lors de la respiration bactérienne. C'est un processus irréversible, qui requiert la disponibilité d'un substrat organique et des conditions anaérobies ou anoxiques (non strictes : potentiel redox (Eh) entre +350 et 100 mV selon Vymazal (2007)). Chaque étape de la réaction peut être décrite par le modèle de cinétique enzymatique de Michaelis-Menten. La première étape serait induite par la quantité de NO_3^- , NO_2^- et N_2O et réprimée par la présence d'oxygène et la seconde étape inhibée par la présence d'oxygène, la faible quantité de carbone organique et la présence de produits toxiques (métaux lourds) (Tiedje, 1988). Les bactéries qui réalisent la dénitrification sont des organotrophes, lithotrophes, des phototrophes et des diazotrophes mais en majorité il s'agit de chimiolithotrophes tels que *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* (sol) et *Pseudomonas*, *Aeromonas* et *Vibrio* (eau). Il existe aussi des pathogènes de plantes qui dénitrifient tel que *Agrobacterium* spp. De plus la majorité de ces bactéries sont aérobies/anaérobies facultatives, ce qui permet aux bactéries de croître rapidement en aérobiose et à la dénitrification de commencer très vite après la disparition d'oxygène, voire même quelque temps avant, encore sous aérobiose (Iribar et al., 2015; Vymazal, 2007; Tiedje, 1988).

Facteurs influençant la dénitrification

Outre l'anaérobiose, le contenu en carbone organique soluble dans l'eau mais aussi en carbone extractible du sol est un facteur primordial dans le processus de dénitrification qui est fortement et spatialement corrélé à ce contenu. Par extension, la présence de macrophytes aurait un effet bénéfique sur la dénitrification, notamment de par son rôle de source de carbone organique. (Iribar et al., 2015; Pulou et al., 2012; Reddy et al., 1984). Le taux de dénitrification augmente avec la température avec un optimum situé entre 60 et 75 °C et un taux augmenté de 1,5 à 2 fois tous les 10°C. De même le pH influe sur le taux de dénitrification avec un optimum entre 6 et 8,5. La dénitrification est plus active dans des sols argileux avec un pourcentage d'humidité important. Enfin, le taux de colonisation des bactéries ayant le gène *NosZ*, codant pour l'oxyde nitreux réductase, est un bon indicateur du taux de dénitrification (Iribar et al., 2015).

1.2.2.7 Assimilation de l'azote (Marschner, 1986)

Consommation (captage) des nutriments

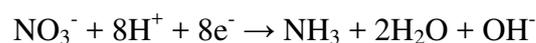
Les formes assimilables sont l'ammonium et le nitrate. L'ammonium est la forme préférentielle pour les microorganismes, les champignons et les plantes. Le choix dépend en grande partie des conditions physico-chimiques du sol. Dans un sol hydromorphe, l'ammonium, forme dominante, va être préféré, dans un sol aérobie où la nitrification est importante c'est le nitrate présent en plus grande quantité qui va être préféré (Vymazal, 2007; Masclaux-Daubresse et al., 2010). Un effet toxique de l'ammonium sur les espèces aquatiques *Elodea* sp a été démontré par Rolland and Trémolières, (1995). L'ammonium inhiberait l'activité nitrate réductase avec une concentration importante en ammonium et faible en nitrate, entraînant une baisse de la biomasse végétale. La présence conjointe d'ammonium et nitrate permettrait les meilleures conditions de nutrition des plantes. Le diazote peut lui aussi être assimilé notamment chez les Fabales (légumineuses) grâce à une association symbiotique avec des bactéries des genres *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* (Barea et al., 1987).

L'ammonium et le nitrate sont captés par les plantes notamment au niveau racinaire, où 10% de la surface des jeunes racines sont un espace libre où les cellules absorbent directement les solutés dans la solution du sol (transport passif). Ce processus dépend notamment de la concentration externe en soluté (eau et solution du sol) et de l'abondance des poils absorbants (Marschner, 1986). L'azote peut aussi être capté au niveau des stomates des feuilles où il

existe des échanges gazeux avec l'atmosphère au niveau des aérochymes, cependant cette capacité dépend de la température, de l'activité métabolique et de l'âge de la feuille. Au niveau racinaire, la plus forte affinité est pour l'ammonium, mais le système de transport de faible affinité pour l'ammonium permet la prise de nitrate (Masclaux-Daubresse et al., 2010). Certains facteurs peuvent influencer le captage des nutriments par les plantes (Marschner, 1986). L'assimilation de l'ammonium dans les plantes augmente avec le pH car il est transformé en formes moléculaires non dissociées (NH₃ et NH₄OH); avec un pH passant de 4 à 7, l'assimilation du nitrate augmente et celle de l'ammonium baisse. Ce captage a des conséquences sur le pH de la rhizosphère qui augmente avec l'absorption du nitrate et baisse lors de celle de l'ammonium. L'assimilation du nitrate est sensible à des températures inférieures à 14 °C. De plus, les températures faibles freinent l'élongation des racines. Il existe aussi une relation entre la disponibilité de la lumière, l'alimentation en carbohydrates des racines, la respiration racinaire et l'absorption des ions par la racine. Ceci a une importance pour les plantes au feuillage dense où les feuilles basales qui sont la source principale de carbohydrates, peuvent manquer de lumière et avoir alors une activité photosynthétique réduite. Enfin, il peut exister une compétition entre les ions Cl⁻ et les ions phosphoriques et nitrates. A l'inverse, l'assimilation du nitrate peut être favorisée par la présence de cations, comme le potassium.

Mécanismes d'assimilation (Marschner, 1986)

L'assimilation de l'azote est la conversion d'une forme inorganique en une forme organique de l'azote. La majorité de l'ammonium est incorporée dans les composés organiques au niveau racinaire. Le nitrate est mobile dans le xylème et peut être stocké dans les vacuoles de racines, tiges et organes de stockage et avoir un rôle primordial dans la balance anion-cation et l'osmorégulation des plantes nitrophiles (*Urtica dioica*). Cependant pour être incorporé dans les composés organiques, le nitrate doit être réduit en ammonium et de manière rapide pour éviter l'apport de nitrite toxique dans les cellules de plantes. La réaction de réduction est la suivante :

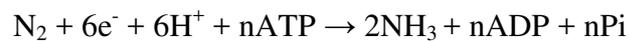


La réduction du nitrate est effectuée dans le cytoplasme, alors que la réduction du nitrite a lieu dans le chloroplaste. Une fois consommé, ou produit du nitrate, l'ammonium est incorporé dans les acides aminés et les amides et autres composés ce qui demande un apport en sque-

lette carboné. Ils peuvent alors être transportés via le xylème. Les deux enzymes principales de l'assimilation de l'ammonium sont la glutamine synthase et la glutamate synthase.

1.2.2.8 Fixation de l'azote atmosphérique (Postgate, 1998)

Les bactéries capables de la fixation du diazote sont les bactéries diazotrophes. Le premier produit de cette fixation est l'ammonium. D'un point de vue écologique, les meilleures diazotrophes sont celles qui vivent en association avec les plantes, tels qu'*Agrobacterium*, puisque le diazote est fixé à l'endroit exact des besoins en azote. La conversion physique du diazote en ammonium requiert des pressions et températures particulières, ce phénomène est responsable de 10% de la fixation en diazote contre 40% par les bactéries fixatrices. La lumière a un rôle important dans la fixation de l'azote sous symbiose car elle favorise la photosynthèse dont les produits vont être fournis aux bactéries dans les nodules de fixation. Les espèces bactériennes libres ou symbiotiques possèdent toutes l'enzyme nitrogénase responsable de la fixation du diazote, durant laquelle on note une utilisation d'énergie et en parallèle la conversion de l'acétylène en éthylène (Stewart, 1975):



1.3 Cycle du phosphore (Figure 1-4)

Le phosphore est un élément majeur des écosystèmes terrestres et marins. Il est un composé structural et fonctionnel des organismes vivants. Sa disponibilité, notamment de par son rôle de nutriment limitant des plantes, peut impacter les taux de production primaire des plantes, la distribution des espèces ainsi que la structure des écosystèmes.

1.3.1 Les formes du phosphore (Andrieux-Loyer, 1997)

Le phosphore n'a pas de forme gazeuse, on le trouve donc sous forme liquide (orthophosphate) ou solide, organique ou inorganique.

Le phosphore est présent dans de nombreuses molécules organiques telles que le squelette ester-phosphate de l'ADN et ARN, dans l'ATP, dans les phosphoprotéines, les phospholipides, les dents ou encore les os (Paytan and McLaughlin, 2007). Les formes organiques dissoutes proviennent de l'excrétion et de la lyse des cellules mortes. La forme dissoute minérale majeure est l'orthophosphate, forme ionisée de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4). Sa distribution à pH 8 est 87% HPO_4^{2-} , 12% en PO_4^{3-} et 1% en H_2PO_4^- .

Les formes solides organiques du phosphore sont représentées par du matériel inerte tel que des débris végétaux et animaux ainsi que les excréments animaux mais aussi du matériel vivant. Dans les sédiments aquatiques, les formes organiques seraient majoritairement du phytate (inositol hexa phosphate) (Groot and Golterman, 1993). Les formes adsorbées sont les formes retenues à la surface des particules par des forces chimiques et physiques de faible intensité.

Les formes solides minérales sont les plus présentes et sont très nombreuses. Les formes les plus répandues sont la fluorapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) et l'hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) de calcium et les phosphates de fer. Ces formes peuvent être précipitées à la surface d'une matrice ou encore occluses.

Eck (1982) définit six formes du phosphore dans les zones humides et rivières. Le phosphore échangeable qui est la forme biodisponible, le phosphore labile organique qui est une forme intermédiaire entre le phosphore disponible et indisponible, les carbonates de phosphore, le phosphore de fer et aluminium, le phosphore sorbé ou associé au calcium et au manganèse et le phosphore organique résistant. Dans d'autres études on différencie simplement le phosphore organique du phosphore inorganique ou encore les formes réactives du phosphore des formes non réactives.

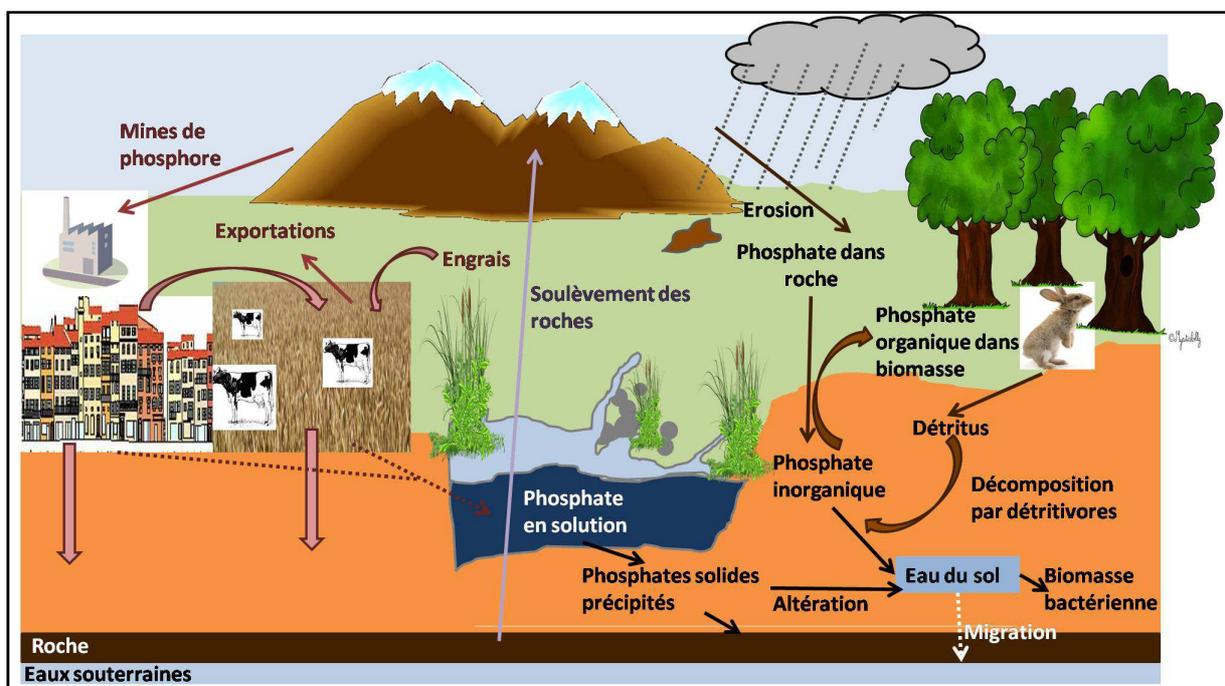


Figure 1-4 : Cycle terrestre du phosphore. (Modifié du site SOTT (signs of the time) et site seillero)

1.3.2 Transferts du phosphore dans l'environnement

1.3.2.1 Les apports naturels

L'apport naturel majeur en phosphore provient de l'érosion de la roche mère. Ce phénomène est physique mais aussi chimique. Le processus physique consiste en une rupture de la roche mère en petits éléments, grains de sable et fragments encore plus fins, induit par le gel, les cristaux de sels, le gonflement des racines de plantes et les attaques chimiques (Newman, 1995). Cet apport est difficile à quantifier, cependant Bennett et al., (2001) l'estime à 15 à 20 Teragramme Tg/an (10^9 kg) . Cette érosion induit une augmentation de la quantité de phosphore dans les sols mais aussi dans l'eau par lessivage ainsi que par la voie atmosphérique. En effet, les apports par l'atmosphère de phosphore particulaire dans la mer Méditerranée seraient en grande partie dus aux étendues de sable du Sahara (Migon and Sandroni, 1999). Une partie du phosphore érodé peut être soit adsorbée dans le sédiment des fleuves et des rivières ou floculée au niveau des estuaires (Hedges, 1992). Une partie de ce phosphore adsorbée sur les particules d'oxyhydroxydes de fer et manganèse peut être désorbée lors d'une augmentation de la salinité. Une autre source de phosphore en milieu terrestre, est le volcanisme, qui augmente les apports en phosphore par érosion et émissions atmosphériques.

1.3.2.2 Les apports anthropogéniques majeurs

Les apports anthropogéniques de phosphore augmentent le contenu en phosphore dans les différents compartiments : sol, sédiment, eau de surface, eau souterraine, mers et océans. Bennett et al. (2001) indiquent que le phosphore stocké a augmenté de 75% par rapport à la période préindustrielle (18^{ème} siècle). L'augmentation de la population humaine a entraîné une augmentation des besoins alimentaires, entraînant le développement des cultures et élevages intensifs. L'utilisation d'engrais par l'agriculture est une source importante de phosphore.

Les engrais sont fabriqués à partir de roches phosphatées provenant de gisements sédimentaires. La quantité de phosphate extraite des mines pour la fabrication d'engrais mais aussi de détergents est estimée à 18,5 Tg/an (Bennett et al., 2001). En 1940, on produisait $0,8 \cdot 10^{15}$ tonnes de céréales représentant 10^7 tonnes de phosphore dans le monde (hors URSS). En 1995, la production de céréales est passée à $2 \cdot 10^{15}$ tonnes de céréales produites et $30 \cdot 10^6$ tonnes de Phosphore utilisées pour ces cultures (Tilman et al., 2002). Seuls 45% des engrais fournis sont utilisés par les cultures induisant un surplus de phosphore variant de 16 à 232

Kg/Ha/an avec une faible sorption dans des sols saturés en eau (Tilman et al., 2002; Hooda et al., 2001).

L'élevage intensif est une source importante de phosphore, notamment l'aquaculture qui a augmenté de 10% chaque année dans les dernières décennies et qui est source de relargage de phosphore inorganique dans les océans (Biao et al., 2004).

La déforestation est aussi responsable de perte de phosphore importante de l'ordre de 0,5 Tg. Le phosphore contenu dans les cendres des arbres incinérés est lessivé et emporté vers les cours d'eau en 1 à 2 ans (Filippelli, 2008).

Les apports d'eau et de phosphore d'origine anthropogénique par voie fluviale sont fortement corrélés aux décharges dans les eaux de rivière (Russell et al., 2008). Les eaux usées sont une source importante de phosphore mais estimées en moindre quantité que les fertilisants et la déforestation (Filippelli, 2008).

1.3.2.3 La décomposition du phosphore organique

La décomposition du phosphore organique est réalisée par des phosphatases qui sont libérées par les organismes vivants lors de la lyse cellulaire. La vitesse de décomposition n'est pas la même selon la forme de phosphore organique. Le phosphore organique labile est la forme ayant le taux de décomposition la plus rapide et est moins sensible au potentiel redox que les autres formes (Anderson et al., 2001). La forme la moins dégradée est le phosphonate de formule $C-PO(OH)_2$ ou $C-PO(OR)_2$ (phosphore organique peu soluble) qui représente 25% du phosphore organique total dans les océans alors qu'il est présent à moins de 1% dans les organismes vivants et moins de 3% dans la matière particulaire stockée (Paytan and McLaughlin, 2007). Le taux de minéralisation est régulé par le pourcentage de phosphore labile, le ratio C/P et le type d'accepteur d'électron. Les bactéries sont la majeure source de phosphatases (Gould et al., 1979). La minéralisation du phosphore est facilitée sous conditions aérobies et diminue avec la profondeur du sol.

1.3.2.4 Mécanismes de rétention du phosphore dans le sol

Adsorption

La sorption du phosphore sur la phase solide peut donner des formes monodentates, bidentates ou binucléaires, les deux dernières étant des formes moins réversibles assurent un stoc-

kage plus long du phosphore dans le sol. Le phosphore se lie à l'aluminium et au fer sous des conditions acides, et au calcium, manganèse et carbonates en conditions alcalines. Cette rétention est plus importante lors d'apports importants en phosphore inorganique, car dans le cas d'apports faibles il y a plus de libération de phosphate que de stockage (Khalid et al., 1977; Logan, 1982; Sonzogni et al., 1982). Dans l'eau, la photosynthèse et la respiration peuvent initier une augmentation du pH menant à la formation de phosphate insoluble (apatites), représentant 6% du phosphore (House, 1990). Cependant, en dessous du pH 8, il y a libération du phosphore sous forme soluble (Diaz et al., 1994).

Enfouissement du phosphore

Le principal puits de phosphore est l'enfouissement du phosphore particulaire après transformation du phosphore dissous. Le phosphore est délivré au sédiment par la matière organique particulaire, le phosphore associé aux oxydes et hydroxydes de métaux.. Le composé majeur du flux enfoui est le phosphate minéral, biologiquement disponible ou associé à des composés biologiquement disponibles mais aussi par dépôt de phosphorite authigène, à savoir cristallisé dans la roche sédimentaire. Le phosphore minéral authigène précipité après enfouissement est rare mais représente une part significative du phosphore enfoui (Rasmussen, 1996). Dans les sols de zones humides, la rétention du phosphore augmente avec une augmentation du taux d'oxygénation. Cet oxygène peut être apporté par l'eau de surface mais aussi par les remontées de nappe (Reddy et al., 1999).

1.3.2.5 Libération du phosphore dans l'eau

Le phosphore adsorbé peut être libéré dans la colonne d'eau notamment sous conditions réductrices anaérobies : le sulfate transformé en H_2S réagit avec le fer pour former le sulfite ferreux et va induire une libération du phosphore par formation de phosphate ferreux soluble. Un autre paramètre est le contenu en phosphore dans la solution du sol, qui lorsqu'elle est beaucoup plus élevée que la concentration en phosphore dans l'eau de surface, peut entraîner une libération dans le milieu aquatique (Sharpley et al., 1981). Enfin les mouvements d'eau, notamment la bioturbation peuvent être responsables de la libération de phosphore dans l'eau. Mitsch et al. (1979), estiment cependant que le phosphore est 10 fois plus retenu dans le sol que solubilisé dans l'eau. Dans les sols sans eau, les seuls mécanismes de transport du phosphore dans le sol et au niveau racinaire sont la diffusion moléculaire et les flux de masse (Reddy et al., 1999).

1.3.2.6 Assimilation du phosphore

Dans les milieux naturels, non soumis aux pressions anthropogéniques, l'assimilation du phosphore par les organismes vivants est un cycle autogéré puisque le phosphore assimilé provient des organismes assimilateurs eux-mêmes à travers la nécromasse et les déjections. Le phosphore a un rôle important dans la photosynthèse marine et dans la séquestration du carbone. Le phytoplancton, a un ratio C/N/P appelé ratio de Redfield de 106/16/1 stable selon les mers et océans considérés et avec le temps (Redfield, 1958; Falkowski, 2000). Ce phytoplancton est ensuite intégré dans les chaînes trophiques : ingéré par le zooplancton lui-même ingéré par les autres organismes aquatiques ainsi que les oiseaux. Ces organismes vivants rendent ensuite le phosphore au milieu terrestre (exemple du guano). Le phosphore dissous inorganique (ortho-phosphates) est très vite assimilé par rapport au phosphore organique et inorganique particulaire qui doit être hydrolysé par les phosphatases.

Dans les zones humides, l'assimilation du phosphore par les plantes dépend du type végétatif et des caractéristiques de croissance. Les espèces hydrophytes immergées flottantes ont un potentiel limité dans le stockage du phosphore dans les rivières de par un rapide turnover (sénescence rapide), et de l'absence d'ancrage profond dans le sol (Mitsch et al., 1995). Les héliophytes ont un réseau racinaire important qui leur permet un meilleur stockage du phosphore. Ces espèces ont un fort contenu en phosphore dans les parties souterraines. Le phosphore est capté à partir de la solution du sol. On note une importance du périphyton dans l'assimilation du phosphore que ce soit dans le sol ou dans l'eau, et dans la régulation du phosphore, en étant une source de phosphore pour les plantes dans les conditions oligotrophes et comme stock de phosphore dans les conditions eutrophes (Wetzel, 1990; Carlton and Wetzel, 1988).

1.3.2.7 Rôle des microorganismes

Les microorganismes, participent à la minéralisation du phosphore via l'activité catabolique mais aussi à l'assimilation de ce dernier notamment en milieu anoxique, où le rapport C/P est le plus bas (Paytan and McLaughlin, 2007; Reddy et al., 1999). Ils participent aussi à la nutrition du zooplancton en phosphore notamment en période de limitation. Les microorganismes contribueraient aussi à l'enfouissement en produisant des composés organiques réfractaires du phosphore et en créant de l'apatite biogénique (Gächter and Meyer, 1993). Les phosphonates résistants à l'hydrolyse chimique, à la décomposition thermique et à la photolyse peuvent être minéralisés par des espèces telles que *E. coli*, *Pseudomonas sp* et *Candida mal-*

tosa sous conditions anaérobies (Kolowith et al., 2001; Murai and Tomizawa, 1976; Kononova and Nesmeyanova, 2002).

2 L'eau: Enjeux et pollution

2.1 Enjeux de la préservation de l'eau

L'eau est indispensable dans les processus biologiques et dans le maintien de la vie sur terre. Les organismes vivants sont constitués en majorité d'eau. L'être humain est constitué de 60% d'eau, ce taux passe à 75% chez les nourrissons. Lors d'une perte en eau de 10%, l'être humain est potentiellement en danger de mort (World Health Organization, 1987). Les apports d'eau de boisson requis varient de 2 à 4,5 L selon la région considérée (National Research Council, 1989), mais la population humaine mondiale ne bénéficie pas systématiquement des quantités requises en eau. L'accès à l'eau pour les sanitaires, qui dans un premier temps paraît d'importance secondaire, est en fait un enjeu majeur de la santé humaine puisque c'est une cause majeure du décès infantile dus à des épidémies. Le minimum requis est de 20 L/personne/jour d'eau propre (Esrey and Habicht, 1986). Les apports d'eau requis en 2000 étaient estimés entre 4000 et 5000 Km³/an (Vörösmarty and Sahagian, 2000). Entre 1800 et 1980 les captages d'eau ont augmenté de 15 fois alors que la population mondiale a seulement quadruplé, et cette utilisation de l'eau ne cesse d'augmenter avec l'accroissement de la population humaine. En 2000, l'homme utilisait 10 à 15% des apports en eau douce sur les 31% effectivement disponibles par rapport aux ressources globales, avec des disparités spatiales menant à des situations réelles de crises dans certains pays. En 2025, l'utilisation de l'eau pourrait atteindre 40% des ressources globales (Vörösmarty and Sahagian, 2000). De plus, le captage de l'eau et les différents aménagements humains provoquent des pertes d'eau importantes tels que le captage des aquifères au renouvellement lent, la forte évaporation des bassins de rétention (exemple du lac Nasser qui perd 7% de son volume total par évaporation), le drainage des zones humides, la déforestation et les barrages qui induisent une baisse des apports aux eaux souterraines (Vörösmarty and Sahagian, 2000).

En France, les apports en eau par les pluies sont de 400 milliards de m³ par an. 18% de l'eau sont prélevés à partir des eaux souterraines et 82% des eaux de surface. En Alsace, la nappe avec ses 50 milliards de m³ représente la plus importante réserve d'Europe. D'autres nappes importantes sont présentes dans le bassin parisien, le bassin aquitain et les massifs karstiques. L'eau prélevée, que ce soit à partir des nappes ou des cours d'eau, représente 5800 millions de m³ par an soit 150 L/personne/jour soit trois fois plus qu'il y a trente ans. En 2011, 22% étaient employés pour la production d'énergie, 6% par les industries, 48% en agriculture et 24% par les collectivités (source: Besoins et ressources en eau, les agences de

l'eau). Malgré des sources en eau conséquentes en France, le développement de la population, de l'agriculture et des industries a mené à une pollution plus importante de l'eau notamment due à la présence excessive des nutriments.

2.2 Pollution azotée et phosphorée: les risques

Un des risques de la pollution azotée de l'eau est l'ingestion de trop grandes quantités de nitrate et nitrite. Le nitrate en lui-même n'est pas dangereux mais transformé en nitrite, il le devient. En effet chez les nourrissons, le nitrite se lie à l'hémoglobine et provoque une méthémoglobinémie ou « syndrome du bébé bleu » qui est une déficience en oxygène qui peut dans le pire des cas entraîner la mort. De plus les nitrites peuvent donner des nitrosamines responsables de tumeurs hépatiques et de lymphomes. La présence de nitrates est, de plus, souvent révélatrice de la présence de pesticides (Hecky and Kilham, 1988; Payment and Hartemann, 1998).

Un autre risque est la volatilisation d'ammoniac (NH_3) impliquée dans l'acidification des pluies. Or en Europe, les émissions d'ammoniac ont augmenté de 50% entre 1950 et 1980 (ApSimon et al., 1987). Ces dépôts d'ammoniac peuvent avoir des effets néfastes sur la croissance des plantes (Pearson and Stewart, 1993).

Un phénomène ne concernant pas la pollution de l'eau, est l'émission d'oxyde nitreux dans l'atmosphère lors d'une dénitrification incomplète. Or, ces oxydes nitreux sont des gaz à effet de serre et sont responsables de la rupture de la couche d'ozone.

Enfin, les apports trop importants en nutriments P et N sont responsables du phénomène d'eutrophisation, susceptible de provoquer l'anoxie des milieux aquatiques et la perte de la biodiversité. Même si ce phénomène est plus prégnant dans les lacs, plans d'eau, mares ... où l'eau est stagnante, l'eutrophisation peut être observée également dans les eaux courantes (**Figure 1-5**). En milieu continental, lors d'apports importants en nutriments, notamment en phosphore, il y a prolifération des algues, plantes aquatiques et cyanobactéries. Cette prolifération réduit la transparence de l'eau et augmente la quantité de matière organique à décomposer. La décomposition utilise de l'oxygène et la faible transparence réduit la photosynthèse en profondeur ce qui induit une baisse du taux d'oxygène dissous et un changement voire une perte, dans les cas les plus sérieux, de la biodiversité par prolifération d'une seule espèce végétale (**Figure 1-6**).

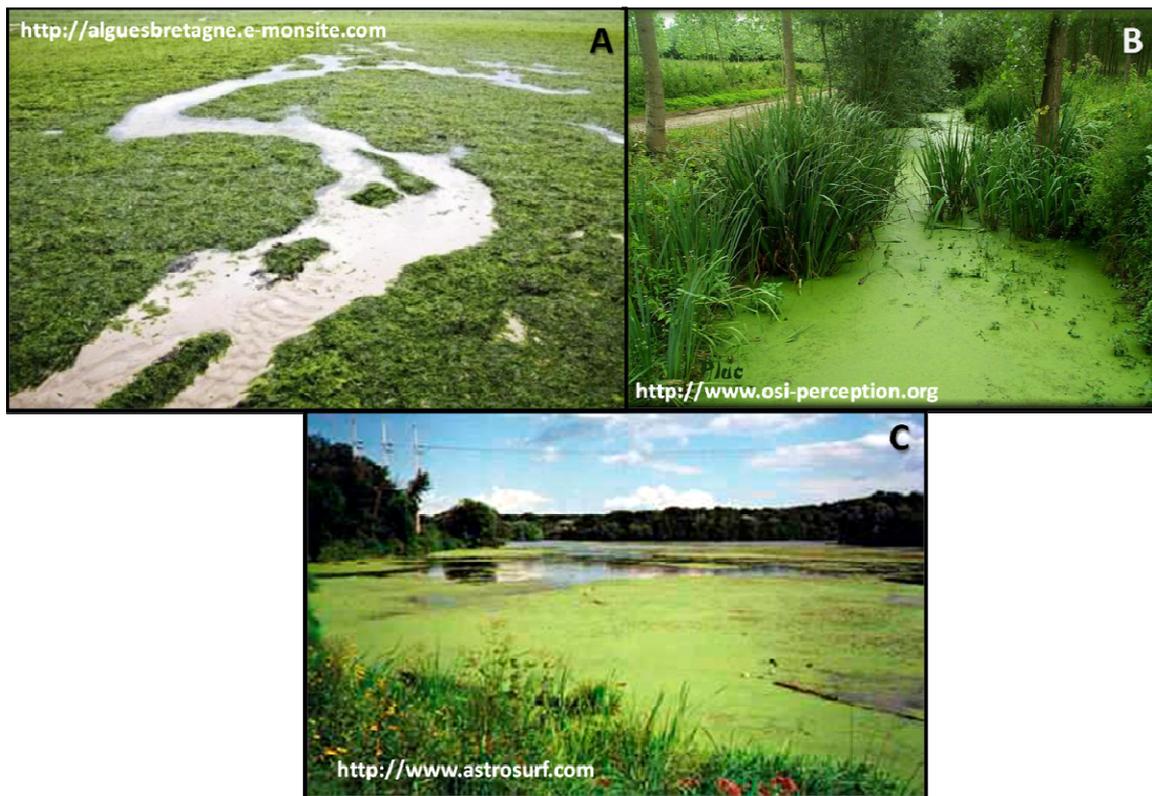


Figure 1-5 : Exemple d'eutrophisation en zone côtière (A), dans un canal (B) et dans un lac (C).

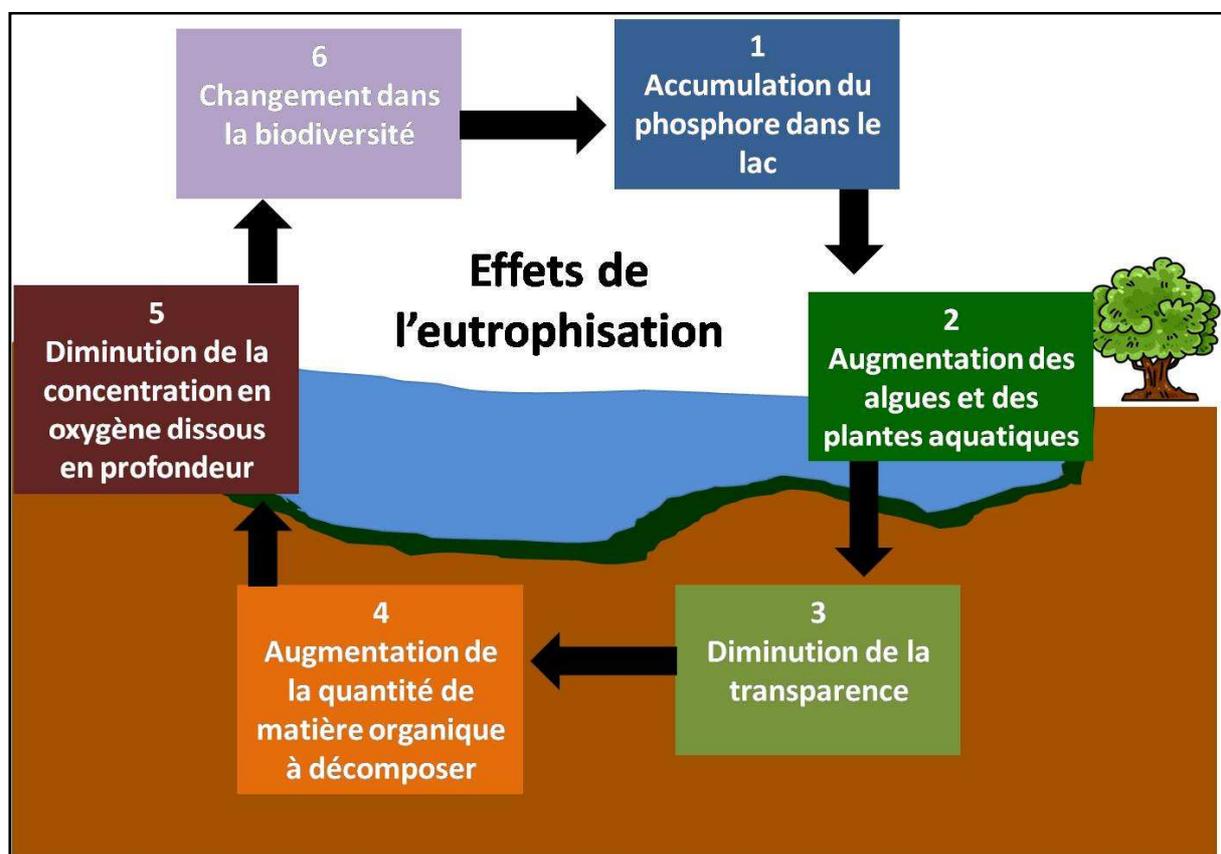


Figure 1-6 : Processus d'eutrophisation en lac. Modifié du site mille-isles.ca

L'eutrophisation a longtemps été associée à des apports importants d'azote et de phosphore, or de nombreuses études ont démontré que le phosphore était le facteur limitant responsable du phénomène dans les eaux continentales (Schindler et al., 2008; Schindler, 2012). Ce faible rôle de l'azote vient notamment du fait que de très faibles quantités dans l'eau peuvent être compensées par l'azote atmosphérique piégé par des microorganismes et assimilé par les plantes. Une étude réalisée dans le grand lac Ontario au Canada montre le rôle majeur du phosphore dans le processus d'eutrophisation (**Figure 1-7**). Le lac a en effet été coupé en deux avec le même apport en carbone et azote dans les deux parties, seule une partie a eu un apport en phosphore qui a induit une forte eutrophisation. En revanche dans les eaux marines, le facteur limitant est le plus souvent l'azote.



Figure 1-7 : Photo de l'expérience d'eutrophisation réalisée dans le grand lac Ontario au Canada. Le lac a été séparé en deux par une bache étanche. Les deux parties ont été amendées avec la même quantité d'azote et carbone, seule la partie inférieure a reçu du phosphore. La couleur verte claire est due à la prolifération d'algues vertes microscopiques. Source : site astrosurf.com

Les apports excessifs en nutriments sont largement dus à l'évolution de la population humaine, au travers du développement de l'agriculture (pollution diffuse) et des rejets de stations d'épuration (pollution ponctuelle) bien que l'usage du phosphore notamment dans les lessives soit en baisse. Jarvie et al. (2006) estiment que le phosphore apporté par les rejets de stations d'épuration serait plus impliqué dans le risque d'eutrophisation que celui provenant de l'agriculture. C'est dans un souci d'améliorer la qualité des eaux de surface que la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) de 2000 a été promulguée et améliorée en 2008. Dans les annexes de cette directive, on trouve notamment les conditions de classement des eaux en fonction de leur état. L'arrêté du 21 Juillet 2015 (en vigueur depuis le 1^{er} Janvier 2016) a remplacé

l'arrêté du 22 Juin 2007 et fixe les normes de rejet des stations d'épuration en zone sensible à l'eutrophisation à 15 mg/L d'azote global (NGL) et 2 mg/L de phosphore total (PT) pour les stations ayant une charge brute en DBO₅ (demande biologique en oxygène à 5 jours) comprise entre 600 et 6000 Kg/j, et à 10 mg/L de NGL et 1 mg/L de PT pour les stations ayant une charge brute en DBO₅ supérieure à 6000 Kg/j

3 L'épuration classique des eaux usées

Les stations d'épuration traitent les eaux usées domestiques mais sont aussi utilisées pour le traitement des eaux rejetées par certaines industries, qui prennent de plus en plus conscience de l'importance de dépolluer l'eau un maximum avant son rejet dans le milieu naturel. Le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie a recensé 18 884 stations d'épuration en 2008 en France mais ce nombre ne cesse d'augmenter (**Tableau 1.1**). En ce qui concerne l'assainissement collectif, il existe deux types de réseau de collecte d'eaux usées, le réseau unitaire où les eaux usées et les eaux pluviales sont collectées dans les mêmes canalisations et le réseau séparatif où chacune de ces eaux a son propre réseau de collecte. Le type de réseau de collecte ainsi que le nombre d'équivalents habitants (EH), sont deux facteurs importants pour le dimensionnement d'une station d'épuration.

Les eaux usées sont composées de pollution carbonée (MES (particulaire), DCO, DBO), de pollution azotée réduite (NH_4^+ + N organique = NTK) et oxydée (NO_2 et NO_3), l'ensemble formant l'azote global (NGL), de pollution phosphorée (ortho-phosphates, poly-phosphates et phosphore organique) et de matières dites inhibitrices (hydrocarbures, etc...) (Cardot, 2010) La charge en DBO5 est un élément de base du dimensionnement des STEPs (**Tableaux 1-2 et 1-3**).

Tableau 1-1: Volume traité et nombre de stations d'épuration en fonction de la taille de la station en France en 2008. Tableau tiré du site officiel du Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie.

Taille de la station	Volume traité (milliers d'EH)	Nombre de stations
<200 EH	265	4 586
<2000 EH	4 571	10 356
<10000 EH	9 269	2 714
10000 EH et plus	60 553	1 228
Total	74 658	18 884

Tableau 1-2: Composition moyenne de l'eau usée en entrée de STEP pour un EH. Tableau tiré de Cardot (2010). MES (matières en suspension), DCO (Demande chimique en oxygène), DBO (Demande biologique en oxygène)

Composant	Quantité
MES	90g
Matières oxydables	57g
DBO5	60g
DCO	120g
Azote réduit	15g
Phosphore total	2g
Matière inhibitrices	0,2 Equitox
METOX (Métaux lourds)	0.23g
AOX (organochlorés)	0.05g
Graisses	22g

Tableau 1-3 : Concentration moyenne en polluants des eaux usées en entrée de STEP. Tableau tiré de Cardot(2010). MES (matières en suspension), DCO (demande chimique en oxygène), DBO (demande biologique en oxygène)

Polluant	Concentration
pH	7,5-8,5
MES (mg/L)	100-400
DBO5 (mg/L)	150-500
DCO (mg/L)	300-1000
NTK (mg/L)	30-100
N-NH4 (mg/L)	20-80
N-NO2 (mg/L)	<1
N-NO3 (mg/L)	<1
P(t) (mg/L)	0.05

3.1 Principe général

Les stations d'épuration dites « classiques » sont les plus recommandées pour les grosses collectivités de plus de 10 000 EH. Les Agences de l'Eau découpent le traitement en 4 phases : le prétraitement ou traitement primaire, le traitement secondaire, le traitement tertiaire et le traitement des boues. Cependant, Cardot (2010) sépare prétraitement et traitement primaire en deux phases bien distinctes.

Le prétraitement rassemble le dégrillage, le dessablage et le déshuilage mais seul le dégrillage est obligatoire. Ce prétraitement permet de retirer les déchets de bois, plastique, papiers ne passant pas dans les grilles (dégrillage), la terre et le sable qui pourraient boucher les canalisations (dessablage) et les huiles qui par injection d'air vont flotter à la surface et être éliminées par raclage (déshuilage) (site les Agences de l'Eau.fr)

Le traitement primaire est un traitement physico-chimique visant à éliminer les matières décantables représentant environ 65% des MES (Matières en suspension) et 33% de la DBO (Demande Biologique en Oxygène) et DCO (Demande Chimique en Oxygène). Cette étape peut se faire par décantation simple ou peut être précédée d'une étape de coagulation qui déstabilise les colloïdes suivie d'une floculation permettant l'agglomération de ces derniers (Cardot, 2010).

Le traitement secondaire est un traitement dit biologique puisqu'il fait intervenir les microorganismes. Il en existe deux types : à cultures libres ou à cultures fixées. Le plus utilisé est le traitement par boues activées (cultures libres) (**Figure 1-8**). Il élimine les polluants de l'eau grâce aux microorganismes aérobies qui vont créer des boues. L'eau est séparée des boues dans un clarificateur secondaire et une partie des boues est recyclée pour éviter les phénomènes de fermentation. Ce procédé peut être suivi d'une filtration membranaire comme c'est le cas à Villefranque (Pyrénées-Atlantiques) avec le procédé BRM (Bioréacteurs à membranes) où les membranes remplacent le clarificateur secondaire ou encore dans le principe BIOSEP où les membranes se trouvent dans le bassin de boues activées. Cependant le recyclage des boues reste un problème au vu des quantités produites. En culture libre, il existe le lagunage naturel dont le procédé sera détaillé au chapitre suivant. Dans certains pays, on privilégie le biodisque ou disque biologique (cultures fixées) où des disques sur lesquels sont fixés des microorganismes sont partiellement immergés dans l'effluent avec un mouvement de rotation assurant le mélange et l'aération. En cultures fixées il est aussi possible d'intégrer

une biofiltration inspirée du lit bactérien où l'eau à épurer ruisselle sur la matrice. Dans la biofiltration, le matériau filtrant est immergé dans l'eau polluée (Cardot, 2010).

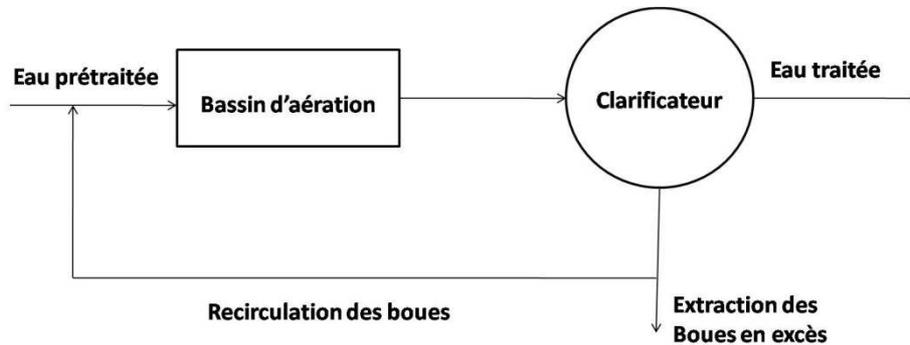


Figure 1-8 : Schéma du concept de base du traitement par boues activées. (Tiré de Cardot (2010))

Le traitement tertiaire, considéré comme un traitement complémentaire permettant de répondre aux exigences de rejet n'est pas un traitement obligatoire. Selon la législation, une désinfection par chloration ou traitement UV peut être effectuée avant rejet dans le milieu naturel.

Une station d'épuration dite classique est donc constituée de plusieurs traitements qui s'enchainent (Figure 1-9) selon les exigences épuratoires mais aussi les conditions climatiques. En effet, sous de trop faibles températures, les traitements biologiques peuvent s'avérer inefficaces.

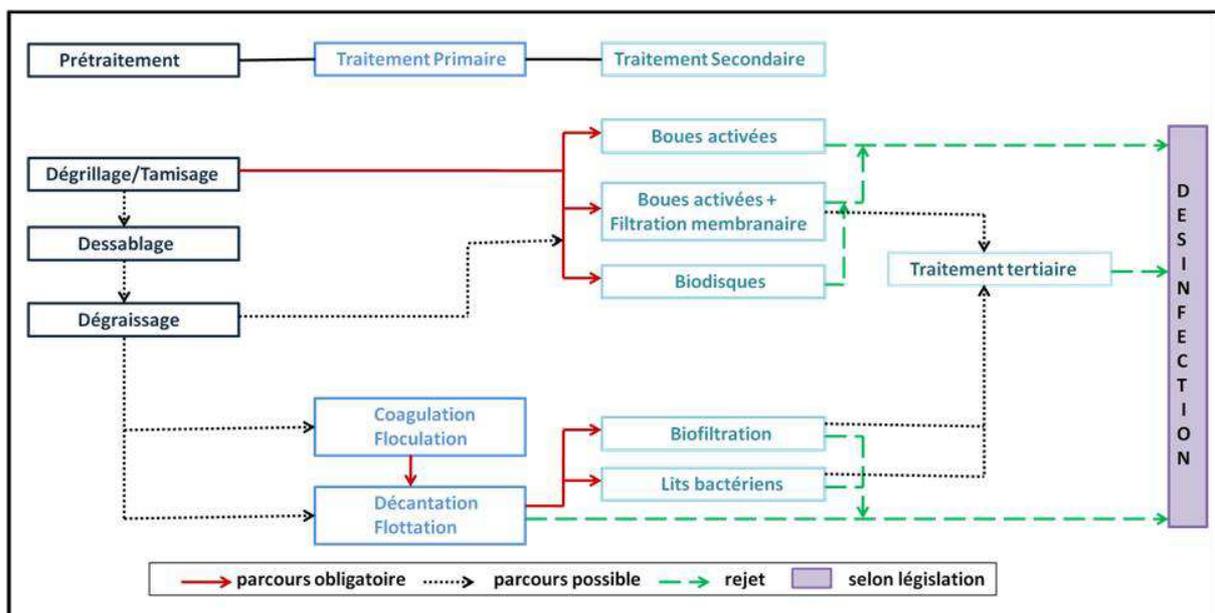


Figure 1-9: Les différents traitements possibles d'une station d'épuration dite « classique »

3.2 Élimination de l'azote et du phosphore dans les STEP's classiques

La pollution azotée est réduite grâce aux phénomènes de nitrification et de dénitrification, deux processus contradictoires avec des conditions optimales différentes voire inverses comme le montre le **tableau 1-4**. Pour respecter ces conditions, deux types d'approches peuvent être adoptées dans le système de boues activées. La première est l'utilisation de deux bassins différents, l'un dans des conditions anoxiques en tête de filière permettant la dénitrification grâce à un apport en carbone organique venant du clarificateur primaire, l'autre étant un bassin d'aération permettant la nitrification (**Figure 1-10a**). La deuxième approche est l'utilisation du même bassin pour la nitrification et la dénitrification grâce à une alternance temporelle notamment de l'aération mais aussi de l'âge des boues (**Figure 1-10b**).

Tableau 1-4 : Conditions nécessaires pour une nitrification et dénitrification optimum

	Nitrification	Dénitrification
Type de bactéries	Autotrophes	Hétérotrophes
Age de boue	Important (10 jours minimum)	Faible
pH	8,5	7
O ₂ dissous	Entre 0,5 et 2 mg/L	Faible

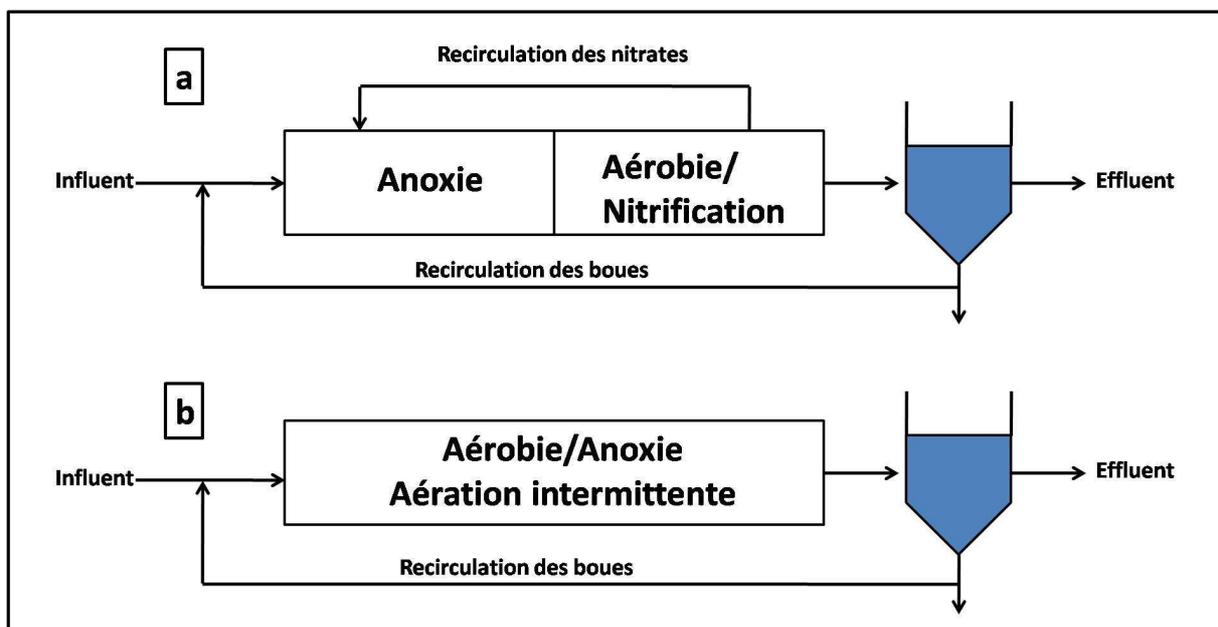


Figure 1-10: Schéma du processus de boues activées a) à deux bassins b) à bassin unique, adapté à l'élimination de l'azote par nitrification/dénitrification.

La pollution phosphorée pose problème car son élimination est plus complexe que celle de l'azote, cependant des techniques intégrées aux boues activées ont été mises en place. Ces techniques sont basées sur le métabolisme du phosphore. Le phosphore est un élément constitutif de la cellule bactérienne. Or des chercheurs ont découvert la capacité des bactéries à accumuler plus de phosphore que nécessaire pour leur croissance (Greenberg, 1955) Ce phénomène est appelé « luxury uptake ». La principale espèce capable de cette suraccumulation est *Acinetobacter calcoaceticus lwoffii*, coccobacille aérobie strict gram – qui utilise comme substrats carbonés l'acétate, le succinate et l'éthanol non présents dans les eaux usées. Cependant, la formation d'acétate est possible à partir de la DCO soluble et grâce aux bactéries de type *Alcaligenes spp* et *Aeromonas punctata* qui le produisent en anaérobiose par fermentation. En aérobie *Acinetobacter* va stocker le phosphore via la polyphosphatase kinase et va au contraire le relarguer sous conditions anaérobies via la polyphosphatase (**Figure 1-11**) (Cardot, 2010). Ce principe est utilisé dans des systèmes de boues activées adaptées tels que Phoredox (Bardenpho modifié) (**Figure 1-12**) où après deux mois d'équilibrage, l'effluent contenait moins de 5 mg/L d'azote global et 0,3 mg/L d'orthophosphates (Oldham and Stevens, 1984). Un autre traitement appelé UTC (University of Cap Town) avec des bassins anoxiques supplémentaires en début de chaîne, a aussi été approuvé pour l'élimination des nutriments.

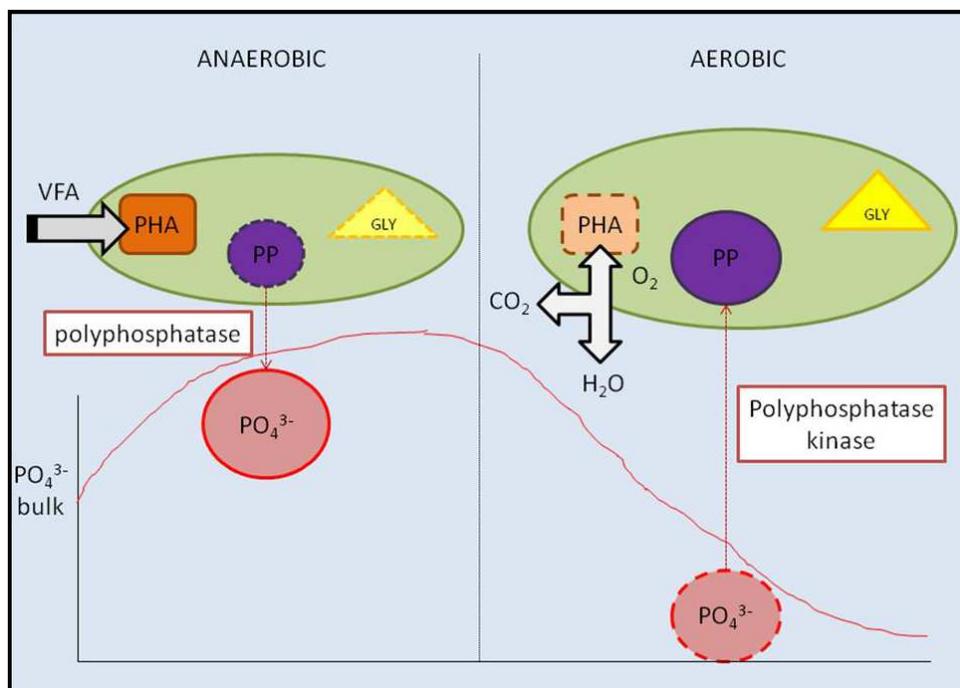


Figure 1-11 : Schéma du principe amélioré d'élimination biologique du phosphore (Mañas Llamas (2011). VFA= Acides gras volatils (volatil Fatty Acids), PHA= poly-β-alcanoates, PP= Polyphosphates, GLY= glycogène

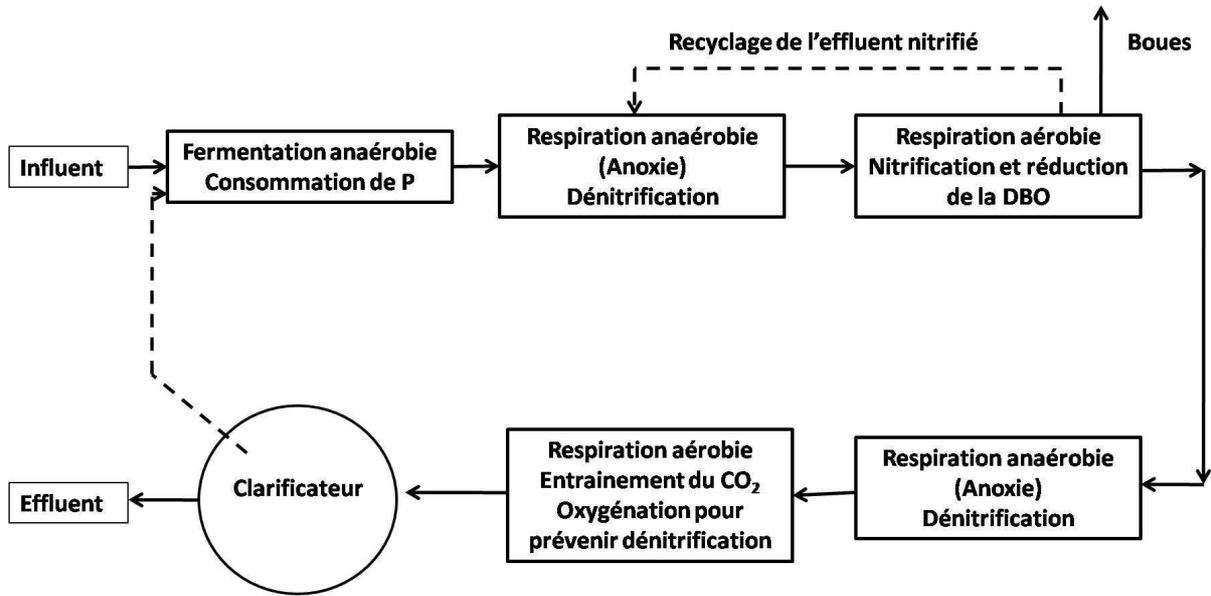


Figure 1-12: Procédé Phoredox. Tiré de Oldham and Stevens, (1984)

4 Les zones humides des « usines » d'épuration naturelles

4.1 Les zones humides naturelles

4.1.1 Définition et classification (Girard et al., 2007)

Les zones humides ont plusieurs définitions. Une des premières définitions ayant fait consensus est la définition de la convention de Ramsar de 1971 : « Les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas 6 mètres » mais cette définition est large et écarte certains facteurs. L'Article L.211-1 du Code de l'Environnement donne une définition plus précise, prenant en compte la végétation: « On entend par zones humides, les terrains exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année ». L'importance de l'hydromorphie des sols est précisée dans l'Article R.211-108 du Code de l'Environnement et arrêté du 24 Juin 2008 modifié : « Les critères à retenir pour la définition des zones humides mentionnées au 1° du I de [l'article L. 211-1](#) sont relatifs à la morphologie des sols liée à la présence prolongée d'eau d'origine naturelle et à la présence éventuelle de plantes hygrophiles. Celles-ci sont définies à partir de listes établies par région biogéographique. En l'absence de végétation hygrophile, la morphologie des sols suffit à définir une zone humide.»

Il existe des nomenclatures différentes selon le paramètre associé où on peut les qualifier selon la quantité de matière organique (Reductisols vs tourbes), la géomorphologie (lagune vs zone palustre), la formation végétale (roselière, ripisylves,...) et la physiographie (Estuaire, golfe). Les zones humides peuvent être délimitées par la végétation (espèces ou association d'espèces caractéristiques), par une cartographie pédologique (délimitation assez précise) ou encore par la géomorphologie et la topographie. Il existe des spécificités fonctionnelles des zones humides telles que la saturation en eau, pour exemple, le qualificatif d'ombrogène pour les tourbières est défini lorsque cette dernière est alimentée essentiellement par les eaux atmosphériques, pluies et brouillards (Galtier and Maret, 1994) les propriétés biogéochimiques particulières avec très souvent un milieu anoxique à pH plutôt alcalin (avec des exceptions comme le cas des tourbières au pH acide) et des propriétés particulières de la végétation telles que les aérénchymes et le développement des racines adventives des saules.

4.1.2 Historique des zones humides

De nombreuses civilisations anciennes se sont déployées à proximité de zones humides comme l’Egypte et la Chine, notamment par rapport à l’accès à l’alimentation et aux cultures (limon fertile en Egypte et rizières en Chine). Au début du XX^{ème} siècle, les zones humides ont été éliminées, 89 millions d’Ha en 1780 contre 42 millions d’Ha en 1980 (Gibbs, 2000), car elles étaient synonymes de « miasmes » et n’étaient pas propices à l’agriculture. Certaines zones humides ont été drainées pour la sylviculture (Landes) et pour des raisons d’urbanisation (Exemple de la ville de La Grande Motte) (Girard et al., 2007). Certaines zones ripariennes ont été aussi éliminées par la mise en place de canaux pour la navigation (Brunet et al., 1994). Ces disparitions de zones humides ont conduit à l’apparition de patches plus petits, isolés et au biota particulier, vulnérables à l’extinction (Gibbs, 2000). Certaines zones initialement capables de retenir les pollutions diffuses ont vu leur hydrologie altérée et sont maintenant réhabilitées pour rétablir des conditions hydrologiques adaptées (Haycock and Muscutt, 1995). C’est pour ces raisons que depuis une quarantaine d’années un intérêt accru est porté à ces zones qui représentent aujourd’hui 6% des terres émergées (Girard et al., 2007). En France, en 2009, les milieux à composantes humides identifiés s’élevaient à 2,2 millions d’hectares (zones-humides.eaufrance.fr).

4.1.3 Amélioration de la qualité de l’eau et de l’air

4.1.3.1 Rétention du phosphore

La fixation et donc la rétention du phosphore dans les ZH dépend des conditions oxydo-réductrices. Cette rétention se fait sous conditions oxydantes avec absorption sur des colloïdes et oxyhydroxydes, or les zones humides comportent de nombreux sites de fixation comme tout solum hydromorphe, mais si les conditions sont réductrices alors on observe un relargage du phosphore ce qui est souvent le cas dans les plaines inondées au sol saturé en eau où le phosphore réactif soluble (SRP) peut être libéré et transféré vers la rivière (Girard et al., 2007 ; Zak and Gelbrecht, 2007; Carlyle and Hill, 2001). Une étude menée par Weiss et al. (1991) dans des forêts alluviales rhénanes, qui pourtant montrent des capacités de rétention pouvant atteindre les 95% de rétention des phosphates (Sanchez-Perez et al., 1991), a démontré une biodisponibilité du phosphore plus importante dans la forêt inondée par rapport aux deux forêts non inondées notamment celle à sec depuis plus de deux siècles. Dans les rivières, Fink and Mitsch, (2007) montrent que la rétention du phosphate est meilleure dans les zones de marais que dans les zones d’eau libre. Les zones humides historiquement isolées peuvent

devenir des puits de phosphore provenant des ruissellements agricoles, notamment dans les 10 premiers cm où la rétention est supérieure à 87%. La variabilité de rétention serait due pour 70 % à la quantité de matière organique dans le sol. Cette rétention pourrait être accrue par l'ajout d'azote qui augmenterait la biomasse végétale et la quantité de matière organique, et par la restauration hydrologique des zones humides qui augmenterait l'aire de rétention (Dunne et al., 2007). Dans les zones ripariennes, cette rétention est élevée variant de 78 à 91% de phosphore total retenu, la variation étant notamment due au type de végétation présente (Lee et al., 2003).

4.1.3.2 Rétention de l'azote

Les conditions de rétention de l'azote varient selon la forme chimique considérée. Une étude menée dans un lac a démontré une variation temporelle de la rétention de l'azote total entre l'été (50 à 85%) et l'hiver (30%) (Bratli et al., 1999). Les études sur la rétention de l'azote démontrent que la forme de l'azote la plus éliminée dans les zones humides est le nitrate (Willems et al., 1997; Sanchez-Pérez et al., 1999). L'élimination du nitrate contrairement au phosphore est plus efficace dans les zones humides inondées aux conditions réductrices et aux fortes concentrations en matière organique, lorsque les interactions spatiales et temporelles sont favorisées (Brodrick et al., 1988; Brettar et al., 2002). La dénitrification semble être le processus majeur d'élimination de l'azote dans les zones humides. Deux études ont démontré que l'augmentation de macro-invertébrés dans les eaux souterraines était corrélée à l'augmentation de la population bactérienne (Comin et al., 2016; Yao et al., 2016) améliorant l'élimination des nitrates. L'Anammox, autre processus d'élimination des formes solubles de l'azote en azote gazeux, est lié au phénomène de dénitrification puisque lorsque l'on bloque la transformation du nitrate en nitrite, le processus Anammox est inhibé totalement contrairement à la dénitrification qui baisse de 50%. Les bactéries responsables de l'Anammox sont en compétition avec les bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes et sont présentes en moins grand nombre dans le sol, ce qui implique que la dénitrification devient le processus majeur par rapport à l'Anammox (Fernandes et al., 2016; Zhou et al., 2016). Des études mesurant les taux de dénitrification et de réduction dissimilative du nitrate en ammonium, démontrent que la dénitrification est là encore le processus majeur de réduction dissimilative du nitrate (Sgouridis et al., 2011; Sgouridis et al., 2009). La rétention et l'élimination du nitrate dans la ZH justifie de son intérêt et son utilisation comme zone tampon entre le milieu agricole et le cours d'eau dans les bassins versants (**Figure 1-13**)

4.1.3.3 Rôle tampon des zones humides

Les zones ripariennes sont souvent considérées comme des zones tampons. Une zone tampon est une zone s'interposant entre un milieu fortement anthropisé et une ressource naturelle afin de limiter les effets néfastes d'un contact direct, que ce soit en termes de pollution, de nuisances et de perturbations biologiques (Girard et al., 2007). Ces zones ripariennes tampon protègent la rivière des pollutions diffuses et des apports par érosion. C'est une procédure efficace et économiquement intéressante pour la rétention de nombreux polluants (Osborne and Kovacic, 1993). Cependant, Comin et al. (2016) précisent que ce pouvoir tampon est largement lié à la dynamique des rivières mais aussi aux activités humaines (urbanisation, cultures). Les auteurs montrent que le pouvoir tampon est supérieur dans les plaines inondées par la Garonne et l'Ebro où le régime d'inondation est plus élevé et la zone riparienne plus large que celui des zones inondées des rivières Bidasoa et Tage au régime hydraulique plus faible, et à la zone riparienne plus étroite avec la présence de terrains cultivés.

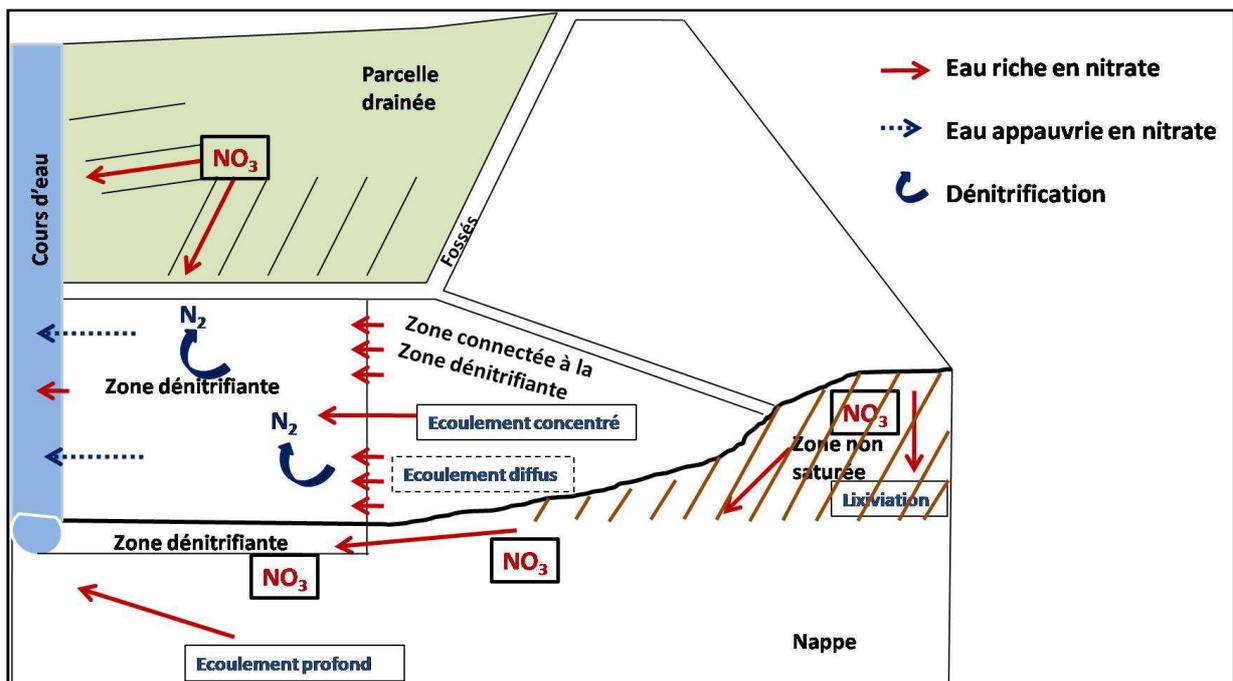


Figure 1-13 : Voie d'écoulement de l'eau dans un bassin versant agricole. Les deux zones du haut sont déconnectées hydrologiquement de la zone humide. Tiré de Girard et al. (2007)

4.1.3.4 Rétention de la matière en suspension (MES)

Les zones humides sont efficaces dans la rétention des MES mais aussi pour prévenir la libération de ces dernières. Vought et al. (1995) démontrent qu'une bande de végétation de 10 mètres entre les terres cultivées ou non et le cours d'eau diminue l'érosion par augmentation de la rugosité du sol qui entraîne une baisse de la vitesse de l'eau. Les zones ripariennes sont capables de retenir de 20 à 97% des MES. Lee et al. (2003) ont démontré que la rétention des MES et nutriments étaient améliorée lorsqu'une surface herbeuse était complémentée d'une zone boisée de type ripisylve. D'après Brunet et al. (1994) la rétention de ces éléments dans la zone riparienne de 1,1 km² étudiée, seraient 17 à 50 fois plus importante que dans la plaine inondée de 16,8 km². Cette rétention serait effective que ce soit en hiver ou en été (Bratli et al., 1999).

4.1.3.5 Rôle dans l'amélioration de la qualité de l'atmosphère

Les zones humides sont efficaces dans la séquestration du carbone. Le carbone est assimilé par les plantes lors de la photosynthèse puis est redéposé au sol durant la sénescence et transféré à l'atmosphère durant la dégradation de la matière organique. Or dans les zones humides, notamment saturées en eau où les microorganismes aérobies sont peu présents, il y a un faible taux de dégradation de la matière organique (Girard et al., 2007). L'augmentation de la température, le développement de l'agriculture et le drainage des zones humides baissent cette capacité et peuvent induire des émissions de CO₂ (Hopkinson et al., 2012). Dans la province de Heilongjiang en Chine, les zones humides tempérées peuvent séquestrer 1,04 x 10⁸ T de carbone/an (Zhang et al., 2016).

Ye and Horwath, (2016) ont montré aussi à travers une étude sur des tourbières ré-humidifiées que l'apport d'azote n'affectait pas les émissions d'oxyde nitreux (N₂O) et pouvait représenter des zones de séquestration du N₂O, cependant cette séquestration n'est plus effective sous des profondeurs d'eau trop importante.

C'est notamment pour ces qualités épuratrices mais aussi de conservation de la biodiversité que certaines zones humides naturelles sont utilisées pour traiter des effluents secondaires (Brodrick et al., 1988), que d'autres ont été restaurées pour traiter les effluents provenant des activités anthropogéniques et notamment de l'agriculture (Hoffmann et al., 2012) ou pour contenir les crues de cours d'eau tout en améliorant la qualité de l'eau (exemples de reconnections de bras morts (Fink and Mitsch, 2007; Meyer et al., 2013), du Polder d'Erstein (Schmitt

et al, 2008). L'observation des zones humides et de ses qualités épuratoires a aussi inspiré de nouvelles techniques d'épuration des eaux usées.

4.2 Zones humides construites

4.2.1 Les filtres plantés de macrophytes (Paulus, 2011)

Les filtres plantés sont des lits entièrement recouverts de géomembrane, remplis de substrat généralement de type gravier et plantés d'espèces macrophytes, utilisés en traitement principal, secondaire ou tertiaire des eaux usées. Il existe deux configurations principales : les filtres plantés de macrophytes à écoulement vertical (FPV) et les filtres de macrophytes à écoulement horizontal (FPH). Généralement les espèces végétales utilisées sont des héliophytes rhizomateux tels que le roseau (*Phragmites australis*), la baldingère (*Phalaris arundinacea*), etc.. Les filtres plantés de macrophytes ont été imaginés par le Dr Kathe Seidel, botaniste allemande qui s'est inspirée des zones humides naturelles et qui a commencé à tester le système en alternant FPV et FPH.

Le filtre planté de macrophytes à écoulement vertical (**Figure 1-14**) est un bassin étanche avec géomembrane rempli de plusieurs couches de graviers peu calcaires (généralement trois couches dont la granulométrie augmente avec la profondeur), plantés de macrophytes avec des cheminées d'aération pour garder le milieu en aérobiose. L'eau y arrive par bâchée ou par écoulement continu et s'infiltre, puis est récupérée par des drains avant de passer au traitement suivant. Plusieurs filtres (appelés lits) sont construits côte à côte afin de procéder à une alternance de mise en eau. La vitesse d'infiltration est en moyenne d $0,5\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$.

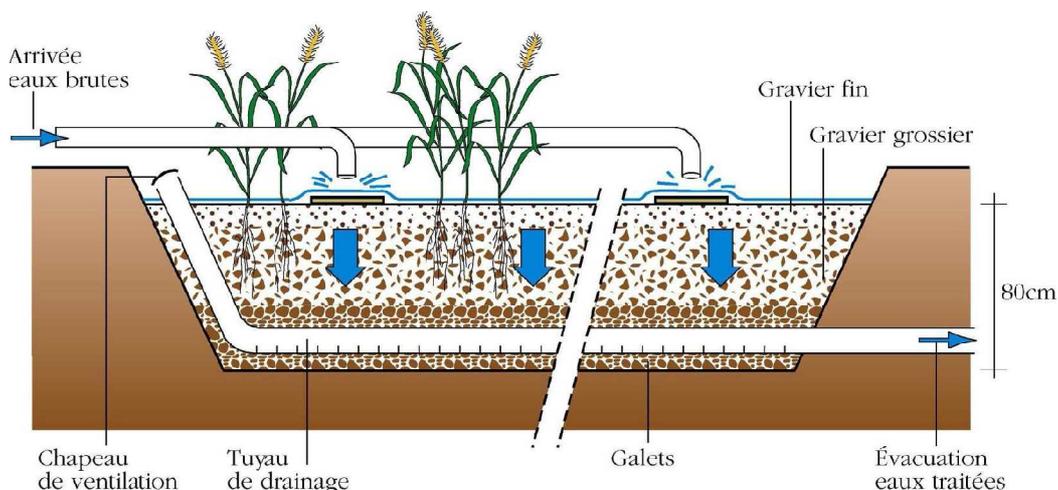


Figure 1-14 : Schéma d'un filtre planté de roseaux à écoulement vertical (source : Epnac.irstea.fr)

Le filtre planté de macrophytes écoulement horizontal (**Figure 1-15**) est un bassin étanche avec géomembrane rempli d'une couche de graviers avec parfois des gabions de graviers à granulométrie plus élevée en amont et aval du filtre. Le filtre est planté de roseaux ou d'autres espèces macrophytes telles que les glycéries et les massettes. En sortie, il y a un coude rotatif avec manchon afin de mettre en eau le filtre (saturation en eau, anaérobiose). L'eau y arrive par bâchée ou par écoulement continu et s'infiltre puis est récupérée par des drains avant de passer au traitement suivant. Plusieurs filtres sont construits côte à côte afin de procéder à une alternance de mise en eau. Une hauteur d'eau située entre 40 et 60 cm est conseillée.

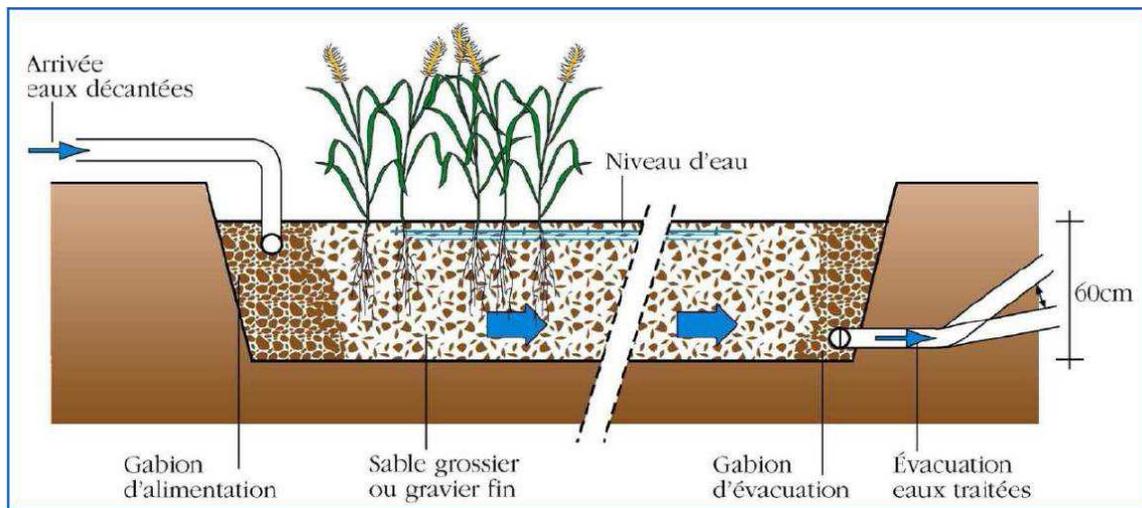


Figure 1-15 : Schéma d'un filtre planté de roseaux à écoulement horizontal. Source Epnac.irstea.fr

Dans la majorité des pays, le FPH est préféré au FPV sauf en France où le FPV a été adopté. Les filtres plantés de roseaux peuvent être utilisés comme traitement principal de la station soit en traitement tertiaire après un système plus classique. En traitement principal, il y a, le plus souvent, deux étages de traitement (un étage de 1,2 m²/EH et un étage de 0,8 m²/EH) ou un étage unique avec système de recirculation.

Les deux actions épuratoires principales sont le dépôt de MES et la dégradation des polluants par les bactéries. Les roseaux (un pied/m²) permettent un meilleur développement bactérien, une baisse des risques de colmatage et d'assèchement, une protection des UVs et un confinement des odeurs sauf en hiver.

Ce type de traitement présente de nombreux avantages. Son coût de construction est 50% moins cher qu'une station d'épuration intensive. Les frais d'exploitation sont très peu chers, avec des coûts en électricité réduits. Ces filtres peuvent être implantés dans des régions

froides car le roseau résiste aux basses températures et l'eau usée n'a pas le temps de geler. Pour le voisinage, la station présente de nombreux avantages tels qu'une bonne insertion dans le paysage, aucun bruit et peu d'odeurs car les eaux usées sont traitées rapidement et en aéro-biose. La station est implantée à minimum 100m des habitations pour éviter la venue de rats et d'insectes. Ces stations ne sont pas adaptées à des communes de plus de 6 000 EH pour des raisons économiques mais surtout à plus de 2 000 EH, en raison de la surface/EH importante.

Généralement les filtres plantés de roseaux sont efficaces dans l'abattement de l'azote kjeldahl mais peu pour l'azote global, le phosphore et les microorganismes. Les FPVs avanta-gent la nitrification et donc la baisse en NTK avec une augmentation de la concentration en nitrate et donc une concentration en azote global inchangée, alors que les FPHs favorisent la dénitrification, induisant une production de diazote gazeux et une baisse en azote global, ce qui est confirmé par Vymazal, (2007) (**Tableau 1-5**), qui précise que l'ammonification est aussi un processus majeur dans les deux types de filtres plantés de roseaux. En sortie de pre-mier étage les concentrations en NTK et NGL sont généralement inférieures à 40 et 100 mg/L respectivement et inférieures à 20 et 80 mg/L respectivement en sortie de deuxième étage.

Tableau 1-5 : Présence et importance des processus de transformation de l'azote dans les filtres plantés à écoulement horizontal (FPH) et à écoulement vertical (FPV). Tiré de (Vymazal, 2007).

	FPH	FPV
Volatilisation	nul	nul
Ammonification	important	important
Nitrification	Très faible	Très important
Réduction dissimilative du nitrate en ammonium	?	?
Dénitrification	Très important	Très faible
Fixation N₂	?	?
Assimilation par bactéries	faible	faible
Assimilation par plantes	faible	faible
Adsorption ammonium	Très faible	Très faible
Enfouissement azote orga-nique	faible	Très faible
Fragmentation et lessivage	?	?
Anammox	?	?

4.2.2 Le lagunage

Le lagunage est un système de bassins successifs qui s'inspire des processus naturels d'élimination des polluants par les microorganismes (**Figures 1-16 et 1-17**). Ce système peut constituer le traitement principal de la station d'épuration ou être utilisé en traitement tertiaire. C'est un traitement qui est aussi utilisé par les industries (exemple de la sucrerie d'Erstein (Crystal union) en Alsace). En France, on décomptait 2500 à 3000 installations en 2004 représentant environ 20% des stations d'épuration (Racault et al., 2004). Le dimensionnement est de 6 m²/EH pour la première lagune de traitement et de 3m²/EH pour les lagunes 2 et 3.

Le fonctionnement est le suivant : dans le premier bassin, il y a prolifération de bactéries qui décomposent la matière organique et libèrent les nutriments. Cette décomposition consomme de l'oxygène et produit du CO₂. Ce bassin sert aussi de décanteur avec dépôts de boues qui seront peu à peu minéralisées (ceci est valable aussi pour le second bassin mais en moindre quantité). Le second bassin est riche en sels nutritifs et CO₂ qui induisent un développement du phytoplancton et une libération de dioxygène. Dans ce bassin les bactéries pathogènes sont éliminées. Dans le troisième et dernier bassin, on observe le développement de zooplancton qui se nourrit du phytoplancton produit dans le second bassin et de bactéries. Il y a consommation de CO₂ et une clarification de l'eau par des petits crustacés (site: les traitements de l'eau). Des espèces macrophytes sont souvent plantées mais leur effet sur la rétention des nutriments n'a pas été démontré.

Les avantages sont une bonne élimination des bactéries, une bonne réponse aux variations de charge et l'utilisation de peu d'énergie avec une exploitation simple et une bonne intégration paysagère, cependant le système « filtres plantés » est une filière moins coûteuse à l'exploitation quotidienne et plus simple que le lagunage. Les inconvénients sont des performances épuratoires faibles, le besoin d'une grande surface, un curage et un entretien des berges fastidieux, une mise en service qui doit se faire petit à petit et des dysfonctionnements possibles (site: les traitements de l'eau). Les causes principales de dysfonctionnement sont la disparition des algues, une absence d'oxygénation induisant des odeurs désagréables pour le voisinage, une surcharge organique due à des effluents trop concentrés en DBO₅ et septiques, etc (Racault et al., 2004). Des solutions ont été envisagées telles que l'implantation de macrophytes sans grande amélioration des performances et une oxygénation par système d'aération électromagnétique, utilisé à la sucrerie d'Erstein, qui a mené à des performances légèrement supérieures (site: les traitements de l'eau). Une autre solution est l'implantation en

amont d'un filtre planté de macrophytes ou l'implantation en aval d'un traitement tertiaire comme un filtre à sable pour induire une nitrification (Racault et al., 2004).



Figure 1-16 : Photo d'un bassin lagunaire. Source: site traitement des eaux

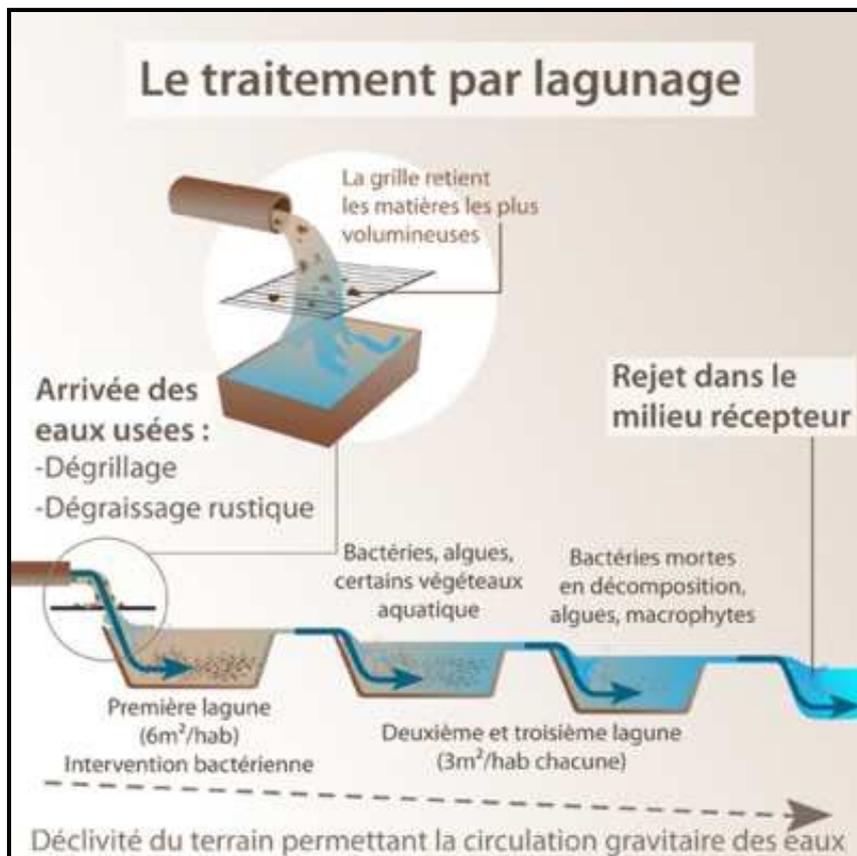


Figure 1-17 : Schéma de la filière lagune. Source : assainissement.ooreka.fr

L'élimination des nutriments dans ce type de système est estimée à 60-70 % d'azote global et de phosphore total. Lorsque les lagunes sont utilisées en traitement tertiaire, on n'observe aucun rôle majeur de la nitrification et de la dénitrification mais la forte baisse en ammonium constatée démontre que le processus majeur d'élimination de l'azote serait la volatilisation de l'ammoniac. Le phosphore peut être capté et oxydé dans le sédiment, donc stocké dans les boues, mais aussi assimilé par les algues. Ces phénomènes sont améliorés par la présence de plusieurs lagunes. En traitement tertiaire, l'élimination de l'azote peut varier entre 20 et 100% et celle du phosphore entre 0 et 78% (Maynard et al., 1999).

4.2.3 Les taillis à très courte rotation (TTCR)

Le taillis à très courte rotation (TTCR) est une culture pérenne d'une durée de vie d'une vingtaine d'année, destinée à la production de bois énergie avec une récolte tous les trois ans (**Figure 1-18**). L'implantation des végétaux se fait au printemps avec un recépage à 10 cm du sol l'hiver qui suit pour une croissance en têtards, puis les saules sont recépés au rythme normal tous les 2 à 3 ans. L'implantation et la récolte des végétaux demandent des engins spécifiques. Même si le but premier est la production de biomasse, les TTCRs peuvent être utilisés en traitement tertiaire (boues d'épuration, eaux municipales, eaux industrielles,...). Dans tous les cas, la fertirrigation et l'épandage améliorent la croissance des espèces. Les apports conseillés en azote et phosphore se situent entre 47 et 75 Kg N/Ha/an et entre 6 et 11 Kg P/Ha/an. (Site association AILE).

Les essences utilisées sont majoritairement le saule, le peuplier et l'eucalyptus. Une étude comparant le peuplier et le saule, a démontré que le saule était un meilleur choix de par son système racinaire développé (Guidi Nissim et al., 2015) et sa meilleure résistance aux inondations (Fillion et al., 2009).

La réponse des plantes à l'amendement en azote varie. La meilleure réponse des plantes du point de vue de leur croissance est observée lors de l'application d'eaux usées (40%) et la moins bonne réponse (10%) est associée à l'épandage de cendres. Pour la croissance des saules, ce sont les boues d'épuration qui donnent les meilleurs résultats (Marron, 2015).



Figure 1-18 : Photo d'un taillis à très courte rotation de peuplier (TTCR). Source : site charleslebbe.be

4.2.4 Les dispositifs enherbés

4.2.4.1 Définition

La mise en place de dispositifs enherbés est une proposition des pouvoirs publics, lié à la Politique Agricole Commune (PAC), pour lutter contre les pollutions diffuse des eaux de surface (Dorioz and Gascuel, 2009). Ils sont définis comme « toute surface en herbe susceptible d'intercepter des écoulements de surface diffus ou concentrés » (Corpen, 1997). Il en existe plusieurs types tels que les bandes enherbées, les coins de parcelle enherbés, les chenaux enherbés de talweg, les bordures étroites de champs, les prairies et les friches (site : Onema, les zones tampons). Le type le plus utilisé est la bande tampon enherbée rendue obligatoire à proximité des cours d'eau, située en aval des zones agricoles avec une infiltration plus ou moins importante et une évolution avec le temps et les types d'apports (Dorioz and Gascuel, 2009).

4.2.4.2 Fonctions des bandes enherbées (Dorioz and Gascuel, 2009)

- **Des fonctions assurant la protection de la ressource en eau :**
 1. sédimentation des particules (terre et substances adsorbées), infiltration de l'eau de surface et des solutés associés, frein au ruissellement et par conséquent limitation de l'érosion
 2. adsorption de substances polluantes sur le sol en relation avec la matière organique présente, dégradation des produits phytosanitaires
 3. absorption d'éléments solubles par les végétaux
 4. dilution de la pollution (zone non traitée) et/ou éloignement de la zone de culture de la rivière (ex. dérive lors de la pulvérisation)

- **Des fonctions améliorant la production agricole :**
 5. limitation des pertes de terre

- **Autres fonctions environnementales :**
 6. zone refuge pour les espèces animales et végétales, dont les limaces et les rongeurs

4.2.4.3 Efficacité des bandes enherbées

Les bandes enherbées ont démontré une efficacité dans la rétention des matières en suspension de 50 à 60% pour une largeur de bande de 1 mètre, 60 à 90 % pour une largeur de 4 à 5 mètres et de 90 à 99% pour une largeur de 10 mètres (Magette et al., 1989; Van Dijk et al., 1996). Elles permettent de prévenir l'érosion des sols, fonction qui est améliorée avec l'âge des végétaux. La rétention de l'eau y augmente avec la rugosité et par conséquent la densité des végétaux (Van Dijk et al., 1996). La rétention des nutriments est variable dans ce type de système. Magette et al. (1989), ont observé une rétention nulle de l'azote total et de 27% du phosphore total pour une largeur de bande de 4 à 5 mètres, pourcentage de rétention très peu amélioré par une augmentation de la largeur de la bande contrairement aux matières en suspension. Au contraire, Vought et al. (1995) observent une rétention du phosphore de 95% pour un apport de 2 mg P/L et de l'azote de 75% pour un apport de 8 mg N/L pour une bande

tampon de 10 mètres. Les pesticides sont mieux retenus dans les zones tampon enherbées que sur les zones nues sans induire une pollution des eaux souterraines (Dousset et al., 2010).

5 Les Zones tampon végétalisées

En France, les zones de rejet végétalisées sont des espaces aménagés entre la station d'épuration et le milieu récepteur de rejets des eaux usées traitées. Cet aménagement ne fait pas partie de la station de traitement des eaux usées (Prost-Boucle et al, 2013, site EPNAC-IRSTEA, Analyse réglementaire des Zones de Rejet Végétalisées). Dans notre étude, nous avons décidé d'employer le terme de zones tampon végétalisées, le tampon étant défini comme « zone s'interposant entre un milieu fortement anthropisé et une ressource naturelle afin de limiter les effets néfastes d'un contact direct que ce soit en termes de pollution, de nuisances et de perturbation biologiques. » (Girard et al., 2007), ce terme nous a semblé adapté à la dénomination de ces zones de protection du milieu récepteur. Le groupe Epnac (Evaluation des Procédés Nouveaux d'Assainissement des petites et moyennes Collectivités) a recensé les différents types de ZRV: celles utilisant le sol en place (prairie, bassin (34% des ZRVs), des noues (36% des ZRVs) et celles utilisant des matériaux rapportés (géomembrane, gravier, sable) (**Figure 1-19**) (Boutin et Prost-Boucle, 2012). Les conclusions de l'atelier ZRV du groupe EPNAC, (site EPNAC-IRSTEA,) précisent que « la ZRV n'est pas une zone humide parce qu'il n'y a pas de présence prolongée d'eau d'origine naturelle. Effectivement, la morphologie des sols des ZRV n'impose pas systématiquement une présence prolongée d'eau. De plus, l'eau introduite n'est pas d'origine naturelle. ». En ce qui concerne le cas des bandes enherbées, souvent vues comme des ZTVs, elles sont considérées comme « spécifiques à l'atténuation des pollutions diffuses (pesticides, engrais, sédiments, etc.) notamment en agriculture. » Ils concluent donc que « les ZRVs ne sont ni des zones humides, ni des bandes enherbées » ce qui n'exclut pas le fait que ces dernières ne soient pas inspirées du fonctionnement des zones humides naturelles.

5.1 Les zones tampon végétalisées en France (Prost-Boucle et Boutin, 2013)

En France, l'enquête réalisée par l'Epnac a noté un engouement de ce type de traitement tertiaire à partir de 2004, et recensé 560 ZRV dans 54 départements ayant répondu à l'enquête; il a été relevé un nombre important dans les Alpes Maritimes avec 157 ZRV. 75% des ZRV reçoivent des eaux usées et 16% des eaux usées avec déversoirs d'orages. 52% sont situées après des filtres plantés de roseaux, 21% après des traitements à boues activées et 13% après des lagunes; 50% sont situées dans des stations dimensionnées pour moins de 500 équivalent-habitant (EH). On observe une importante amplitude de surface variant entre 0,01 et 50

m²/EH démontrant qu'il n'existe aucune logique de construction et qui s'explique par le fait que les ZRVs sont construites sur les surfaces restantes des parcelles des STEPs.

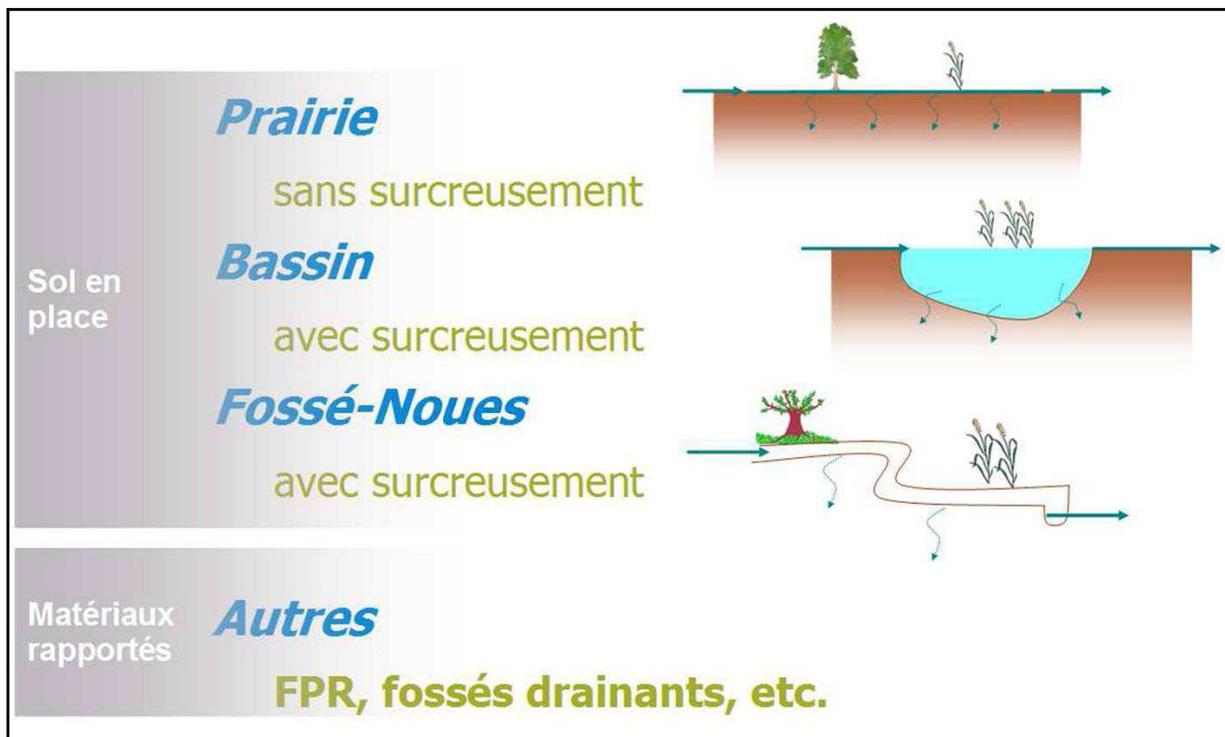


Figure 1-19 : Classification des zones tampon végétalisées (Prost-Boucle et Boutin, 2013). FPR=Filtres plantés de roseaux

5.2 Fonctionnement d'une Zone Tampon Végétalisée

La zone tampon végétalisée est une zone d'infiltration et percolation dans laquelle sont plantées des espèces végétales typiques des zones humides (macrophytes, espèces de ripisylve). Dans une ZTV type noues, l'eau s'écoule dans la noue, chenal longitudinal large et de faible profondeur. Une partie s'infiltré, la quantité dépendant de la perméabilité du sol, une partie est évapotranspirée et l'eau qui n'a pas été retenue est rejetée dans le milieu récepteur (**Figure 1-20**).

Les fonctions attendues (Prost-Boucle et Boutin, 2013)

Le choix d'implanter ou non une zone tampon végétalisée appartient à la commune. Les maires des communes possédant une ZTV ont été interrogés sur les raisons de la construction de la ZTV et donc sur les fonctions attendues. L'enquête de l'EPNAC a recensé 3 fonctions principales:

1. Diminution des volumes rejetés au milieu naturel (2/3 des ZTV)
2. Réduction des micropolluants, bactéries, azote et phosphore
3. Rétention des matières en suspension résiduelles

Des fonctions comme l'intégration paysagère et le faible coût sont aussi des paramètres qui peuvent orienter les maires des communes vers l'installation de ZTV.

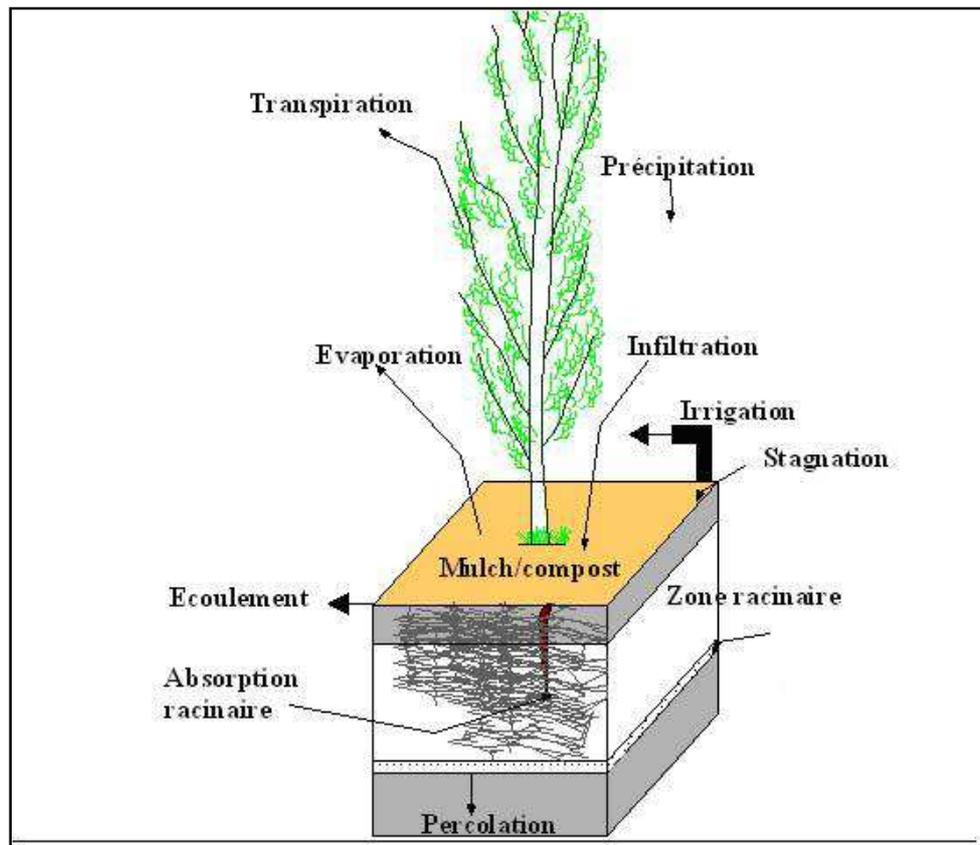


Figure 1-20 : Processus hydrauliques lors de la fertirrigation d'une ZTV (modifié de Licht and Isebrands, 2005)

Premiers résultats observés (Boutin et Prost-Boucle, 2012)

Peu d'études ont été réalisées sur les ZTV en France. Cependant les premières observations sur des ZTV de tous types, démontrent que la baisse des volumes rejetés dans le milieu naturel dépend de la perméabilité du sol et que les végétaux n'ont qu'un rôle mineur dans la réduction des flux. Pour la rétention des matières en suspension, on peut observer un colmatage de la zone nécessitant l'évacuation de la couche superficielle, notamment si la zone a été utilisée comme filtre de secours (mise en by-pass) lors du dysfonctionnement de la STEP. Dans les eaux d'écoulement, une baisse de l'azote peut être observée si le temps de rétention

est adapté, mais un temps de rétention trop long (supérieur à quelque jours) empêche la baisse de la concentration en pathogènes. Dans le sol il existe un risque de lessivage, notamment des nitrates, en profondeur et on n'observe que très peu de dénitrification. La rétention du phosphore dépend des conditions physicochimiques du sol. Les végétaux retiendraient en moyenne 3 à 15g/P/m² et 180 à 250gN/m². Le dimensionnement adapté pour une efficacité de 90 % de réduction des nutriments par rapport aux apports entrants dans la station d'épuration (concentrations des eaux usées brutes) avec un système boues activées à déphosphatation spécifique (capable de réduire la concentration en nutriments de 80%) serait de 1m²/EH pour l'azote et 2m²/EH pour le phosphore. Notre étude permettra d'affirmer ou infirmer ces conclusions.

6 Les espèces végétales des zones humides

Dans les zones humides, on trouve une variété d'espèces végétales, des algues, des plantes vasculaires aquatiques et semi-aquatiques et des espèces ligneuses. Les espèces aquatiques peuvent avoir des dénominations différentes. On peut parler d'espèces hygrophiles (hygrophytes) définies comme « toutes les plantes qui poussent en milieu humide mais, selon leur niveau d'adaptation, celles-ci se distribuent selon des gradients d'humidité et/ou de salinité » (site zones-humides.eaufrance.fr). Les espèces de zones humides en eau peuvent être appelées macrophytes définies comme « Ensemble des végétaux aquatiques, visibles à l'œil nu et aisément identifiables » (Haury et al., 2008a). On sépare les espèces héliophytes définies comme « végétaux qui poussent les pieds dans l'eau, mais qui développent leur appareil aérien hors de l'eau » (Haury et al., 2008a) et les espèces hydrophytes définies comme « végétaux qui poussent totalement immergés ou flottent librement à la surface de l'eau » (Haury et al., 2008a) ; parmi les hydrophytes on distingue les hydrophytes nageants, libres appelés pleustophytes (comme les Lemnacées) et les hydrophytes radicants attachés au substrat. Cependant, dans les zones humides sont aussi présentes des espèces ligneuses hygrophiles dites « de ripisylve » telles que le saule, l'aulne, le peuplier noir, le fusain, le cornouiller, etc.

Dans le milieu naturel, on observe une zonation transversale des espèces des plans d'eau (**Figure 1-21**), avec sur les berges les espèces ligneuses de la ripisylve suivies d'une zone de végétation amphibie avec des caricides, des phragmitides, puis des cressonnières, vient ensuite la zone en eau avec une végétation à feuilles flottantes avec des batrachiides puis des nymphéides et enfin des végétaux submergés, isoétides, charides et myriophyllides (Haury and Muller, 2008b).

6.1 Rôle fonctionnel des espèces des zones humides

Les zones ripariennes permettent une protection des eaux de surface et des eaux souterraines (**Figure 1-22**). Ces zones permettent une augmentation de la rugosité hydraulique qui diminue la vitesse de ruissellement et permet une meilleure rétention des matières en suspension, mais aussi de l'azote et du phosphore (Vought et al., 1995; Lee et al., 2003). Ce rôle protecteur de la zone riparienne est supérieur à celui d'une plaine inondée (Brunet et al., 1994) et est d'autant plus efficace que la zone riparienne est large (Comin et al., 2016).

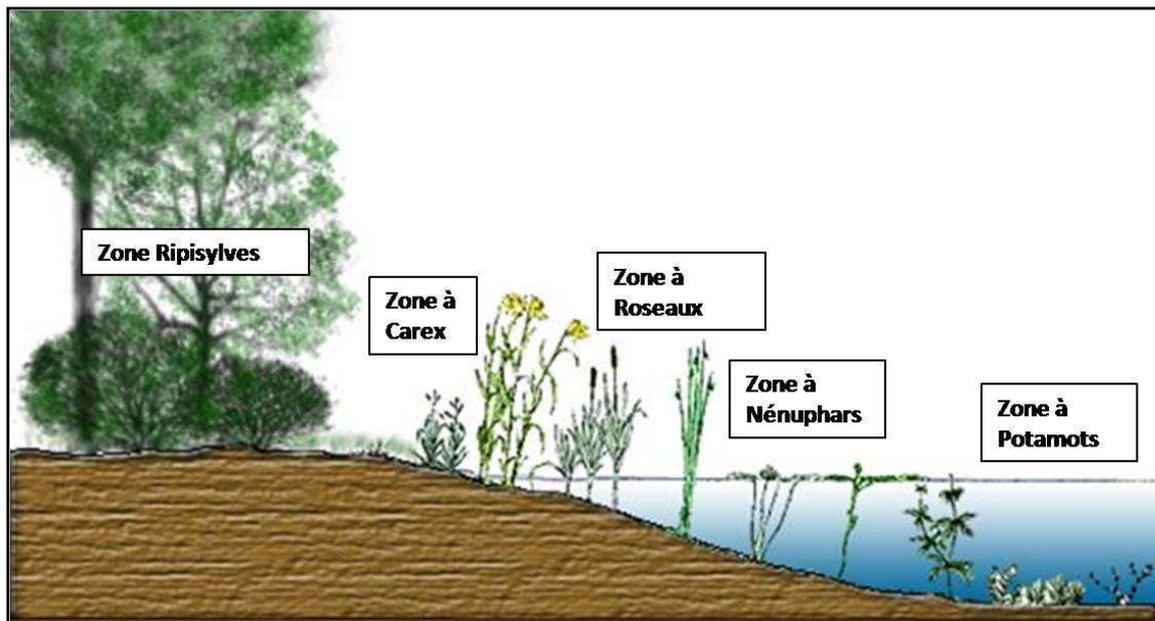


Figure 1-21 : Zonation transversale des espèces végétales dans un étang. (Source: <http://atelierpeche.free.fr>)

Cette zone a aussi un rôle dans le développement de la faune et de la flore du cours d'eau et améliore l'oxygénation de l'eau en fournissant de l'ombre et réduisant la température de l'eau dans les plans d'eau stagnante. Dans les zones humides construites, et notamment les TTCR, le choix de l'espèce ligneuse se porte sur le saule. Le saule est une espèce à croissance rapide produisant une importante biomasse. Sous fertirrigation, cette biomasse pourrait être augmentée de 30 à 100% par rapport à des apports exclusifs d'eau pluviale et montrerait des capacités importantes dans la rétention de l'azote, entre 75 à 95% lorsque les apports sont de l'ordre de 200Kg N/ha/an (Börjesson and Berndes, 2006; Elowson, 1999). Cependant la rétention de l'azote se fait essentiellement dans les feuilles, impliquant une coupe des arbres avant la chute des feuilles lorsque l'objectif principal est la rétention des nutriments et non la production de biomasse. De plus, le saule a une importante capacité d'évapotranspiration pouvant atteindre 1190 mm d'eau durant la saison de croissance et en moyenne 6 mm d'eau par jour, avec un coefficient de culture (rapport entre l'évapotranspiration d'une culture et l'évapotranspiration potentielle de référence, la référence choisie étant souvent la végétation herbacée) de 2,84 (Guidi et al., 2008; Hall et al., 1998). Si la saturation en eau du sol est un élément défavorable à la croissance des arbres, le saule espèce pionnière des zones inondables, supporte plusieurs jours d'inondation, voire plusieurs mois (Ruffinoni et al., 2003). Dans une étude sur des TTCR de saule et peuplier, le saule a montré une meilleure résistance aux fortes irrigations que le peuplier, avec une mortalité nulle et un diamètre des pieds équivalent à celui du contrôle (Fillion et al., 2009).

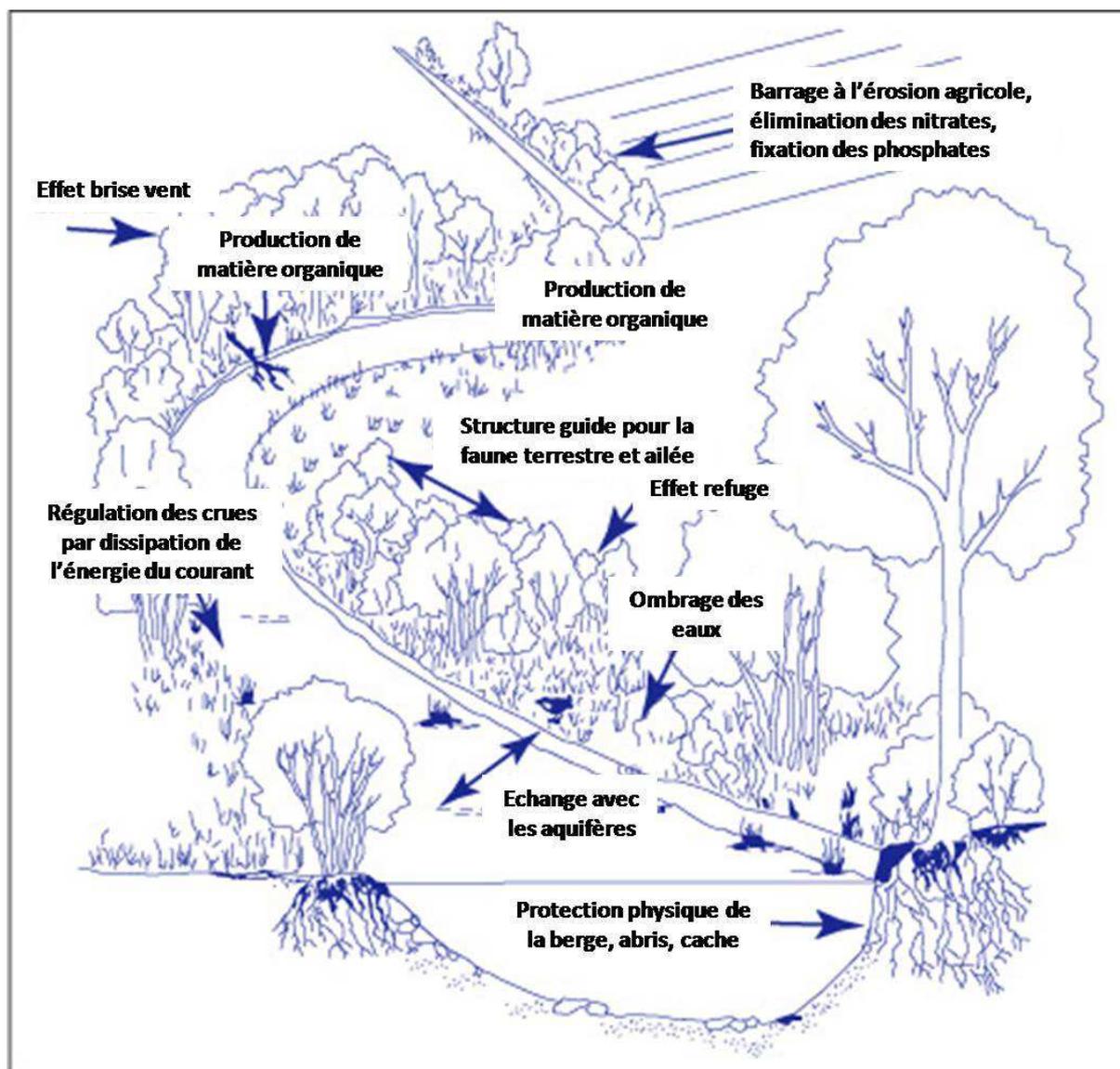


Figure 1-22: Rôle fonctionnel de la ripisylve. (Source: <http://atelierpeche.free.fr>)

Les espèces de macrophytes se distribuent en fonction de nombreux facteurs tels que l'hydraulique et la trophie de l'eau (Abou-Hamdan et al., 2005; Haury and Muller, 2008b; Trémolières et al., 2008). On les a utilisées comme outil de détermination de la qualité de l'eau à travers l'indice IBMR (Indice Biologique Macrophytique en Rivière) (Abou-Hamdan et al., 2005; Daniel et al., 2005; Haury et al., 2006). Les macrophytes ont une capacité d'amélioration de l'élimination des nutriments observée dans de nombreuses études (Fink and Mitsch, 2007; Lin et al., 2002; Picard et al., 2005). Outre leur capacité de rétention variant d'une espèce à l'autre, ils améliorent les processus microbiologiques d'élimination de l'azote, notamment en créant des micro-sites aérobie dans le sol permettant aux processus de nitrification/dénitrification de se mettre en place simultanément (Reddy et al., 1984; Penton et al., 2013; Tsiknia et al., 2013). Le processus de dénitrification est régi, entre autre, par la quantité

de matière organique du sol, or les macrophytes comme les espèces ligneuses sont des producteurs de matière organique via le matériel aérien mais aussi la rhizosphère, cependant la décomposition de la MO a pour effet de libérer les nutriments stockés (Angeloni et al., 2006). Dans les zones humides construites l'espèce la plus utilisée est *Phragmites australis* mais aussi *Typha* sp, *Glyceria* sp, *Iris* sp, *Carex* sp, etc. D'après le tableau de référence du niveau trophique des macrophytes établi pour l'indice IBMR par Haury et al. (2006), les espèces citées précédemment sont des espèces des milieux mésotrophes voire eutrophes (Score=CSi≤10 dans une gamme de 1 à 20) avec une large amplitude écologique (Ei=1 dans une gamme de 1 espèce euryèce à 3 espèce sténoèce), excepté *Phragmites australis* (Ei=2) qui peut couvrir trois classes de trophie. Brix (1997) a listé le rôle des macrophytes dans les zones humides construites. Ils stabilisent le substrat de la zone, ils améliorent la filtration des matières en suspension en empêchant le phénomène de colmatage. Ils protègent le sol des effets du gel et procurent une large surface d'attache pour la croissance microbienne. Leur rôle important dans la rétention des nutriments n'est vrai que lors de charges faibles (Brix, 1997). Enfin ils offrent un habitat pour la faune (poissons, invertébrés).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Trois sites ont été sélectionnés pour cette étude, deux ZTVs situées en aval de station d'épuration en fonctionnement (Raon et Liebsdorf), et un site expérimental (Colmar).

1 Présentation et aménagement des sites

1.1 Raon sur Plaine

Le site de Raon sur Plaine (48°30'42,3''N, 07°05'42,3''E) est localisé dans le département des Vosges (Lorraine) où les précipitations annuelles sont estimées à 807 mm par an (Météo France, moyennes années 2012-2015).

La station d'épuration végétalisée a été mise en service en 2007, pour traiter les effluents d'origine domestique de la commune de Raon sur Plaine. Elle est dimensionnée pour 260 Equivalents Habitants (EH), mais tous ne sont pas encore raccordés au réseau, la station est donc pour le moment surdimensionnée par rapport aux charges reçues. Elle est composée d'un unique étage de traitement de 405 m², appelé filtre planté de roseaux à écoulement vertical, composé de trois lits de 135 m² alimentés alternativement. Les effluents de sortie de l'étage de traitement sont ensuite acheminés vers une Zone Tampon Végétalisée de 290 m² dans laquelle l'eau en sortie de station s'infiltre totalement. Le système est raccordé au ruisseau des Gouttes Guyot, milieu récepteur des effluents venant de la ZTV (**Figure 2-1**). La charge hydraulique journalière moyenne entrant dans la station est de 49,5 m³/j soit 27,5% de la capacité nominale de la station (données SATESE 2014).

La Zone Tampon Végétalisée de Raon est composée de deux noues parallèles de 2x60m qui se rejoignent en une noue terminale de 2x25m reliée au milieu récepteur. La charge hydraulique journalière moyenne entrante est de 50 m³/j.

La ZTV est uniquement plantée d'espèces ligneuses. Plusieurs espèces de saules et d'aulnes ont été disposés sur les bords des deux noues parallèles avec une densité de 9500 saules/Ha : *Salix viminalis* L., *Salix purpurea* L., *Salix caprea* L. et *Salix fragilis* L. et *Alnus glutinosa* : ces végétaux sont recépés tous les ans. Des lentilles d'eau (*Lemna minor* L.) sont apparues au cours de l'étude dans la noue 2 (**Figure 2-2**).

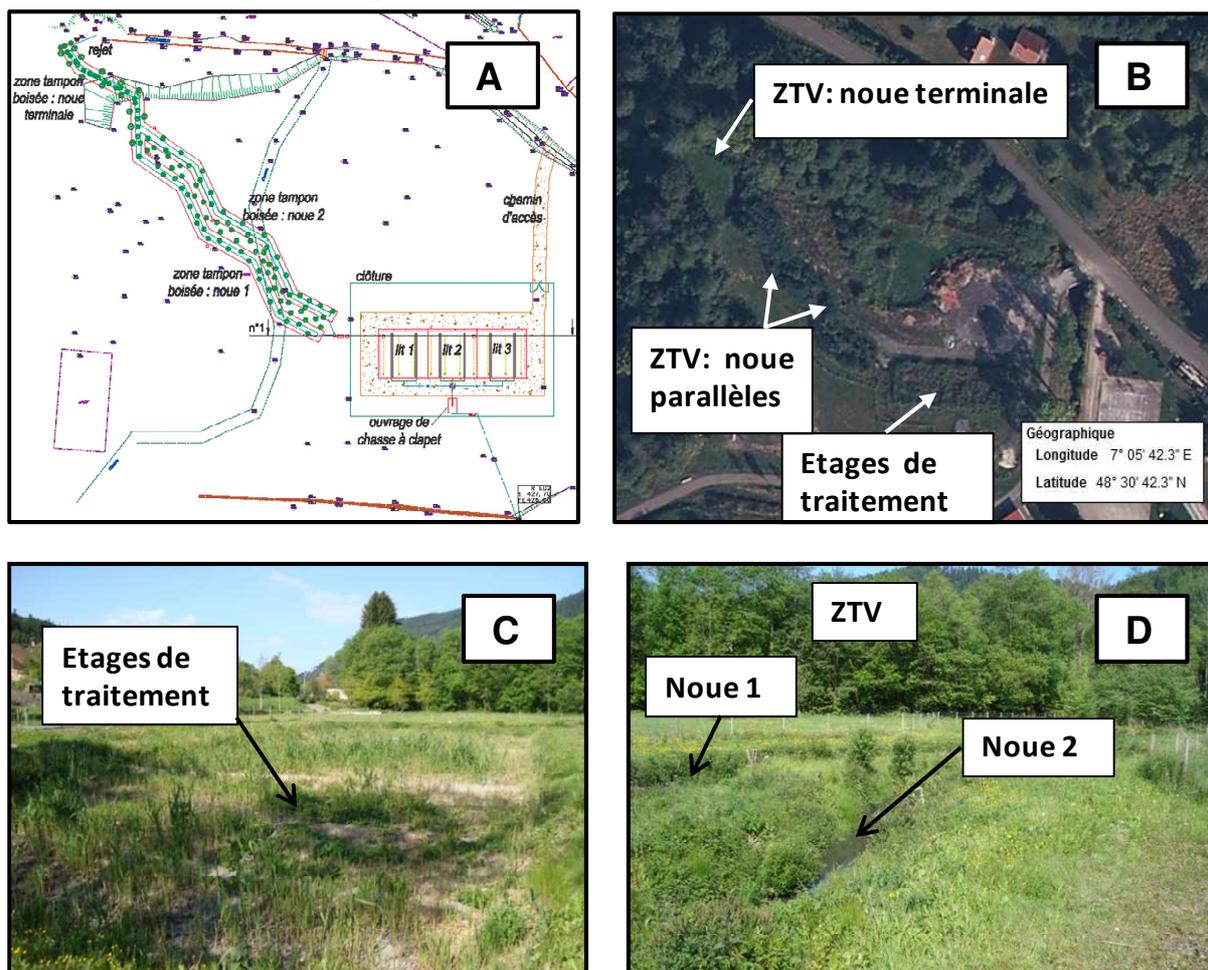


Figure 2-1: Station de Raon sur Plaine A : plan représentatif des différentes structures de la station, B : photographie aérienne de la station (source géoportail, données 2010), C et D : photographies de la station (M ai 2014, source personnelle)

Aux abords de la ZTV on a recensé d'autres espèces végétales telles qu'*Epilobium hirsutum*, *Dactylis glomerata*, *Plantago lanceolata*, *Urtica dioica* L., *Juncus sp*, *Veronica officinalis*, *Rubus sp*, etc.

Le substrat est du sable gréseux. Le sol est fortement remanié. A 30 cm de profondeur se trouve une dalle de grés pouvant être identifiée comme la roche mère. Au niveau des deux noues parallèles se trouvent les restes (briques,...) d'une ancienne usine (**Tableau 2-1**).

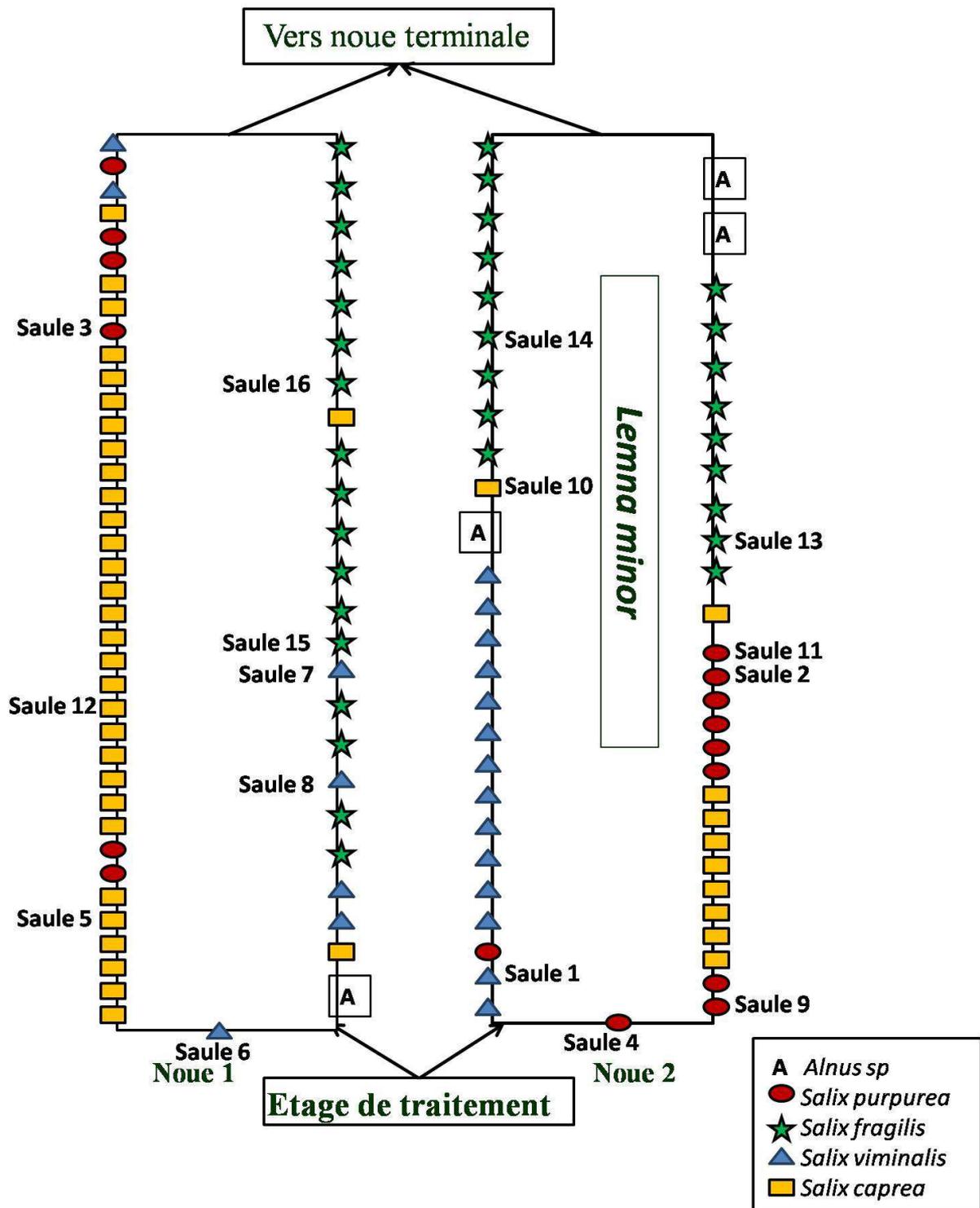


Figure 2-2 : Répartition de la végétation dans les deux noues de la ZTV de Raon sur Plaine. Les saules numérotés de 1 à 3 sont ceux choisis pour l'étude du contenu en nutriment, ceux numérotés de 1 à 16 sont les saules sélectionnés pour l'étude de la biomasse

Tableau 2-1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de Raon sur Plaine déterminées au début de l'étude

Profondeur (cm)	pH moyen	% moyen en matière organique	Conductivité hydraulique à saturation moyenne=Ks (cm/jour)	Granulométrie		
				% Sable	% limon	% Argile
3 à 8	6,84	9,28	1857,78	91,44	6,29	2,27
13 à 18	7,06	6,26	1523,03	91,68	6,19	2,13
19 à 24	7,27	6,92	1776,60	94,43	4,59	0,98

1.2 Liebsdorf

Le site de Liebsdorf (47°28'52,4''N, 07°13'50,6''E) est localisé dans le département du Haut-Rhin (Alsace) où les précipitations annuelles sont estimées à 807 mm (**Météo France moyenne des années 2012-2015**). La station se trouve dans un village en replat de hauts de collines à pente faible, au milieu du versant, dans les collines marno-calcaires du Jura Alsacien.

La station d'épuration a été mise en service en 2009, pour traiter les effluents d'origine domestique de la commune de Liebsdorf. Elle est dimensionnée pour 350 Equivalents Habitants (EH), mais tous ne sont pas encore raccordés au réseau, la station est donc pour le moment surdimensionnée par rapport aux charges reçues. Elle est composée de deux étages de traitement. Le premier est un filtre planté de roseaux à écoulement vertical de 675 m² composé de trois lits de 225 m² alimentés alternativement. Le second étage est un filtre planté de roseaux à écoulement vertical de 450 m² composé de trois lits de 150 m² alimentés alternativement. Les effluents de sortie des filtres plantés sont ensuite acheminés vers la Zone Tampon Végétalisée de 152 m² dans laquelle l'eau s'écoule vers le fossé du Liebsdorfergraben (**Figure 2-3**). La charge hydraulique journalière moyenne entrant dans la station est de 145 m³/j (**données SATESE 2011-2014**).

La Zone Tampon Végétalisée de Liebsdorf est composée de deux noues parallèles de 2x38m se rejoignant en un seul écoulement souterrain relié au milieu récepteur. La charge hydraulique journalière moyenne entrante est de 82 m³/j.

Les bords des deux noues parallèles sont plantés de saules avec une densité de 3550 saules/Ha, (*Salix viminalis* L., *Salix purpurea* L., *Salix alba* L. et *Salix fragilis* L.), qui ont été

recépés pour la première fois en Décembre 2014. A l'intérieur des noues se trouvent de nombreuses espèces d'hélophytes faucardées en janvier 2014 et 2015. Ces hélophytes sont répartis par bandes transversales ; la répartition a évolué durant la première année de l'étude, entre mars 2013 et mars 2014. Au début de l'étude, la noue 1 était occupée de l'amont vers l'aval par la menthe aquatique (*Mentha aquatica* L.), la Véronique (*Veronica beccabunga* L.), les lentilles d'eau (*Lemna minor* L.) et la massette (*Typha latifolia* L.). Dans la noue 2, on observait une grande surface d'Iris (*Iris pseudacorus* L.) quelques plants de rubaniers (*Sparganium erectum* L.), une zone de roseaux (*Phragmites australis* Cav.) mélangés avec des plants de *Carex acutiformis* L. puis une zone de massettes. Les bords des noues, sont colonisés aussi par plusieurs individus de *Juncus effusus* L. et *Juncus conglomeratus* L. Durant l'hiver 2013-2014, la véronique a disparu laissant place au pâturin des marais (*Poa palustris* L.) et le rubanier (*Sparganium erectum* L.) s'est développé, réduisant la zone des Iris. (Figure 2-4)

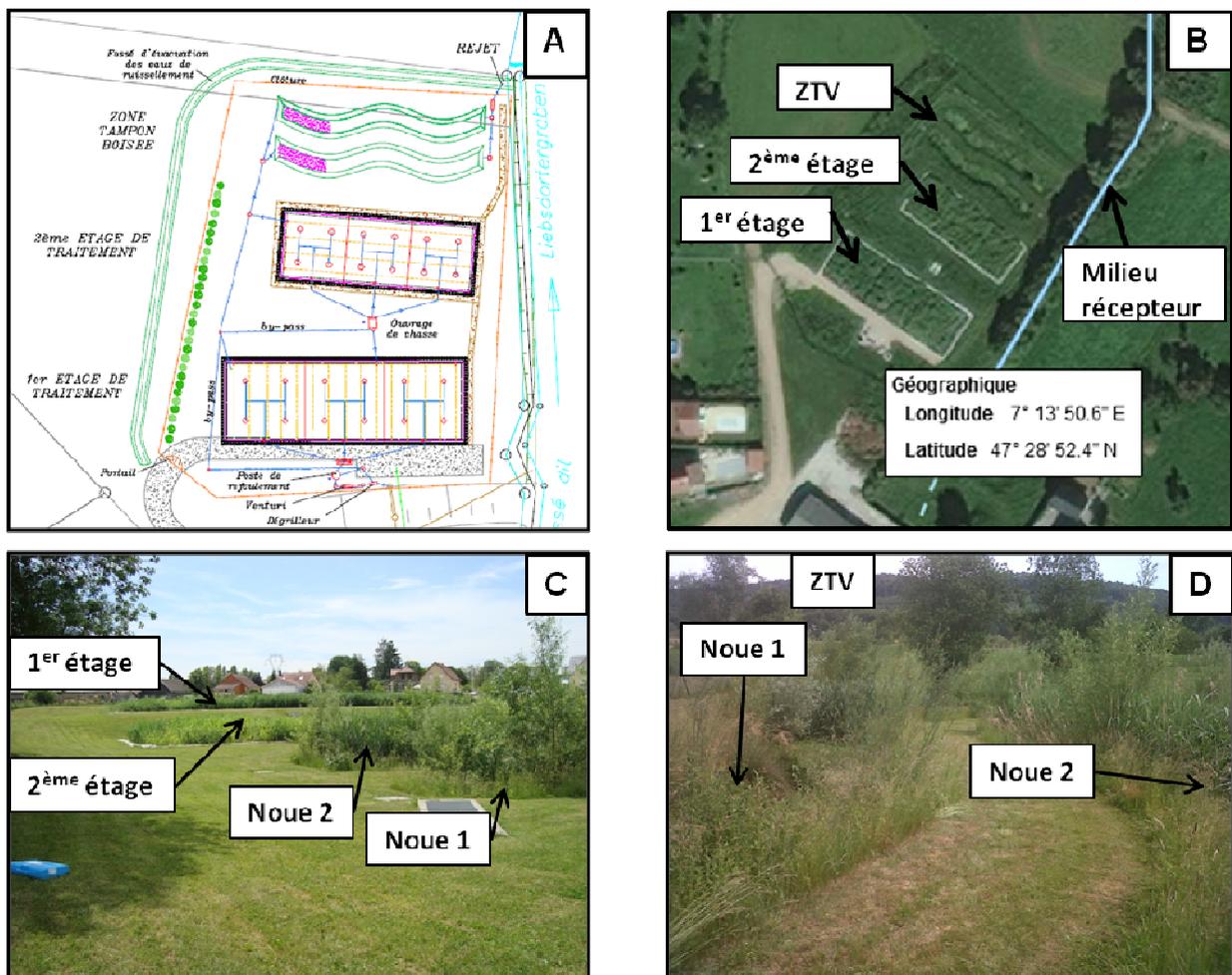


Figure 2-3: Station de Liebsdorf A : plan représentatif des différentes structures de la station, B : photographie aérienne de la station (source géoportail, données 2010), C et D : photographies de la station (source personnelle)

Le sol est un sol brun limono-argileux, hydromorphe par endroit. On note la présence de calcaire jusqu'à 58 cm de profondeur. En dessous de 60 cm le substrat est argileux, de type pseudogley avec des taches de rouille. Le substrat est fortement remanié du fait de la construction de la station car on observe des racines translucides à une profondeur de 90 cm pouvant dater de la construction de la station (**Tableau 2-2**).

Tableau 2-2 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de la ZTV de Liebsdorf déterminées au début de l'étude

Profondeur (cm)	Calcimétrie Moyenne (%CaCO ₃)	pH moyen	% moyen en matière organique	Conductivité hydraulique à saturation moyenne=Ks (cm/jour)	Granulométrie		
					%Sable	%limon	%Argile
65 à 70 (fond de noue)	6,92	7,97	6,57	7,35	19,03	59,67	21,30
75 à 80	6,21	7,97	6,10	0,08	10,40	64,53	25,07
85 à 90	12,23	7,81	11,27	79,38	24,23	54,27	21,50

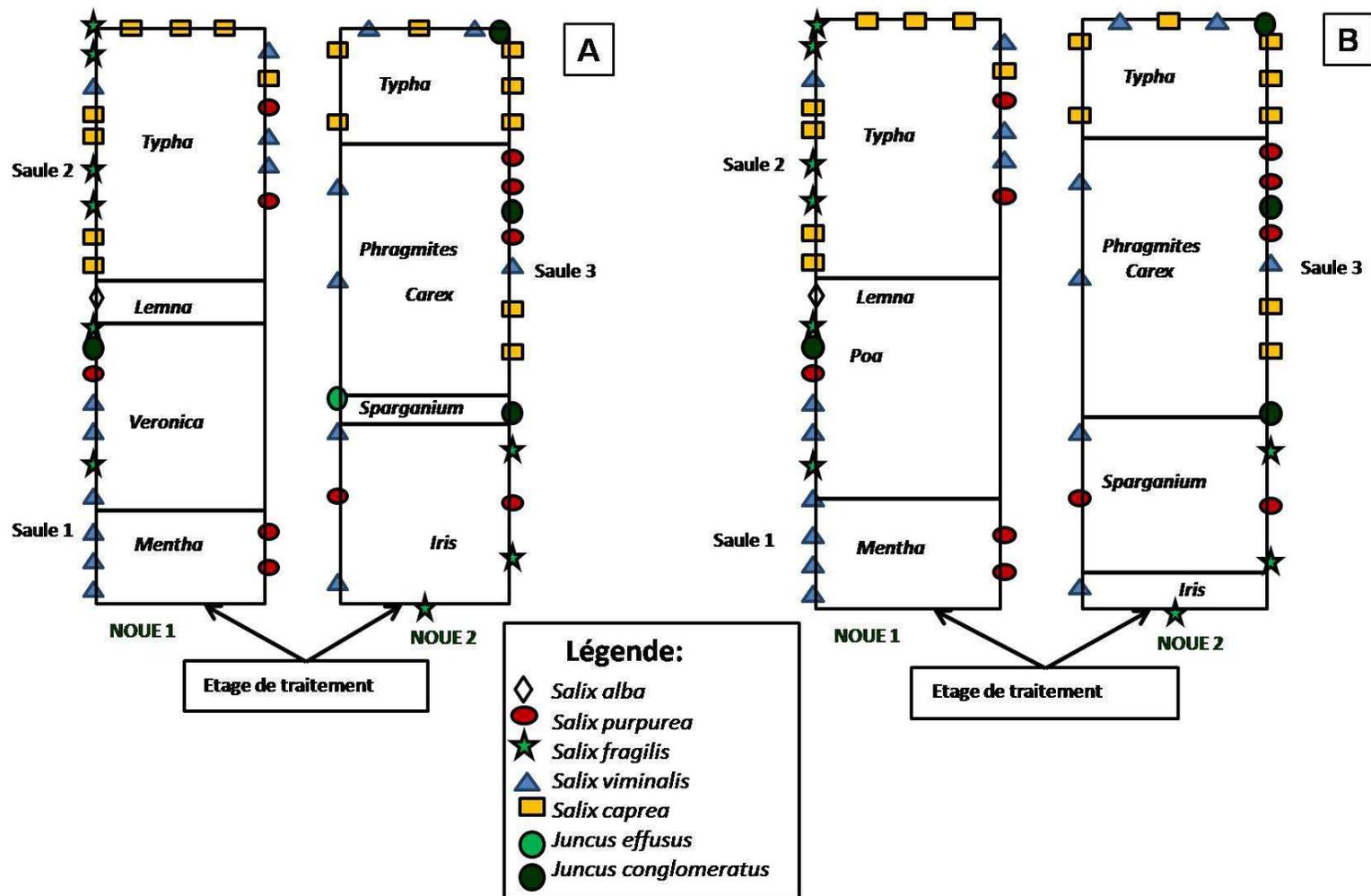


Figure 2-4 : Répartition de la végétation dans les deux noues parallèles de la ZTV de Liebsdorf, A : Mars 2013, B : Mars 2014
 NB : les saules numérotés de 1 à 3 sont ceux choisis pour l'étude

1.3 Le site expérimental de Colmar

Le site de Colmar (48°03'44,98''N, 07°20'04,10''E) localisé dans le département du Haut-Rhin (Alsace) en France, au niveau du Biopôle, sur le site de RITTMO (Centre Régional d'Innovation et de Transfert de Technologies, **CRITT**) spécialisé dans l'agroenvironnement. Dans cette région, les précipitations annuelles sont estimées à 562 mm (données moyennes de 2012 à 2015 mameteocolmar).

La Zone d'étude Boisée est composée de 6 noues dont 4 sont plantées de Saules et de peupliers ou bouleaux (noues A à D) et 2 sont plantées d'Aulnes et de peupliers ou bouleaux (Noues E et F). Chaque noue a une surface de 50 m² (2,5*20m (l*L)) (**Figure 2-5**). Sur ce site l'eau s'infiltré totalement. Les espèces ligneuses sont plantées directement à l'intérieur de la noue, et non sur les bords. L'intérêt de cette zone expérimentale dans le cadre de notre étude, est de pouvoir contrôler certains paramètres tels que le contenu en nutriments de l'eau apporté à chaque noue et la densité des saules. Pour cela des aménagements de la Zone tampon ont été nécessaires.

1.3.1 Aménagement de la Zone Tampon pour l'étude (Figure 2-6)

1.3.1.1 Système d'irrigation

Pour l'étude seules les quatre premières noues, plantées de saules, ont été utilisées et donc réaménagées. La surface des noues est ramenée de 50 m² à 25 m² afin de pouvoir apporter une irrigation suffisante. Pour cela une plaque étanche a été placée au milieu de la noue, les lysimètres présents dans les noues ont été étanchéifiés afin d'éviter un écoulement préférentiel de l'eau à l'intérieur de ces derniers lors de l'irrigation. Devant chaque noue, a été placée une cuve de 1m³ dans laquelle est effectué le mélange de nutriments.

Pour l'irrigation, dans chaque noue a été disposée, à une hauteur d'environ 40 cm, une rampe d'alimentation (tube PVC de 90 mm de diamètre). Cette rampe est fermée à son extrémité et percée de petits trous de 5 mm de diamètre permettant une irrigation homogène sur toute la longueur de la noue. Chacun de ces tubes est relié à la cuve de 1m³ ainsi qu'à une autre rampe d'alimentation unique (tube PVC) amenant l'eau du réseau, à l'aide de deux tuyaux de 20 mm de diamètre. La rampe d'alimentation unique, perpendiculaire aux quatre noues, est reliée à une borne incendie à l'aide de 4 tuyaux incendies de 60 mm de diamètre et de deux cols de cygnes.

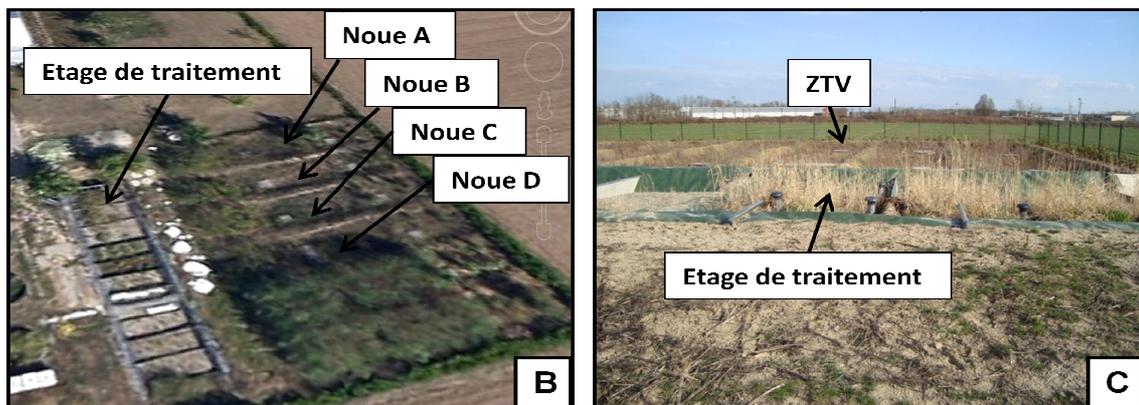
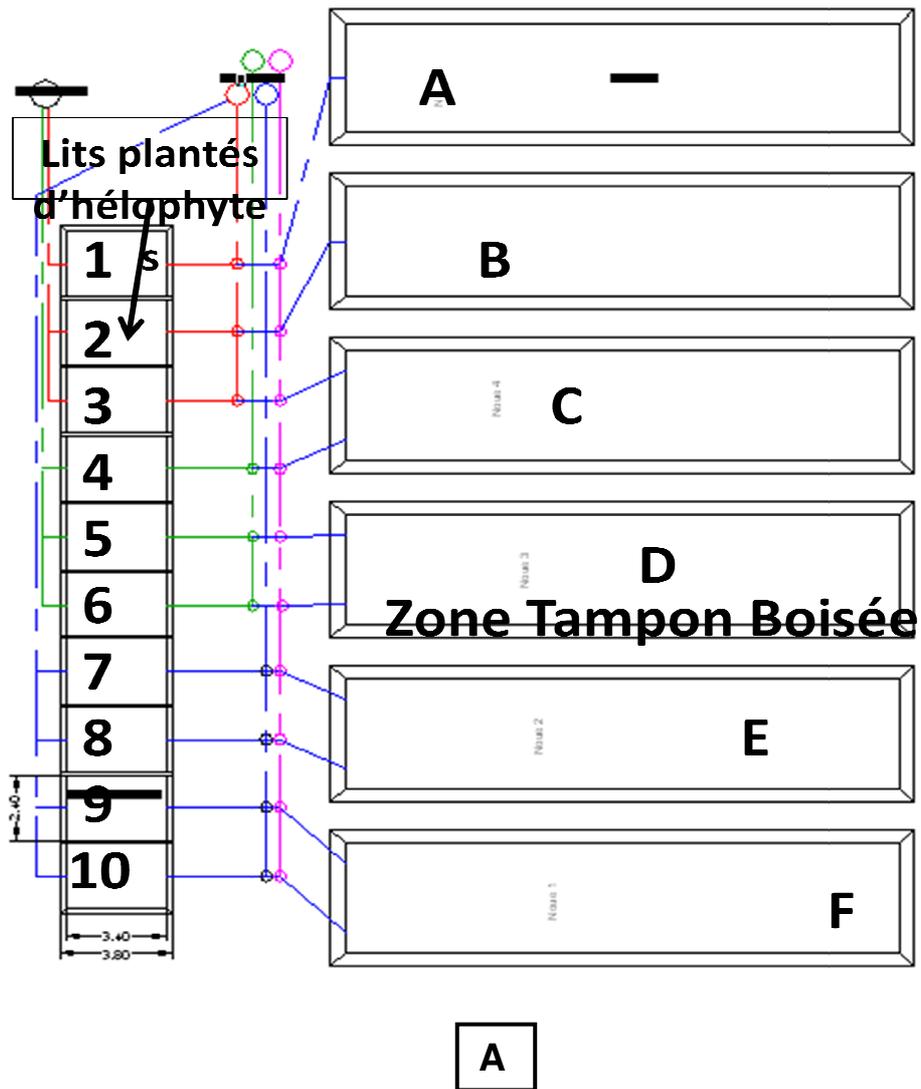


Figure 2-5 : Site expérimental de Colmar. A : plan représentatif des différentes structures du site. Les traits de couleurs montrent les interactions possibles entre les étages de traitement et la Zone Tampon, B : photographie aérienne du site. (Source Google Earth, données 2012), C : : photographie du site lors de sa construction (sourcepersonnelle)

1.3.1.2 Végétation

Quatre espèces de Saules ont été identifiées, *Salix viminalis* L., *Salix purpurea* L., *Salix fragilis* L. et *Salix triandra* L. dans les noues retenues pour l'étude (A, B, C, D) (**Figure 2-7**).

L'impact de la densité des saules sera étudié, c'est pourquoi la noue D a été replantée de saules en mars 2013 de façon à obtenir une densité de saules a priori double de celles des noues A, B et C. Afin de pallier à la mortalité des saules, des replantations adaptées ont été effectuées dans toutes les noues. Lors des expérimentations, nous avons observé que la densité de saules dans les noues A, B et C était de 10400 saules/ha et dans la noue D de 14 400 saules/ha, densité bien inférieure au doublement de densité par rapport aux autres noues, initialement prévu. Ceci est dû à une forte mortalité des boutures replantées.

1.3.1.3 Sol

Le sol est limoneux à argilo-limoneux, avec peu d'éléments grossiers. De 20 à 55 cm de profondeur, on observe une accumulation diffuse de carbonates. A partir de 65 cm on note la présence de poupe de loess pouvant aller jusqu'à 6 cm de long à environ 95 cm de profondeur (le test HCl est positif sur toute la profondeur de la fosse, caractérisant un sol calcaire). (**Tableau 2-3**).

Tableau 2-3 : Caractéristiques physicochimiques du sol du site de Colmar

Profondeur (cm)				Conductivité hydraulique à saturation moyenne=Ks (cm/jour)	Granulométrie		
	Calcimétrie moyenne (% CaCO ₃)	pH moyen	% moyen en matière organique		% Sable	% Limon	% Argile
CI 10 à 15	14,91	8,24	3,55	45,1	14,4	69,8	15,8
CII 28 à 32	22,69	8,33	2,63	456,87	6,9	73,8	19,3
CIII 60 à 65	33,28	8,48	2,95	134,7	8,9	73,9	17,2
CIV 90 à 95	32,13	8,56	1,25	31,46	7,4	78,4	14,2

1.3.1.4 Céramiques poreuses et tensiomètres

Dans le but d'étudier le transfert des solutés dans le sol, des céramiques poreuses et des tensiomètres ont été installés à différentes profondeurs. Les céramiques poreuses sont des tubes PVC creux de 63mm de diamètre, auxquels sont fixés des fonds en céramique, représentant la partie poreuse du système. Les céramiques sont fermées par des bouchons équipés d'un tube en plastique souple et d'une pince de mohr.

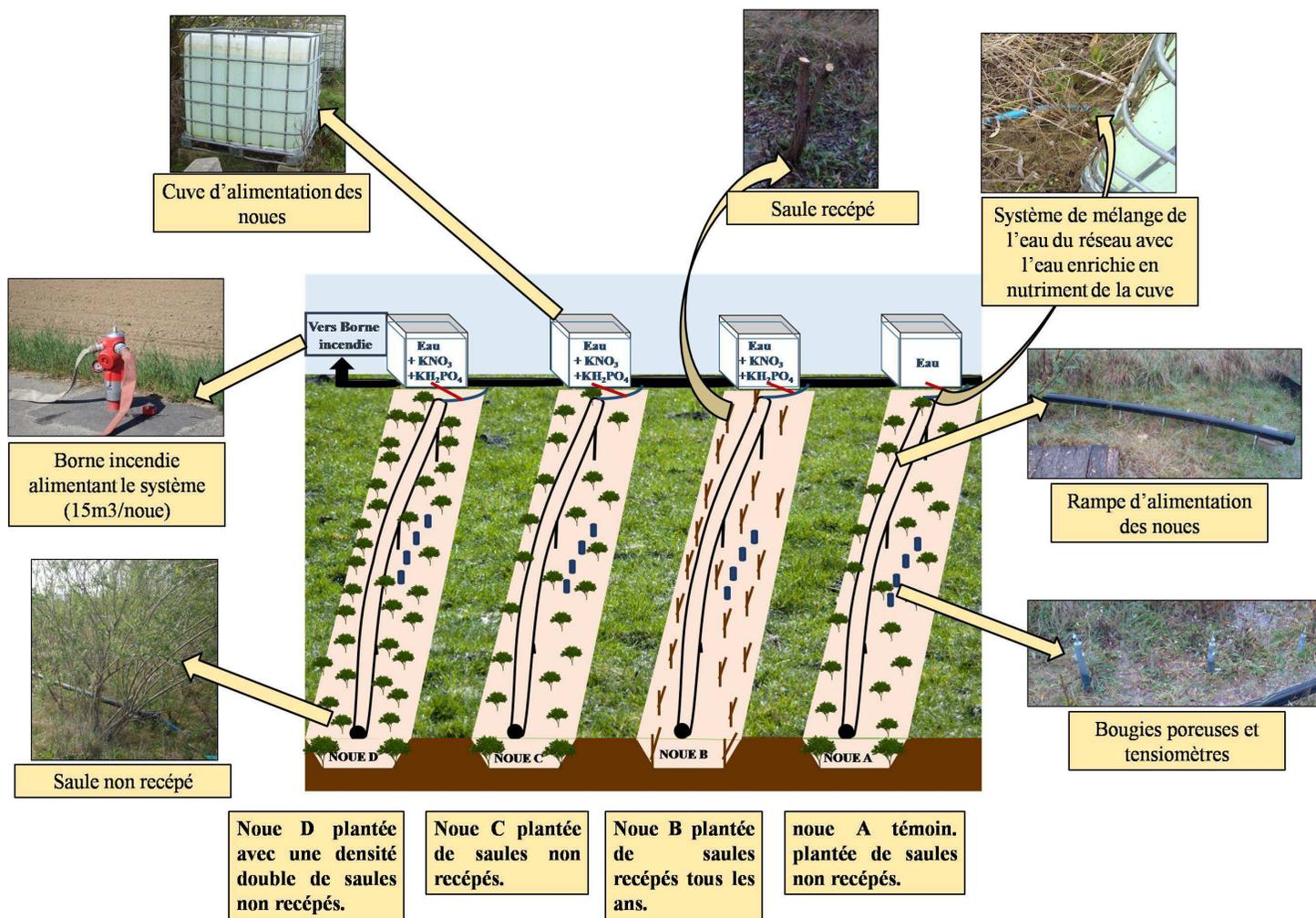


Figure 2-6: Schéma représentant les différents aménagements apportés à la Zone Tampon expérimentale de Colmar. Sur cette figure, sont représentées les 4 demi-noues utilisées pour l'étude

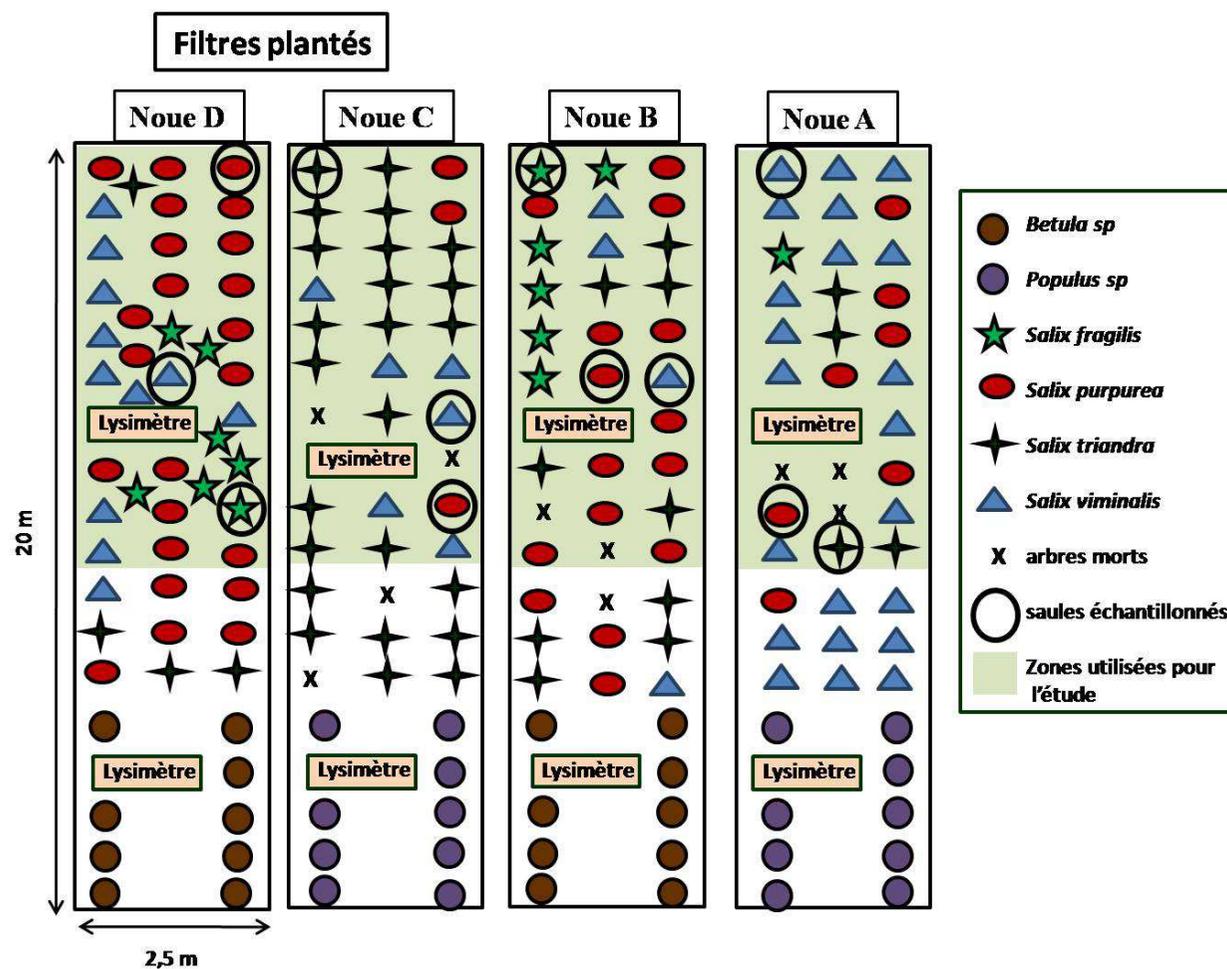


Figure 2-7 : Répartition des espèces ligneuses dans la ZTV de Colmar. Les parties en vert sont celles conservées pour l'étude. Les saules échantillonnés ont été choisis selon l'espèce et l'emplacement dans la noue.

Les cannes tensiométriques sont des tubes PVC traités contre les UV, creux, de 15,4 et 21,5mm de diamètre intérieur et extérieur respectivement, auxquels est fixée une céramique poreuse. Les tensiomètres sont fermés à l'aide de bouchons en silicone auto-cicatrisants Tecsil 2034.

Les céramiques poreuses et les cannes tensiométriques ont été récupérées d'une étude précédente. Il est admis que des céramiques poreuses déjà utilisées génèrent moins de problème d'adsorption de molécules sur la céramique, notamment des phosphates, lors de la mise en dépression (Domange, 2005). Toutefois avant l'installation sur le terrain, une étape de préparation et une étape de test des céramiques ont été nécessaires.

Les céramiques ont été lavées grossièrement à l'eau du robinet afin de retirer les traces de terre résiduelles. Les céramiques ont été trempées dans de l'acide chlorhydrique (HCl 1N) durant 48H puis une mise en dépression a été appliquée à chacune afin de faire passer l'HCl à travers la céramique. Puis les céramiques ont été lavées à l'eau milli-Q par mise en dépression. Cette dernière étape a été répétée 10 fois.

Après le premier traitement à l'acide et à l'eau, les céramiques ont été testées une première fois. Les céramiques ont été plongées dans une cuve d'eau milli-Q contenant du dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) de concentration 2mg P/L, et du chlorure d'ammonium (NH_4Cl) de concentration 5mg N /L, et ont été mises en dépression à l'aide d'une pompe à vide SDEC PAV2000. L'eau a été récupérée à l'aide de la même pompe et les ions ammonium et phosphate ont été analysés à l'aide d'un autoanalyseur à microflux (Alliance integral futura). A la suite de ce test, les céramiques ont été retraitées puis testées avec la même solution mais avec des concentrations de 1 et 2 mg/L de P et N respectivement. Après un test plutôt positif mais pas assez concluant le traitement à l'HCl et à l'eau milli-Q a été réitéré cinq fois et les bougies testées à nouveau. Les résultats de ces tests sont reportés dans le **tableau 2-4**. Le second test plus concluant a été suivi de l'installation des bougies sur site. Pour l'étude, 16 céramiques et 16 tensiomètres (4 par noue) ont été implantés à 4 profondeurs (25, 50, 75 et 100 cm).

2 Méthode d'échantillonnage

2.1 Campagnes de terrain

Des campagnes de terrain trimestrielles ont été réalisées à Raon et Liebsdorf depuis mars 2013, ainsi que des campagnes mensuelles de Mars à Septembre 2014. A Colmar, les campagnes sont mensuelles, et se déroulent sur trois jours. Le détail des dates de campagnes et des travaux effectués est précisé en annexe 1.

2.2 Protocole d'irrigation de la ZTV expérimentale de Colmar

Le protocole d'irrigation et de prélèvement de l'eau se fait en trois jours :

-Jour 1 : Remplissage des cuves, irrigation des noues, infiltration

-Jour 2 : Mise en dépression des céramiques poreuses, préparation des tensiomètres

-Jour 3 : Prélèvement de la solution du sol et lecture des tensiomètres

2.2.1 Remplissage des cuves

Lors de la fertirrigation, des cuves de 1m^3 sont remplies avec une solution de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) et de nitrate de potassium (KNO_3) (**Figure 2-8 A et B**) excepté dans la cuve correspondant à la Noue A témoin, remplie d'eau du réseau d'eau potable. La cuve est remplie à moitié d'eau du réseau. Le KH_2PO_4 et le KNO_3 sont mélangés à de l'eau dans un bidon de 10L. Une fois homogénéisée, la solution obtenue est versée dans la cuve qui est ensuite remplie complètement. La concentration moyenne en N- NO_3 et P- PO_4 à l'intérieur des noues lors de l'irrigation est respectivement de 19,7 et 13,7 mg/L.

2.2.2 Irrigation des noues et infiltration

Lors de l'irrigation, les noues reçoivent chacune 15 m^3 d'eau, soit 14 m^3 provenant de la borne incendie et 1 m^3 provenant de la cuve. L'irrigation dure 2H20. Au temps 0, la borne incendie est ouverte et les noues ne sont irriguées que par l'eau du réseau. Au temps 30 min, les cuves sont ouvertes et se vident en 80 min. Au temps 140 min la borne incendie est fermée ainsi que les cuves (**Figure 2-9**).

Tableau 2-4: Résultats des tests ammonium et phosphate des céramiques poreuses

Emplacement de la céramique poreuse	TEST 1 : concentrations attendues N-NH4 = 5mg/L ; P-PO4 = 2mg/L		TEST 2 : concentrations attendues N-NH4 = 2mg/L ; P-PO4 = 1mg/L	
	N-NH4 (mg/L)	P-PO4 (mg/L)	N-NH4 (mg/L)	P-PO4 (mg/L)
Noe A 25 cm	3,77	1,75	2,09	0,83
Noe A 50 cm	4,02	1,77	2,07	0,7
Noe A 75 cm	3,18	1,87	1,72	0,83
Noe A 100 cm	3,37	1,85	1,55	0,85
Noe B 25 cm	4,11	1,85	2,03	0,81
Noe B 50 cm	2,92	1,86	1,46	0,82
Noe B 75 cm	3,37	1,68	1,26	0,81
Noe A 100 cm	3,99	1,79	1,73	0,83
Noe C 25 cm	4,7	1,76	2,2	0,74
Noe C 50 cm	4,54	1,77	2,11	0,87
Noe C 75 cm	4,17	2,04	2,14	0,91
Noe C 100 cm	2,86	1,93	2,04	0,88
Noe D 25 cm	4,36	1,99	2,05	0,91
Noe D 50 cm	3,85	1,96	1,9	0,88
Noe D 75 cm	4,67	1,78	2	0,75
Noe D 100 cm	4,28	2,02	2,2	0,87
Solution de la cuve	4,98	2,02	2,17	0,89


LAVAGE HCl 1N
LAVAGE EAU milli-Q : x5

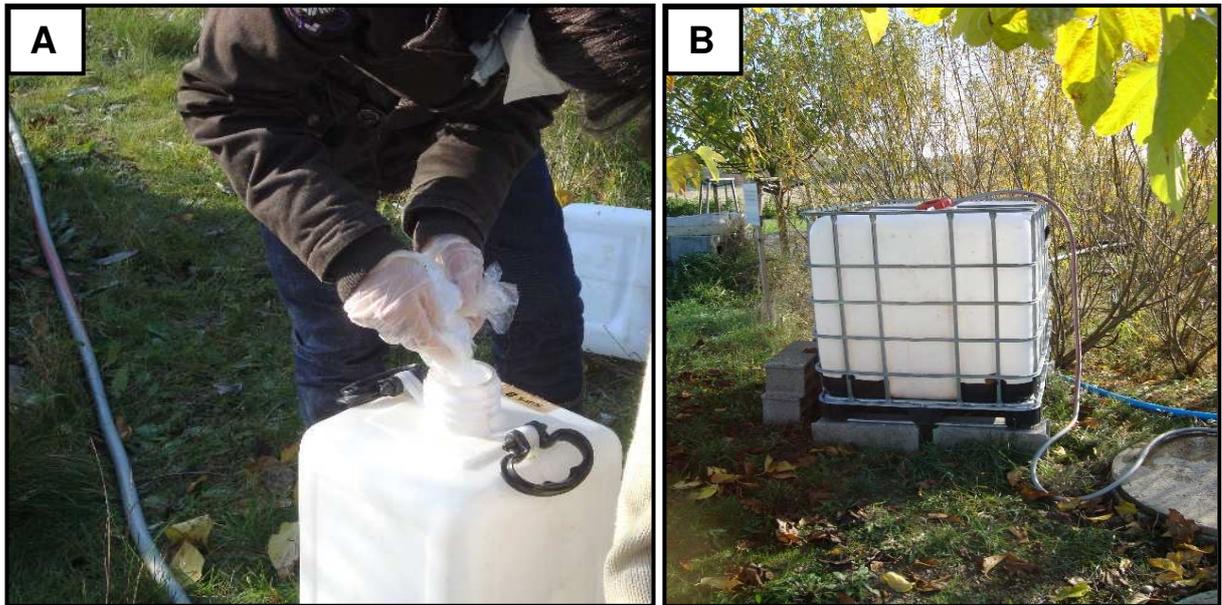


Figure 2-8: Remplissage des cuves. A : préparation de la solution de KH_2PO_4 et KNO_3 dans un bidon de 10L. (Source personnelle), B : cuve de 1m³ en cours de remplissage. (Source personnelle)

2.3 Prélèvement des échantillons

2.3.1 Eau

Les dates de prélèvements d'eau dans les différentes stations sont reportées dans les tableaux de l'**annexe 1**. L'eau a été prélevée dans l'ouvrage de sortie des filtres plantés (ouvrage d'entrée de la ZTV), en entrée, milieu et sortie de chacune des noues et dans le milieu récepteur, ainsi que dans l'ouvrage de sortie de ZTV à Liebsdorf (**Figure 2-10 et 2-11**).

A Raon, on notera que l'eau en sortie des noues correspond à l'eau en entrée de la noue terminale. Le débit d'entrée de la ZTV est donné au niveau du canal venturi muni d'une règle. Il n'y a pas eu de prélèvement en milieu de noue terminale excepté en Juillet 2014, car l'eau était infiltrée dans les premiers centimètres de la noue. La noue 1 s'est avérée être peu irriguée par rapport à la noue 2 c'est pourquoi les prélèvements en milieu et sortie de noue 1 n'ont pas pu être faits à toutes les campagnes. A Liebsdorf, le débit en entrée et sortie de ZTV a été déterminé comme suit : La hauteur d'eau dans le canal a été déterminée à l'aide d'un mètre. Pour connaître le débit nous avons appliqué la formule suivante :

$\text{Débit (m}^3\text{/h)} = 1434,42 \times (\text{hauteur d'eau en m})^{2,3}$
--

Dans le milieu récepteur l'eau a été prélevée en amont et aval du rejet.

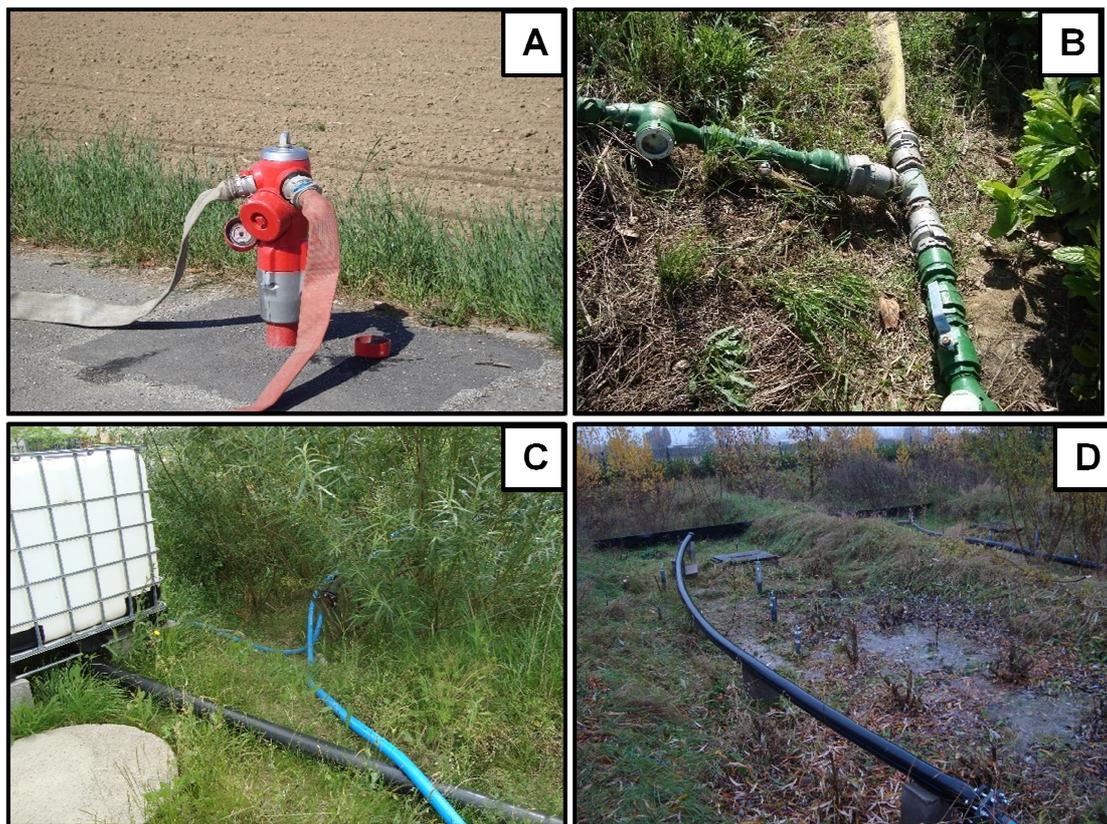


Figure 2-9: Fertirrigation. A : tuyaux incendie raccordés à la borne incendie. (Source personnelle). B : cols de cygne raccordés à une série de tuyaux incendie par un T. (Source personnelle). C : raccordement de l'arrivée d'eau principale (tuyau noir) et de la cuve (tuyau rose) à la noue (tuyau bleu). (Source personnelle). D : répartition de l'eau sur toute la longueur de la noue à l'aide d'un tube PVC raccordé au tuyau bleu. (Source personnelle)

A Colmar la solution du sol est prélevée dans les céramiques poreuses à 25, 50, 75 et 100 cm de profondeur dans chaque noue. Le prélèvement de l'eau dans les bougies se fait en deux étapes : 1) mise en dépression des céramiques poreuses, 2) prélèvement dans les céramiques. Un peu moins de 24H après l'irrigation des noues, (pression de 0,7bar) les céramiques poreuses sont mises en dépression. Les cannes tensiométriques sont remplies complètement avec de l'eau et rebouchées en sorte que le bouchon soit en contact avec l'eau. Après 48H de mise en dépression, on procède au prélèvement d'eau dans les céramiques à l'aide de la pompe PAV2000 (**Figure 2-12**) et à la mesure du potentiel hydrique au niveau des cannes tensiométriques à l'aide du tensiomètre SMS 2500S.

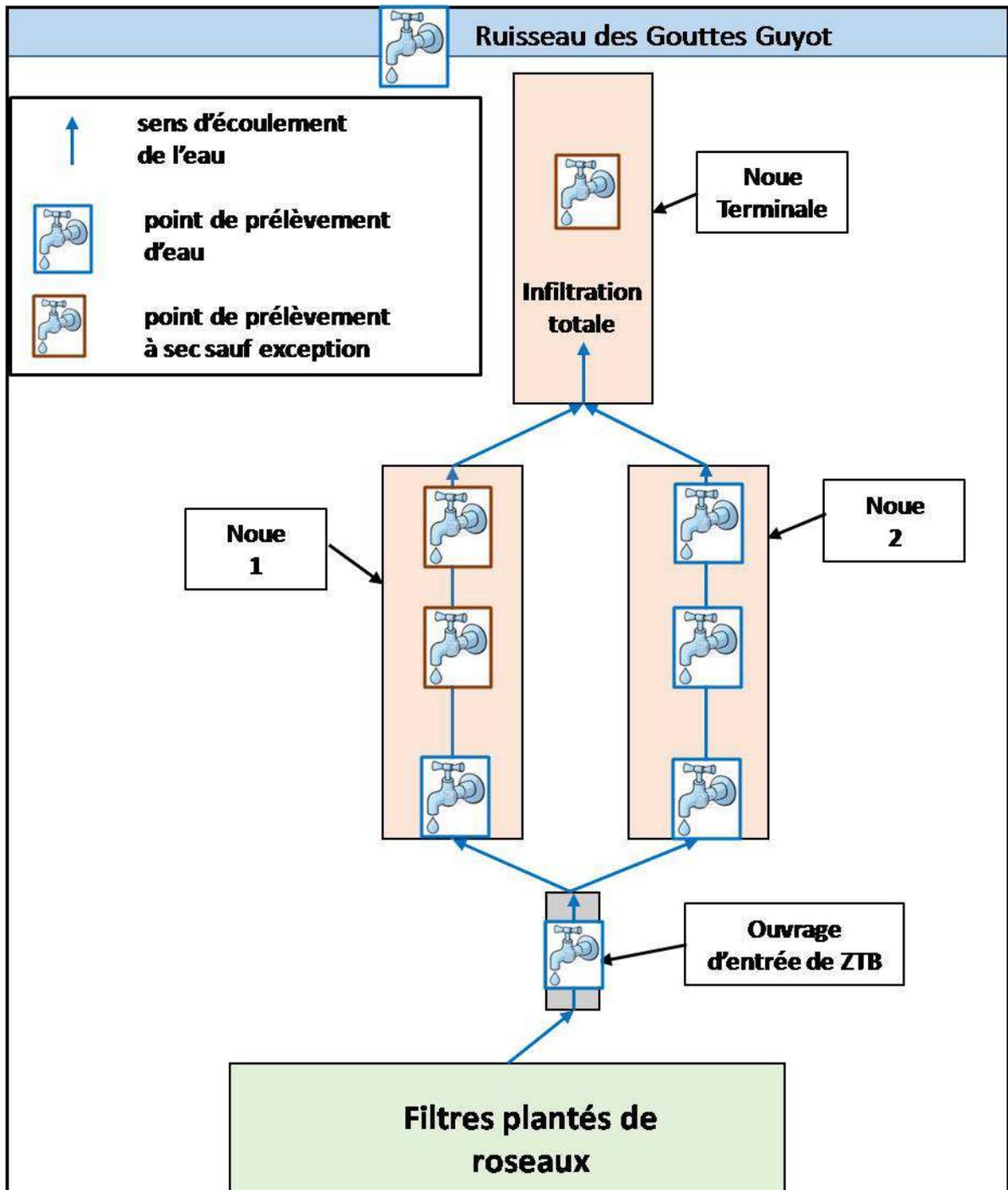


Figure 2-10: Points de prélèvement d'eau sur le site de Raon sur Plaine

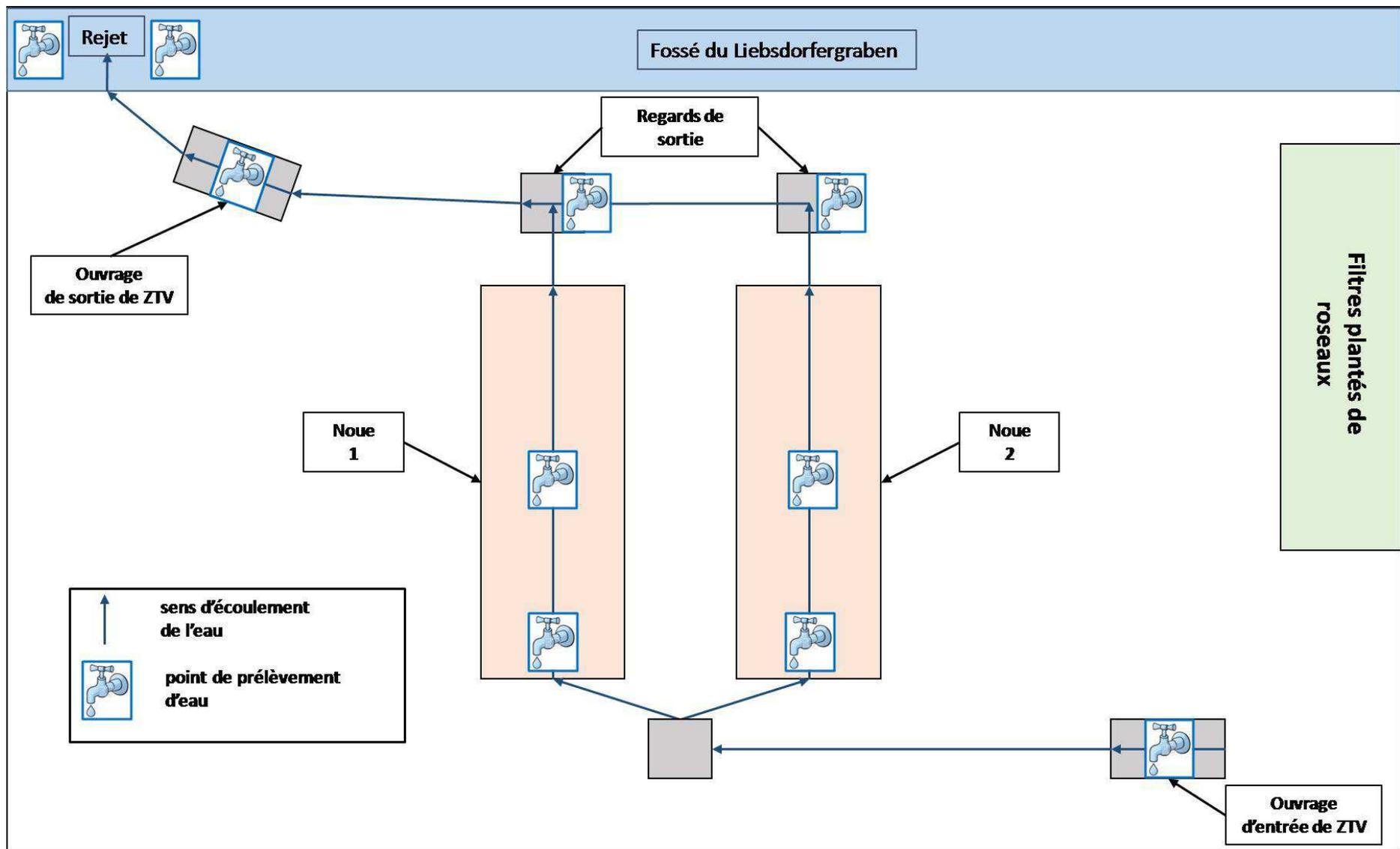


Figure 2-11: Points de prélèvement d'eau sur le site de Liebsdorf

2.3.2 Sol et Sédiment

Les dates de prélèvements de sédiment dans les différentes stations sont reportées dans les tableaux de l'**annexe 1**.

2.3.2.1 Prélèvement du sol pour analyses physiques

Afin de réaliser les analyses physiques du sol, une fosse a été creusée dans chacun des sites étudiés durant l'été 2013. La fosse a été réalisée à côté de la noue 1 à Liebsdorf, à l'intérieur de la noue terminale à Raon sur Plaine et à l'intérieur de la noue C à Colmar (**Figure 2-13**).

Un test HCl pour vérifier la présence de calcaire a été réalisé sur place, et des triplicats ont été prélevés dans des cylindres pour chaque strate d'intérêt : 3 à 8, 13 à 18 et 19 à 24 cm à Raon, 65 à 70, 75 à 80 et 65 à 90 cm à Liebsdorf et 10 à 15, 28 à 32, 60 à 65 et 90 à 95 cm à Colmar. Les échantillons ont ensuite été ramenés pour analyses au Laboratoire des Sols de l'EOST (Ecole et Observatoire des Sciences de la Terre, Université de Strasbourg).

2.3.2.2 Prélèvements du sédiment pour analyses chimiques

A Raon et Liebsdorf, les échantillons ont été prélevés dans les noues en surface (0-5 cm) à l'aide d'une louche, et en profondeur (20-30 cm) à l'aide d'une tarière en début et milieu des deux noues et de la noue terminale. Ces prélèvements ont été effectués tous les 6 mois.

A Colmar, le sol a été prélevé dans chacune des extrémités des noues, en surface et aux mêmes profondeurs que celles des céramiques poreuses, à savoir 0-5, 20-30, 45-55, 70-80 et 95-105 cm de profondeur. L'irrigation de la noue se faisant de manière homogène sur toute sa longueur, un seul point de prélèvement s'avère représentatif. L'extrémité de la noue a été choisie afin de ne pas perturber l'infiltration d'eau notamment au niveau des céramiques et tensiomètres. Chacun des échantillons était récolté dans un sachet et congelé avant envoi à la SADEF. Une aliquote était séparé dans un autre sachet et destiné au dosage du phosphore total.

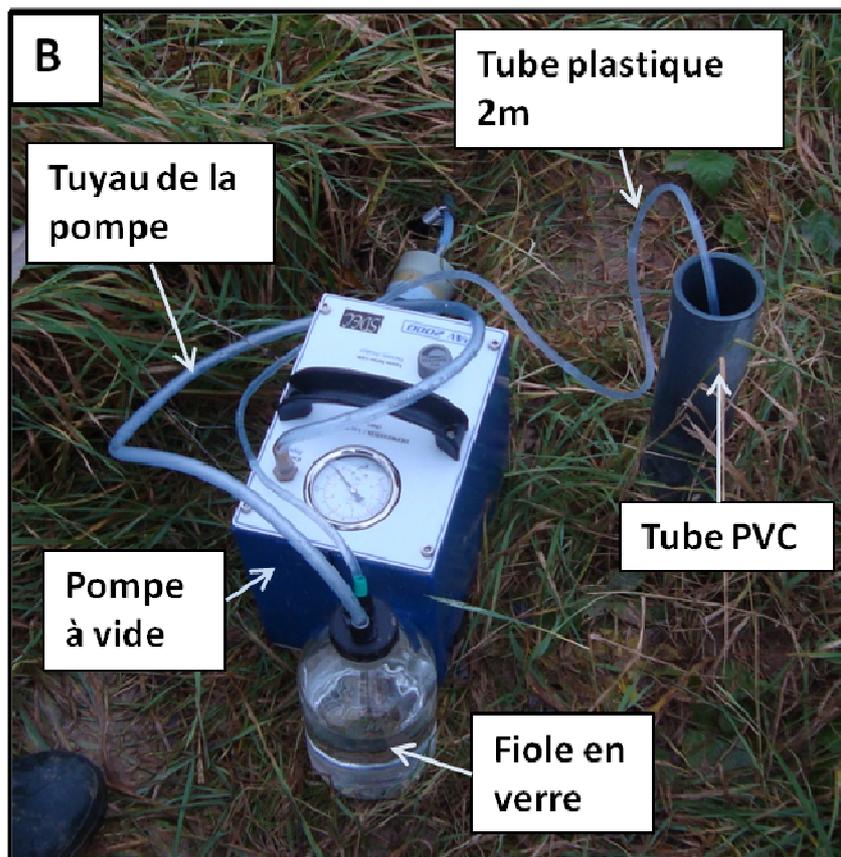
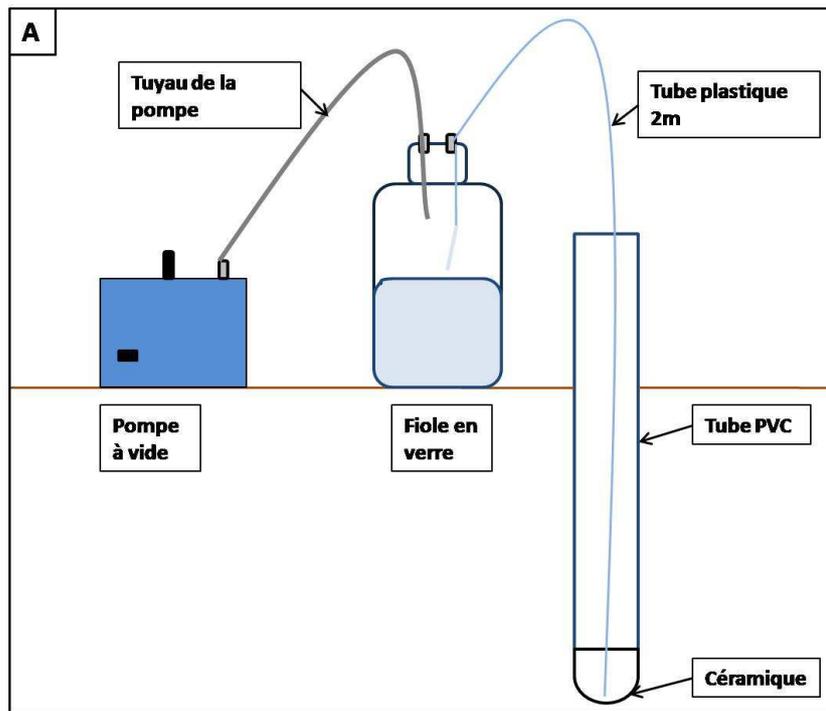


Figure 2-12: Prélèvement d'eau dans les céramiques poreuses. A : schéma du système de prélèvement d'eau dans des céramiques poreuses, B : photo du système (source personnelle)



Figure 2-13: Photo représentant la fosse creusée dans la noue C de Colmar. Les pics de couleurs montrent la limite entre les différents horizons. (Source personnelle)

2.3.2.3 Prélèvements du sol pour étude de la nitrification, dénitrification et biomasse bactérienne

Des prélèvements spécifiques ont été réalisés pour chaque type de mesure.

A Raon et à Liebsdorf, les échantillons ont été prélevés aux mêmes profondeurs que pour l'analyse chimique, en entrée et milieu de chacune des noues, excepté la noue terminale de Raon où aucun prélèvement n'a été effectué.

A Colmar un échantillon moyen (entrée, milieu et fin de noue) de sol en surface (0-5 cm) et profondeur (20-30 cm) a été prélevé dans chacune des noues, avant et après fertirrigation.

2.3.3 Végétaux

Les dates de prélèvements de végétaux dans les différentes stations sont reportées dans les tableaux dans l'**annexe 1**.

2.3.3.1 Prélèvements pour analyses chimiques

Nous avons prélevé à la fois des ligneux et des héliophytes. Leur localisation dans la ZTV est reportée dans les **Figure 2-2** et **2-4** pour Raon et Liebsdorf respectivement.

A Raon, trois saules ont été choisis pour l'ensemble des campagnes de terrain, nommés saule 1 (*Salix viminalis* L.), saule 2 et 3 (*Salix purpurea* L.). Trois échantillons de *Lemna minor* L. ont été prélevés dans le milieu de la noue 2. A Liebsdorf, trois saules ont été choisis pour l'ensemble des campagnes de terrain, nommés saule 1 (*Salix viminalis* L.), saule 2 (*Salix fragilis* L.) et saule 3 (*Salix viminalis* L.). L'échantillonnage des héliophytes et plantes aquatiques est reporté dans le **Tableau 2-5**.

Pour chaque saule, trois rameaux et les feuilles correspondantes ont été échantillonnés.

A Colmar, la localisation de tous les végétaux prélevés a été reportée dans la **Figure 2-7**. L'échantillonnage des saules est reporté dans le **Tableau 2-3**. Trois espèces de saules ont été échantillonnées par noue.

Tableau 2-5 : Echantillonnage des espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf et Raon. PA = Parties aériennes

Nom de l'espèce	Site	Localisation	Nombre d'échantillons	Organes prélevés
<i>Mentha aquatica</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA/Racines
<i>Veronica beccabunga</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA/Racines
<i>Poa palustris</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA
<i>Lemna minor</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA
<i>Typha latifolia</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Juncus conglomeratus</i>	Liebsdorf	Noue 1	3	PA
<i>Juncus effusus</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA
<i>Juncus conglomeratus</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA
<i>Iris pseudacorus</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Sparganium erectum</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Carex acutiformis</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Phragmites australis</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Typha latifolia</i>	Liebsdorf	Noue 2	3	PA/Racines/Rhizomes
<i>Lemna minor</i>	Raon	Noue 2	3	Plante entière

2.3.3.2 Détermination de la biomasse

Les saules

L'architecture d'un arbre dépend de son mode de croissance mais aussi des facteurs environnementaux et des actions de l'homme (élagage). Ainsi un saule recépé produit rapidement un grand nombre de rameaux de diamètre et longueur relativement homogène, un saule non recépé poursuit sa croissance selon un modèle « irrégulier » qui lui est propre. (**Figure 2-14**)

Tableau 2-6 : Echantillonnage des espèces de saules de la ZTV de Colmar.

Noue	Saule 1	Saule 2	Saule 3	Nombre échantillons	Organes
A	<i>viminalis</i>	<i>purpurea</i>	<i>fragilis</i>	3	Rameaux et feuilles correspondantes
B	<i>fragilis</i>	<i>purpurea</i>	<i>viminalis</i>	3	Rameaux et feuilles correspondantes
C	<i>triandra</i>	<i>viminalis</i>	<i>purpurea</i>	3	Rameaux et feuilles correspondantes
D	<i>purpurea</i>	<i>viminalis</i>	<i>fragilis</i>	3	Rameaux et feuilles correspondantes

A Raon, nous avons tenté d'estimer la biomasse de manière non destructive pour les saules recépés et de la comparer à la méthode destructive qui consiste à couper, en fin de saison, tous les individus échantillonnés pour la première méthode. Quatre individus de chacune des espèces *Salix viminalis*, *Salix purpurea*, *Salix fragilis* et *Salix caprea* ont été choisis de tailles différentes afin d'obtenir une moyenne représentative. Le nombre de rameaux principaux a été déterminé pour chaque individu. Au mois de septembre 2014, 10 branches de tailles différentes de chaque saule ont été ramenées au laboratoire avant le début de la chute des feuilles. La longueur de chaque rameau, le nombre de rameaux secondaires, le diamètre à la base et au milieu de la tige, le poids sec des feuilles et du rameau ont été déterminés. En décembre 2015, la totalité des saules a été coupée à une hauteur de 75 cm (hauteur décidée par la commune), et le poids total des branches de saules a été déterminé à l'aide d'un peson. (Figure 2-15).

A Liebsdorf, les saules n'ayant jamais été coupés, il était impossible de tenter une méthode non destructive de par l'architecture des saules. En Décembre 2014, la totalité des saules ont été coupés (après la perte des feuilles), broyés et pesés par une entreprise de la région. Quelques échantillons ont été ramenés en laboratoire afin de déterminer la teneur en eau et obtenir le poids sec.

A Colmar, la noue B a été recépée chaque année en automne au cours de l'étude. En Novembre 2014, la biomasse fraîche de chaque espèce de saules présente dans cette noue a été déterminée à l'aide d'un peson. Des échantillons pour chaque espèce ont été ramenés au laboratoire, séchés et pesés pour déterminer la teneur en eau et obtenir le poids sec.

En Octobre 2015, cette expérience a été réalisée pour les quatre noues de la Zone d'étude pour comparer la biomasse produite par chaque noue.

Les Hélophytes

A Liebsdorf, les hélophytes étant répartis sur des bandes assez bien délimitées, la surface occupée par chaque espèce a été estimée par observation directe. Les espèces *Mentha aquatica*, *Poa palustris* ont été prélevées dans deux quadrats de 44*44 cm, séchées au laboratoire et pesées. Pour *Iris pseudacorus*, *Typha latifolia*, *Phragmites australis* et *Sparganium erectum*, une méthode destructive aurait perturbé le fonctionnement de la ZTV, le nombre de pieds a donc été compté sur cinq quadrats de 1 m² et trois pieds de taille moyenne ont été ramenés au laboratoire, séchés et pesés.

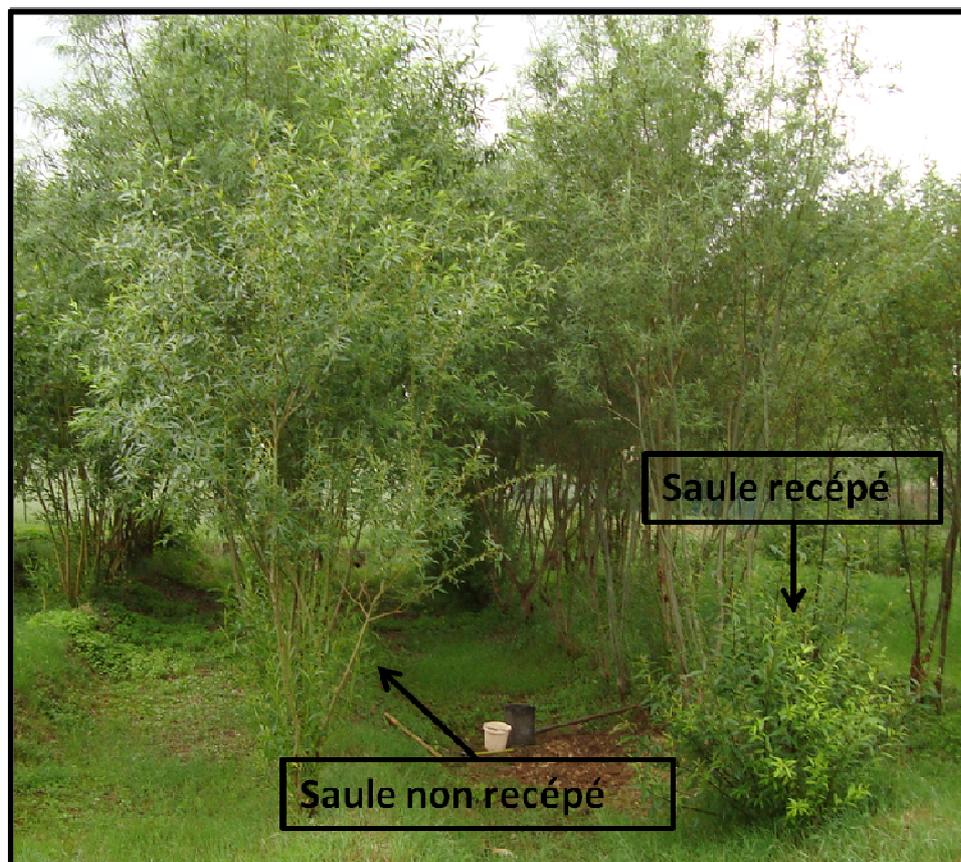


Figure 2-14: Photo représentant une ZTV avec des saules recépés et non-recépés. (Source personnelle)



Figure 2-15: Détermination de la biomasse fraîche à l'aide d'un peson (Source personnelle)

3 Analyses

3.1 Eau

3.1.1 Paramètres physicochimiques

Les paramètres physicochimiques de l'eau ont été déterminés in situ à chaque campagne de prélèvement d'eau à Raon et Liebsdorf.

Le pH est mesuré à l'aide d'une électrode pH/T°C gélifié WTW Sentix®, l'oxygène dissous avec une sonde O₂/T°C WTW Cellox 325 et la conductivité électrique avec une cellule 4 pôles/T°C Tetracon 325 WTW. Les sondes sont reliées à un appareil multiparamétrique Multiline P4 WTW.

3.1.2 Dosage de l'azote ammoniacal (N-NH₄)

Pour doser le N-NH₄, les échantillons sont préalablement filtrés à l'aide de filtres seringues de porosité 0,45µm.

Le dosage est réalisé à l'aide d'un auto-analyseur à microflux *Alliance Integral Futura* mettant l'échantillon en contact avec une solution tampon contenant du tartrate double de sodium et potassium empêchant la formation de précipités d'hydroxydes de calcium et de potassium, puis avec deux réactifs, le dichloroisocyanurate de sodium donneur d'ions Cl⁻ et une solution mixte de salicylate et nitroprussiate de sodium. Ces deux réactifs permettent une réaction comparable à celle de Bertelot. Le mélange de l'échantillon et des réactifs donne une coloration verte permettant le dosage par spectrophotométrie à 660nm.

3.1.3 Dosage de l'azote Kjeldahl (NTK)

Le dosage de NTK (azote organique + azote ammoniacal) se fait sur des échantillons bruts sans filtration préalable. Il consiste en une étape de minéralisation en présence d'acide sulfurique concentré et d'un catalyseur, le sélénium. Puis, après ajout d'eau et de soude dans le minéralisat, ce dernier subit une étape de distillation durant laquelle les vapeurs d'ammoniacale sont récupérées (distillat). L'azote ammoniacal contenu dans le distillat a ensuite été dosé à l'aide de l'auto-analyseur à microflux *Alliance Integral Futura*.

NB : Dans le cas du NTK, le tampon utilisé pour le dosage est différent de celui pour l'ammonium de l'eau. La solution tampon préparée est plus basique pour équilibrer le pH acide du distillat. Sans ce changement de tampon, l'échantillon en contact avec les réactifs peut former un précipité blanc.

3.1.4 Dosage de l'azote nitrique (N-NO₃), des sulfates (SO₄²⁻) et chlorures (Cl⁻)

Pour le dosage, les échantillons sont préalablement filtrés à l'aide de filtres seringues de porosité 0,20µm.

La mesure des concentrations est effectuée par chromatographie ionique en phase liquide sur un Dionex ICS3000 avec passeur automatisé et enceintes thermostatées. La colonne utilisée est garnie de billes de Latex sur lesquelles est greffé le groupe fonctionnel (ammonium

quaternaire d'alcanol), un cation qui va retenir avec plus ou moins d'affinité et de force les anions contenus dans l'échantillon. L'éluant utilisé est l'Hydroxyde de Sodium (NaOH). Il va permettre le détachement des anions selon leur affinité avec le groupe fonctionnel et à des temps différents. (4,5 minutes pour les chlorures, 6,5 minutes pour les sulfates et 8 minutes pour les nitrates). Les anions élués passent dans une cellule conductimétrique qui va générer un pic proportionnel à la concentration en anion.

3.1.5 Dosage de l'azote nitreux (N-NO₂)

Le dosage du N-NO₂ se fait sur des échantillons bruts sans filtration préalable.

Le dosage est réalisé par la micro-méthode Nanocolor®. Il permet un dosage rapide en utilisant un très faible volume d'échantillon, sans préparation de réactifs déjà fournis par le fabricant. Un faible volume d'échantillon, variable selon la gamme choisi, est placé dans un tube contenant de la sulfanilamide et la N-naphtylethylenediamine sous forme lyophilisés, puis on ajoute un réactif R2 (acide citrique). En présence de N-NO₂, un complexe rose se forme. Après 10 minutes, le mélange est dosé par spectrophotométrie à 530nm.

3.1.6 Dosage du phosphore des ortho-phosphates (P-PO₄)

Pour doser le P-PO₄, les échantillons sont préalablement filtrés à l'aide de filtres seringues de porosité 0,45µm.

Le phosphore des orthophosphates solubles a été dosé dans tous les échantillons à l'aide de l'auto-analyseur à microflux *Alliance Integral Futura*. L'échantillon est mis en présence d'une solution tampon pour stabiliser le pH et de deux réactifs contenant pour le premier du molybdate d'ammonium et de l'acide sulfurique et du tartrate double d'antimoine et potassium (catalyseur) et d'un second réactif contenant de l'acide ascorbique. Les orthophosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe phosphomolybdique qui est ensuite réduit par l'acide ascorbique en bleu de molybdène de coloration bleue. La mesure se fait par spectrophotométrie à 880 nm.

NB : L'acide ascorbique doit être préparé avant chaque analyse et si possible être protégé de la lumière.

3.1.7 Dosage du phosphore total (P(t))

Le dosage du P(t) se fait sur des échantillons bruts sans filtration préalable.

Le dosage est réalisé par la micro-méthode Nanocolor®. Un faible volume d'échantillon, variable selon la gamme choisi, est placé dans un tube contenant de l'acide sulfurique auquel on rajoute un réactif R2 (peroxodisulfate de sodium). Après mélange, les tubes sont mis à chauffer 30 minutes à 120°C pour l'étape de minéralisation qui consiste en une transformation de tous les composés phosphorés en forme minérale (P-PO₄). Après minéralisation, on ajoute dans les tubes les réactifs R3 (acide ascorbique) et R4 (heptamolybdate d'ammonium et acide sulfurique). En présence de P-PO₄, un complexe bleu se forme qui après 10 minutes est dosé par spectrophotométrie à 690nm.

3.2 Sol

3.2.1 Paramètres physico-chimiques

3.2.1.1 Dosage du pH

Le sol est préalablement séché, broyé et tamisé à 2mm. 20g de ce sol sont incorporés dans un bécher contenant 50 cm³ d'eau distillée et mis sous agitation. On procède ensuite à la mesure à l'aide d'une électrode spécifique.

3.2.1.2 Détermination des courbes de rétention hydrique

On a utilisé la méthode du bac à sable et à kaolin (Stakman et al., 1969) (**Figure 2-16**). Les échantillons sont placés dans un bac rempli d'un milieu poreux spécialement calibré. Une tension hydrique est imposée par l'intermédiaire de ce milieu et du niveau d'eau dans une ampoule relié au système de drainage du bac. Une fois l'équilibre atteint, les échantillons sont pesés pour déduire la teneur en eau à chaque tension.

Mode opératoire :

Les échantillons sont prélevés dans des cylindres. Pour chaque tension de mesure on change les cylindres de bac comme le propose Várallyay, (1973) afin d'affiner la granulométrie du milieu poreux et de ne pas changer l'état de saturation des bacs à chaque mesure. 8 tensions différentes sont appliquées aux échantillons (**Tableau 2-4**) ce qui nécessite l'utilisation de 8 bacs différents. Pour les trois premières mesures les bacs ne contiennent pas de milieu poreux. Pour les autres bacs, un sable du même polder que le « blokzijl sand » utili-

sé par Stackman est choisi mais avec une granulométrie moins fine. Dans tous les cas le milieu poreux ne doit pas contenir de calcaire ni d'argiles gonflantes.



Figure 2-16: Technique 5 du bac à sable et à Kaolin (Source : site du laboratoire des sols de l'UNISTRA)

Tableau 2-7 : Récapitulatif des différentes tensions hydriques appliquées aux échantillons

h (cm)	0	1	2,5	10	31.6	100	200	500
pF=log₁₀h	saturation	0	0,4	1	1,5	2	2,3	2,7

Les échantillons passent dans chaque bac dans l'ordre croissant de pression. Une fois passés dans tous les bacs, les échantillons sont séchés à l'étuve à 105°C pour déterminer le poids sec. A partir de ce poids sec peut être calculé la teneur en eau volumique et la densité apparente qui permettront de construire les courbes de rétention hydrique.

La teneur en eau volumique

$$T(h) = [(m(\text{éch. Humide}) - m(\text{éch. Sec})) / \text{Volume du cylindre}] \times (1/da)$$

La densité apparente sèche

$$da = m(\text{éch. Sec}) / \text{Volume du cylindre}$$

3.2.1.3 Mesure de la conductivité hydraulique à saturation

La méthode repose sur la loi de Darcy qui exprime une proportionnalité entre le flux hydrique (Q) et le gradient de charge qui le provoque :

$$Q = -K(h) \times dH/dz$$

La conductivité hydraulique à saturation K_s mesure l'aptitude du milieu poreux à transmettre l'eau qu'il contient pour un état de saturation donné. Elle est la moyenne de trois mesures successives. C'est la mesure de volume d'eau percolée à travers un échantillon saturé ($V(t)$ en cm^3) pendant un intervalle de temps (dt en heures) sous une charge constante (dH cm)

$$K_s \text{ (cm/h)} = [V(t) / (S \times dt)] \times [L/dH]$$

S = surface de la section du cylindre (cm^2) L = Hauteur de la terre (cm)

Mode opératoire :

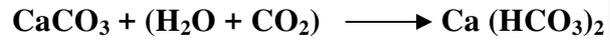
Les échantillons sont prélevés dans des cylindres sur le terrain (sol non remanié). Au laboratoire le cylindre est placé face biseautée vers le haut et est ajusté sur le cylindre de percolation, puis on rabat une jupe en caoutchouc. Le cylindre est ensuite placé dans un perméamètre sur une grille puis on fait couler l'eau doucement et on laisse percoler durant 3 à 4 jours afin d'atteindre un régime de transfert permanent. (Figure 2-17)



Figure 2-17: Mesure du K_s par la méthode du perméamètre à charge constante. (Source : Laboratoire des sols UNISTRA)

3.2.1.4 Mesure de la calcimétrie

Le dosage des carbonates par destruction des carbonates de calcium (CaCO_3) selon la réaction suivante :



Comparaison des volumes V_1 (échantillon) et V_2 (témoin) d'eau déplacé par dégagement de CO_2 sous l'action d'un acide.

Mode opératoire :

Après broyage et tamisage du sol à 2 mm, on pèse 4g d'échantillon (P_1) et 2g de témoin CaCO_3 (P_2). On met ce sol dans un sachet en papier verre puis on le dépose dans un erlen à col rodé sur les parois duquel on ajoute de l'eau distillée. On ajoute du HCl concentré via un cylindre raccordé à l'erlen et on ouvre le robinet au-dessus du réservoir d'eau. On ferme l'erlen et le robinet 3 voies et on agite vigoureusement. A la fin de la réaction on mesure le volume d'eau écoulé à partir duquel on calcule le poids de CaCO_3 (X_1) dans l'échantillon et son pourcentage.

$$X_1 = (V_1 * P_2) / V_2$$

$$X (\% \text{CaCO}_3) = (X_1 * 100) / P_1 \quad P \text{ en g, } V \text{ en cm}^3$$

3.2.1.5 Détermination du pourcentage de matière organique

La méthode se fait par perte au feu à une température comprise entre 375 et 450°C comme le préconise Ball (1964), sans affectation par la présence de carbonates de calcium et avec élimination des erreurs dues à la perte en eau. Il faut cependant éviter cette méthode pour les sols contenant de la gibbsite dans la fraction argileuse.

Mode opératoire :

10 g d'échantillons sont pesés, mis dans des coupelles dans un four à moufle à 375°C pendant 16h. Les coupelles sont ensuite mises à refroidir dans un dessiccateur à l'abri de l'humidité. A la sortie du dessiccateur les coupelles sont pesées et le pourcentage de matière organique obtenu grâce à la formule suivante :

$$\%MO = \frac{[(\text{masse coupelle} + \text{terre} - \text{masse coupelle} + \text{terre calcinée}) \text{ en g} * 100]}{\text{masse terre utilisée (g)}}$$

3.2.1.6 Granulométrie

La détermination de la granulométrie des échantillons a été faite par granulométrie laser par diffraction et diffusion sur le granulomètre laser LS230 module fluide de BECKMAN COULTER. Avant de passer dans le granulomètre laser, l'échantillon brut subit une série de tests et transformations (séchage, tamisage, destruction MO, élimination des ions flocculants).

La totalité de la méthode et de la préparation des échantillons est reportée en **annexe 2**.

3.2.2 Paramètres chimiques

3.2.2.1 Dosage de l'azote ammoniacal

Une étape d'extraction au KCl molaire sur l'échantillon frais est nécessaire avant dosage (ISO/TS 14256-2). Le dosage se fait par colorimétrie, méthode dite BERTELOT comparable à celle utilisée pour le dosage des ions N-NH₄ dans l'eau. (Cf. § 3.1.2 Dosage de l'azote ammoniacal).

3.2.2.2 Dosage de l'azote nitrique

Une étape d'extraction au KCl molaire sur l'échantillon frais est nécessaire avant dosage (ISO/TS 14256-2). Le dosage se fait par colorimétrie, méthode dite GRIESS. Elle consiste en une réduction du nitrate en nitrite. Les nitrites formés réagissent ensuite par diazotation avec le sulfanilamide et par couplage avec le N-1-naphtyléthylène diamine dihydrochlorure suivant la technique de Bendschneider and Robinson, (1952), plus communément appelée méthode de Griess, afin d'obtenir un complexe diazoïque rouge pourpre dosé à 550 nm.

3.2.2.3 Dosage de l'azote total organique

Le dosage se fait sur la matière sèche tamisée à 2mm par la méthode DUMAS NF ISO 13 878. Cette méthode consiste en une combustion totale de la matrice organique sous oxygène. Les gaz produits lors de la combustion sont réduits par du cuivre. L'azote est ensuite séparé des autres composants par chromatographie puis dosés par catharométrie. La catharo-

mètrie est une technique universelle mais peu sensible basée sur la conductibilité thermique des gaz.

3.2.2.4 Dosage du phosphore assimilable

Le dosage se fait sur la matière sèche tamisée à 2mm par la méthode de Joret and Hébert, (1955) NFX 31-161. La méthode consiste en une agitation de 2H d'un mélange de terre et d'oxalate d'ammonium suivie d'une centrifugation puis d'un dosage par spectrométrie ou colorimétrie.

3.2.2.5 Dosage du phosphore total

La méthode est réalisée sur de la matière sèche tamisée à 2mm. Elle consiste en une transformation de toutes les formes de phosphore en ortho-phosphates (minéralisation). On procède à une minéralisation acide en mélangeant 1g de terre à 10 ml d'acide nitrique et 10 ml d'acide perchlorique. Le minéralisât obtenu est ensuite filtré à l'aide de coton de verre puis d'un filtre seringue 0,45µm. Le dosage des orthophosphates se fait à l'alliance Futura Integral dont le principe est décrit au § 3.1. 6 Dosage du phosphore des ortho-phosphates (P-PO₄).

3.2.3 Paramètres microbiologiques

3.2.3.1 Nitrification potentielle

La méthode développée au Laboratoire Rittmo se déroule en trois étapes : incubation du sol, extraction des éléments azotés et dosage de l'azote ammoniacal et nitrique. 15g de sol sec ont été mis en incubation dans des coupelles avec une solution de sulfate d'ammonium à 12mg/ml et de l'eau distillée dont les proportions ont été calculées pour chaque échantillon à partir de la courbe de rétention hydrique et du taux de matière sèche de l'échantillon. Les microcosmes obtenus ont été homogénéisés et ne devaient pas dépasser 3 cm de hauteur pour une meilleure oxygénation. Ils ont ensuite été placés dans une salle thermostatée à 20°C dans des bacs contenant de l'eau pour garder une humidité constante.

Aux temps J0 et J+21, les échantillons ont subi une extraction au KCl molaire à l'aide d'un agitateur à retournement pendant une heure puis une filtration sur filtre sans azote.

L'azote ammoniacal a été dosé par spectrophotométrie à l'alliance futura integral selon le protocole décrit au § 3.1.2 Dosage de l'azote ammoniacal (N-NH₄). L'azote nitrique a été dosé par chromatographie ionique selon le principe décrit au § 3.1.4 Dosage de l'azote nitreux (N-NO₃), des sulfates (SO₄²⁻) et chlorures (Cl⁻).

3.2.3.2 Dénitrification potentielle

Le protocole DEA (Denitrification enzyme activity) développé au Laboratoire Ecolab à Toulouse, et inspiré de la méthode de Weiss and Price (1980), consiste en un dosage de l'oxyde nitreux dégagé par un sol sous incubation. Le protocole est réalisé en trois étapes : incubation du sol frais, extraction de l'oxyde nitreux (N₂O) et dosage.

Du sol frais est mis en incubation dans un flacon dans de l'eau distillée, avec ajout de nitrate de potassium (KNO₃ source d'azote) et d'acétate de sodium (source de carbone). L'incubation se fait en absence d'oxygène (la dénitrification est un processus anaérobie). Cette étape de désoxygénation consiste en l'injection de diazote dans le flacon et son contenu chassant ainsi l'oxygène mais aussi les oxydes nitreux pouvant être présents. Les flacons sont ensuite placés sous agitation à 20°C.

Au temps t=3h on effectue une première extraction sans qu'il y ait eu présence d'acétylène (C₂H₂) dans le milieu d'incubation. L'acétylène bloque la réaction de transformation de l'oxyde nitreux (N₂O) en diazote (N₂). Cette extraction permet donc le dosage de l'oxyde nitreux résiduel. Après cette étape d'extraction, on injecte l'acétylène au milieu d'incubation. Au temps t=6h on effectue un second prélèvement qui permettra par soustraction du premier de déterminer la vitesse de dénitrification potentielle de l'échantillon. L'extraction d'oxyde nitreux se fait par prélèvement à l'aide d'une seringue de 5cm³ de la phase gazeuse du flacon en incubation fermé par un bouchon auto-cicatrisant permettant plusieurs prises de gaz sans perte. Le gaz prélevé est ensuite injecté dans un tube à vide équipé du même type de bouchon. L'oxyde nitreux est dosé par chromatographie en phase gazeuse.

3.2.3.3 Détermination de la biomasse bactérienne totale et celle contenant le gène AmoA et NirK

L'ADN microbien a été extrait à l'aide du kit d'extraction PowerSoil de Mobio. Puis un dénombrement total de la biomasse a été réalisé avant la qPCR à l'aide du kit PicoGreen.

Afin de déterminer la biomasse bactérienne et la biomasse bactérienne contenant le gène AmoA, une qPCR a été réalisée. Le but est la quantification de l'ARN de l'échantillon par amplification de gènes généraux ou spécifiques par une réaction en chaîne faisant intervenir une polymérase. La détection se fait par fluorescence à chaque cycle. Pour cette qPCR (réaction en chaîne par polymérase quantitative) un mix SYBR GREEN est utilisé. L'échantillon dont la concentration a été évaluée à 1ng/μl a été dilué 10 fois. Les gammes étalons choisies sont celles du gène de l'ARN16S (Biomasse bactérienne totale) et du gène AmoA (Biomasse bactérienne contenant le gène AmoA) et permettent d'obtenir des courbes d'étalonnage. Les amorces utilisées sont : Bact1369f et Prok 1492R pour le gène *ARNr16S*, et 359rc et 154F pour le gène *amoA* et NirK876 et NirK1040 pour le gène *nirK*. La lecture est faite par fluorescence. La quantité (exprimée en nombre de copies de gènes) d'ADN de l'échantillon a été obtenue grâce à l'équation de la courbe de régression linéaire construite à partir des courbes d'étalonnage et de fluorescence.

3.3 Dosage de l'Azote et du phosphore total dans les végétaux

Les échantillons végétaux séchés sont broyés et tamisés à 2mm. La poudre obtenue est ensuite minéralisée en ajoutant de l'acide sulfurique. Le minéralisat obtenu est ensuite filtré une première fois à l'aide de laine de verre, puis filtré une seconde fois à l'aide de filtres seringues de porosité 0,45μm. L'azote total (N(t)) et le phosphore total (P(t)) sont dosés à l'auto-analyseur à microflux *Alliance Integral Futura* utilisant les méthodes colorimétrique détaillées aux § 3.1.2 et 3.1.6.

4 Tests statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sous le logiciel R 3.0.0 (2013). Les tests de normalité et d'homoscédasticité ont été réalisés afin de comparer les moyennes par le test de student. Les conditions n'étant pas réunies le test non paramétrique wilcoxon a été utilisé afin de déterminer la présence ou non de différences significatives.

Chapitre 3

Impact de zones tampon végétalisées, recevant les effluents de station d'épuration, sur les transferts d'azote et phosphore

L'objectif principal de ce chapitre est l'étude des transferts de nutriments –azote, phosphore- dans deux zones tampon végétalisées aux caractéristiques différentes et recevant les effluents de station d'épuration végétalisées. Plusieurs questions ont marqué le début de cette étude :

- Le ratio charge hydraulique/surface est-t-il un paramètre déterminant dans la rétention des nutriments ?
- Les caractéristiques du sol en place ont-t-elles un impact important sur les processus de transfert et rétention des nutriments?
- Quelles sont les capacités de rétention des nutriments par les végétaux (hélrophytes et/ou ligneux) en place ?
- Existe t-il une différence dans l'impact des végétaux entre une ZTV plantée de ligneux et hélrophytes et une ZTV plantée seulement d'espèces ligneuses ?
- Quel est le compartiment –sol ou végétal- le plus efficace dans la rétention des nutriments ?

Plusieurs hypothèses peuvent être apportées en réponse à ces questions :

- La texture du sol impacte la capacité d'infiltration et les processus microbiologiques
- Prévalence de la dénitrification dans un sol argileux de par sa capacité à retenir l'eau et donc ses propriétés réductrices en cas de saturation en eau alors que dans un sol sableux, les conditions sont plus favorables à la nitrification du fait d'une meilleure oxygénation du sol.
- Le temps de rétention hydraulique dépend du ratio charge hydraulique/surface : un ratio faible assurera un temps de rétention plus élevé et augmentera les capacités d'échange et de rétention.

- La rétention des nutriments par les végétaux serait mineure dans ce type de système par rapport aux capacités du sol comme l'ont montré plusieurs études (Groupe EPNAC, 2014 ; Tanner et al., 1995)
- La présence d'espèces héliophytes améliorerait le taux de nitrification en favorisant des zones aérobies au niveau de la rhizosphère.

Afin de vérifier ces hypothèses, nous avons quantifié la concentration en nutriments dans l'eau et leur quantité dans le sol et les plantes. Les paramètres physicochimiques de l'effluent ont été aussi déterminés. Une étude de la biomasse a également été réalisée afin de déterminer la capacité de rétention et d'élimination des nutriments par les végétaux.

1 Article: Impact of vegetated buffer zones (VBZs), receiving treatment plant effluent in transfer of nitrogen and phosphorus

1.1 Abstract

The protection of aquatic environments, especially against pollution from anthropogenic sources, is a major issue. Natural wetlands showed a high nutrient purifying ability, as a model constructed wetlands such as vegetated buffer zones (VBZs) were used for the treatment of eutrophicants (nitrogen and phosphorus) and other pollutants. This study aimed to analyze nitrogen and phosphorus transfers in two VBZs and to specify the control factors. We retained Liebsdorf and Raon (East of France), with contrasting characteristics (surface area, hydraulic load, soil texture and plant species). At Liebsdorf, the soil texture is clayey and the ditches are planted with helophytes and lined with willows. At Raon, the soil is sandy and the ditches are only lined with willows but lemnids developed. The ratio hydraulic load / area is much higher at Liebsdorf. The content of different forms of nitrogen and phosphorus in the water, sediment and plant was investigated in both VBZs. At Raon the decrease in nitrate nitrogen linked to low DO in effluent and the presence of Lemnids carpet (≥ 2 cm thickness), which favour a DO decrease in ditch water, probably triggered a denitrification process. Ammonium content remains high, which indicates that no anammox process occurs. At Liebsdorf a high nitrate concentration in water (18 to 24 mg/L N-NO₃) and low soil content in ammonium show that nitrification could be the main process involved, favoured by a high amount of dissolved oxygen (DO) in effluent and the presence of helophytes in the ditches. However, the low hydraulic retention time and large hydraulic load do not allow a significant effect of microbiological processes on the improvement of water quality, leading to a degradation of the receiving environment. Both zones show few change in phosphorus concentration (0 to 26%). The content of nutrients in plants at Liebsdorf is high and comparable to those given by other

studies under fertirrigation. However, despite the high retention capacity of plants, the estimation of biomass showed a minor role of vegetation (<1%) in nutrient removal, soil being the major storage compartment, particularly for phosphorus. This study underlined the main factors (soil texture, ratio hydraulic load/surface which managers can control in order to improve efficiency of ZTVs in nutrient removal).

1.2 Introduction

Drinking water is drawn both from groundwater, as for example in the Alsace floodplain, and from surface waters such as the Seine in Paris. So the preservation and improvement of water quality are a major issue. Anthropogenic sources of water pollution are numerous, such as industrial activity (Guittonny-Philippe et al., 2015), agriculture which is often considered as the major source of eutrophicants (diffuse source) (Carpenter et al., 1998, Dupas et al., 2015) but also sewage treatment plant effluent (point source) (Jarvie et al., 2006, Lapointe et al., 2015). These sources of pollution have contributed to the high decline in water quality in Europe although recent European directives have raised awareness especially with the Water Framework Directive (Bouraoui and Grizzetti, 2011). More particularly, the pollution of freshwater by nutrients -nitrogen and phosphorus- leads to both environmental and health concerns. Indeed, both phosphorus and nitrogen are known to be compounds favouring the water eutrophication, depending on inputs or environmental conditions (Schindler, 2012, Hecky and Kilham, 1988). The eutrophication can lead to harmful algal blooms and hypoxia of stagnant waters, resulting in the loss of animal and plant biodiversity (Lapointe et al., 2015). However, Schindler et al (2008) showed that lower nitrogen inputs did not allow a reduction in eutrophication phenomena. Vitousek et al (1997) observed a deleterious acidification of freshwater due to an excessive concentration of nitrogen. Furthermore, nitrate is known to be hazardous to human health when consumed in large quantity, especially for pregnant women and babies. The study of biogeochemical processes in natural wetlands has shown their ability to remove nutrients (Fisher and Acreman, 2004). However, nitrogen and phosphorus removal depend on ecological conditions. Nitrogen is better eliminated in riparian wetlands under waterlogging conditions in a reducing medium (Sanchez-Pérez et al., 1999, Osborne and Kovacic, 1993). Carlyle and Hill (2001) suggested that when nitrate removal is efficient, soluble reactive phosphorus (SRP) release could increase in the stream. On the contrary, phosphorus would be better retained in soil or sediment under oxidizing conditions (Zak and Gelbrecht, 2007). However, studies in riparian zones demonstrated high removal rates of nitrogen and lower ones of phosphorus without release or leaching (Osborne and Kovacic,

1993), with a positive effect on vegetation, which uptakes nutrients, improves microbial activity and favours local oxygenation (Schilling and Jacobson, 2014). Therefore, some wetlands were restored by reflooding to allow the removal of water nutrients and micropollutants, such as riparian wetlands on the Funen island, Denmark, receiving agricultural drainage water (Hoffmann et al., 2012) or the “Erstein polder”(France), which was restored mainly to mitigate the Rhine floods (Schmitt et al., 2008). These studies showed high nitrification or denitrification rates, depending on inputs and on the frequency and intensity of floods. These natural purifying models inspired the constructed wetlands (CWs) aimed at removing pollutants from different anthropogenic sources (Mirck et al., 2005), including wastewater. CWs have the advantages of environment-friendly construction, low operating cost and good landscaping. They are of different types and operation modes, often using plants: 1. Free-floating plant CWs (FFP), 2. Free water surface CWs (FWS) with emergent plants, 3. Subsurface CWs with horizontal (HF) or vertical flows (VF) (Vymazal, 2007). Many processes are involved in nitrogen transfer and removal within constructed wetlands such as ammonia volatilization, ammonification, nitrification, denitrification, dissimilatory reduction of nitrate to ammonia, anammox and/or biomass uptake (Saeed and Sun, 2012, Vymazal, 2007). Microbiological processes involved in nitrification, denitrification and anammox are responsible for 90% of nitrogen removal in CWs (Zhang et al., 2010, Hu et al., 2016), whereas plant uptake is often considered as minor (Tanner et al., 1995) . If phosphorus is absorbed by plants, the retention by the soil (adsorption, precipitation of insoluble phosphate) is the major phosphorus removal process, with the risk of remobilization and leaching, especially after rainfall (Collins et al., 2016, Vymazal, 2007).

The role of plants in nutrient retention or removal appears to be minimal under high load, except in the short-rotation intensive coppice (SRIC), whose large surface area and high wood density provide an important nutrient retention capacity (Labrecque et al., 1998, Fillion et al., 2009). However, plants have a significant physical impact in CWs by stabilizing the surface, allowing microbial attachment and having a positive influence on microbiological processes such as nitrification (Brix, 1997) and denitrification (Lin et al., 2002) by facilitating oxidizing and promoting oxygen production zones around the roots in anaerobic soil (Armstrong and Armstrong, 1988).

Complementing CWs, vegetated buffer zones (VBZs), often built on the remaining surface area of sewage treatment plant sites, have been used more recently as a tertiary treatment method to further improve waste water treatment. They are infiltration-percolation areas planted

with woody species (willow, poplar, alder ...) or macrophytes (reeds, water mint, water iris ...), in which the retention of water and nutrients by the soil and plants is expected. Boutin and Prost-Boucle, (2012) listed two types of VBZs, either using the soil in places such as grasslands, ponds and ditches, or using special materials (geomembrane, gravels...). Their installation in France has increased greatly. Their main functions are: i) decrease the volume of discharged water into the natural environment ii) lower micropollutants such as N, P and bacteria iii) retain suspended microparticles during sewage treatment plant dysfunctioning (Prost-Boucle and Boutin, 2013). These areas have been subjected to as yet few studies focusing on their role in the retention or removal of different pollutants (Moore et al., 2010, Laurent et al., 2015, Flora and Kröger, 2014). The aim of this study is to determine the efficiency of VBZs in the retention or removal of nitrogen and phosphorus, analyze the type of processes governing nutrient transfer according to environmental conditions and, if possible, specify the most effective compartment plant or sediment in their retention. We selected two VBZs, with contrasting characteristics (size, effluent discharge, soil texture and type of planted vegetation), receiving treatment plant effluents.

1.3 Material and Methods

1.3.1 Characteristics of the experimental sites (Figure 3-1)

The study was carried out on two vegetated buffer zones (VBZ) receiving effluents from wastewater treatment plants, located in two villages of eastern France.

The site of Raon (48°30'42.3''N, 07°05'42.3''E), which began operating in 2007, is located in Vosges and was designed for a person equivalent (PE) of 260 with one vertical flow treatment stage. The vegetated buffer zone (290 m² = 1.12 m²/PE) comprises two parallel ditches (2 x 120 m²), both supplied, joining in a terminal ditch (50 m²) connected to the receiving stream of "Gouttes Guyot". The incoming daily hydraulic load is 50 m³ / day (0.17 m³/m²/day) and effluents are totally infiltrated through a gritty sandy substrate. In 2007 the edges of the ditches were planted with several willow species: *Salix viminalis* L., *Salix purpurea* L., *Salix fragilis* L. and *Salix caprea* L., with a density of 9500 willows / ha and coppiced each year. Ditch 2 was gradually colonized by *Lemna minor* L. during the study period.

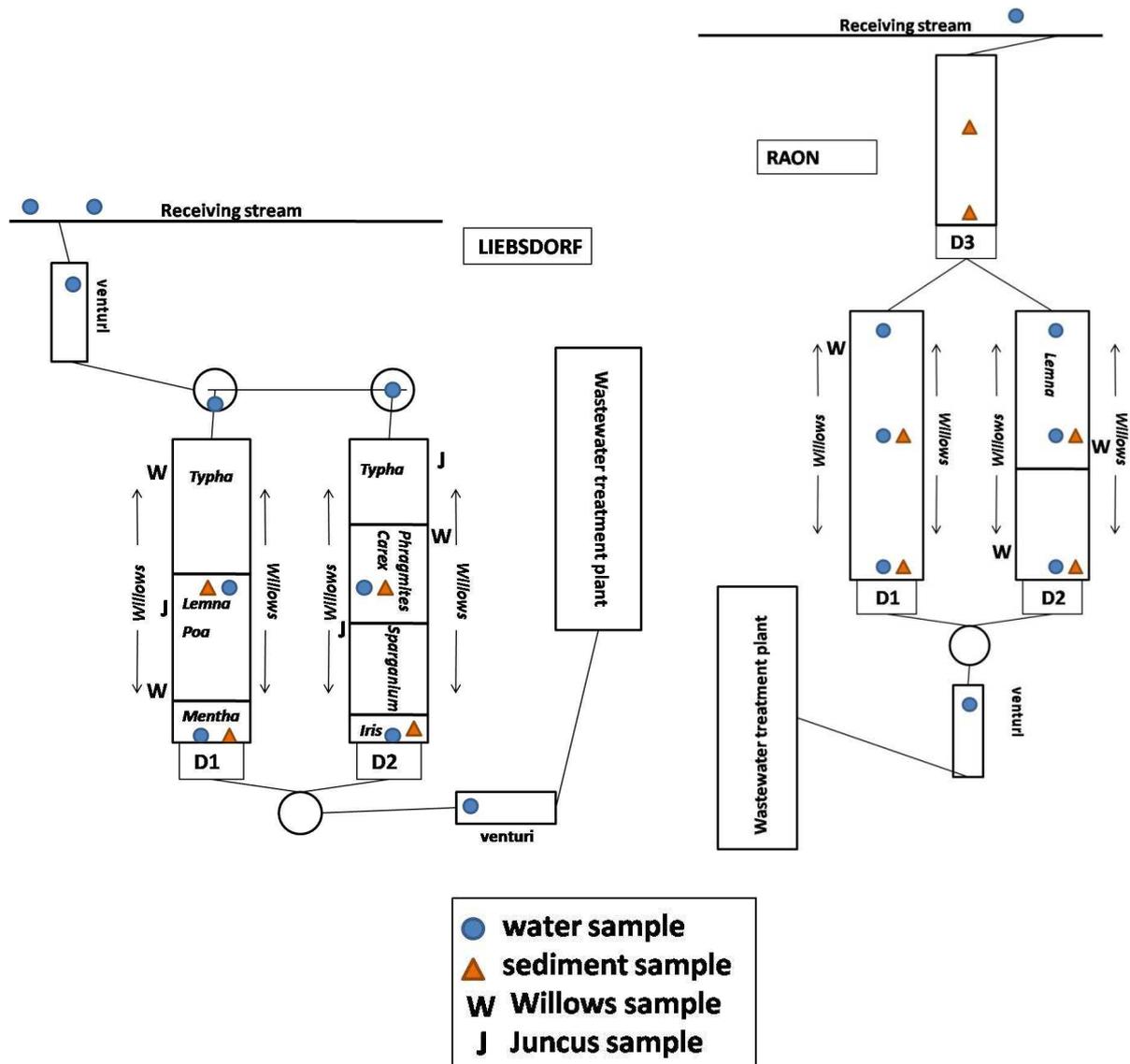


Figure 3-1: Schematic representation of Liebsdorf and Raon Vegetated Buffer Zone. D= Ditch

The site at Liebsdorf (47°28'52.4''N, 07°13'50.6''E), which began operating in 2009, is located in Haut-Rhin and was designed for a person equivalent (PE) of 350 with two vertical flow treatment stages. The vegetated buffer zone (152 m² = 0.43 m²/PE) comprises two parallel ditches (2 x 76 m²) connected to the stream "Liebsdorfergraben". The incoming daily hydraulic load is 82 m³ / day (0.54 m³/m²/day) and effluents are not totally infiltrated. The substrate is clayey with gley at a depth of around 0.6m. In 2011, the edges of the VBZ's ditches were planted with several willow species: *Salix viminalis* L., *Salix purpurea* L., *Salix fragilis* L., *Salix alba* L. and *Salix caprea* L., with a density of 3550 willows / ha and coppiced in 2014 during the study, and *Juncus effusus* L. and *Juncus conglomeratus* L.. Inside, the

ditches were planted and colonized by helophyte species: *Mentha aquatica* L., *Poa palustris* L., *Lemna minor* L., *Typha latifolia* L., *Iris Pseudacorus* L., *Sparganium erectum* L., *Carex acutiformis* L. and *Phragmites australis* L., which were cut each year. The ZTVs continuously receive the effluent from vertical flow treatment stage.

1.3.2 Sampling method

Field campaigns were carried out seasonally from March 2013 to June 2015, in December, March, June and September. In addition, sampling was conducted every month for six months from March to September 2014.

The water was sampled in the inlet structure of the VBZ, input, middle and output of each ditch, in the outlet structure of the Liebsdorf VBZ and in the receiving stream. The intake flow rate was worked out in the inlet and outlet of Liebsdorf VBZ and only in the inlet Raon VBZ thanks to venturi channels. Part of the water sample was filtered to 0.45 µm for NH₄-N and PO₄-P analyses and to 0.20 microns for the analysis of NO₃-N. Raw water was used for analyses of TP, NO₂-N and NTK. Physical water parameters (pH, temperature, dissolved O₂ and O₂ saturation rate) were determined in situ with a multiparameter set P4 WTW.

Plants were collected every field season. In both sites, three boughs and the corresponding leaves of three willow individuals were sampled. At Raon, *Lemna minor* L. was collected inside ditch 2. At Liebsdorf, different species of helophytes (3 shoots per species) in both ditches were taken, and the aerial parts, roots and rhizomes were washed and separated. The samples were dried, ground and the obtained powder was sieved through a two-millimeter sieve and preserved for analysis.

Sediment was collected twice a year in March and September. It was sampled in both sites in the entry and middle of each ditch. In each sampling zone, two samples from a depth of 0 to 5 cm and 20 to 30 cm were collected.

1.3.3 Chemical analysis

In the water Total Kjeldahl Nitrogen concentration (TKN) was measured in accordance with the AFNOR norm (Norm EN 25663). The total phosphorus (TP) and nitrite nitrogen (NO₂-N) concentrations were analyzed by a micromethod technical procedure (Nanocolor®). Nitrate nitrogen concentration (NO₃-N) was assayed by ion liquid chromatography with a Dionex ICS3000. The ammonia nitrogen (NH₄-N) and phosphate (PO₄-P) concentrations were

analyzed by colorimetric method with a micro-flow autoanalyzer (Integral Futura Alliance Instrument). Global Nitrogen concentration (GN) was calculated by addition of nitrate, nitrous and ammonia nitrogen.

The total nitrogen and total phosphorus content in plants were measured after mineralization with 97% sulphuric acid. The mineral residue was filtered through whole glass, taken up in 100 mL demineralised water and filtered through 0.45 micron syringe filters. Total phosphorus and nitrogen were measured using colorimetric method with a micro-flow autoanalyzer.

Available sediment phosphorus was measured according to the Joret & Hebert method (1954). Total phosphorus was analyzed by colorimetric method with a micro-flow autoanalyzer (Integral Futura Alliance Instrument) after drying at 70°C, grinding and digesting with a mixture of perchloric and nitric acids. Ammonia nitrogen was analyzed by BERTHELOT method and nitrate nitrogen by GRIESS method (Hood-Nowotny et al., 2010), after extraction with KCl 1 mol.L⁻¹. Organic nitrogen was measured by DUMAS method (NF ISO 13 878) on dried samples.

1.3.4 Biomass determination

In order to determine aerial biomass, willows were coppiced in December 2014 at Liebsdorf and January 2015 at Raon and weighed. An aliquot was reduced in the laboratory to determine the ratio fresh weight / dry weight. A helophyte biomass study was carried out in September 2014 when vegetation had reached maximum growth. Two methods were used: helophytes like *Mentha aquatica* L., *Poa palustris* L., were collected in 44 x 44 cm quadrats, dried and weighed. For *Typha latifolia* L., *Phragmites australis* L., *Iris pseudacorus* L., *Sparganium erectum* L., the number of individuals present in 5 one square meter quadrats was determined and three individuals of each species were taken to the laboratory, dried and weighed. The cover area of each species in each ditch was estimated. Total nitrogen and phosphorus content of willow and helophyte species was calculated with the following formula:

$$\text{Aerial biomass (g)} = (\text{individuals by quadrat} \times \text{aerial part mean dry weight (g)} \times \text{species covering surface (m}^2\text{)}) / \text{quadrat surface (m}^2\text{)}$$

$$\text{Total aerial part nutrient content (mg)} = \text{aerial biomass (g)} \times \text{nutrient content (mg/g)}$$

1.3.5 Statistical analysis

Statistical tests were performed with the R software. After inconclusive Shapiro-Wilk and Fisher-Snedecor tests, the means were compared by the non-parametric Wilcoxon test with a 5% threshold.

1.4 Results

1.4.1 Comparison of two water sampling procedures

During the year 2013, the SATESE (technical assistance to wastewater treatment plant operator Service), responsible for ensuring the functioning of treatment plants, conducted 24 hour sampling for 5 campaigns at the input and output of the Liebsdorf VBZ.

We compared the 24 hour sampling method with the seasonal sampling method previously described, by analyzing water nitrogen and phosphorus concentrations. **Table 3-1** shows that the concentration differences for both methods are not significant for most parameters tested, except for ammonia and nitrous nitrogen of VBZ input. As a consequence of this result, we retained the punctual seasonal sampling for easier sampling.

During the study, water sampling was carried out quarterly. However, from March to September 2014, monthly campaigns were conducted. The results in **Table 3-2** show that there is no significant difference between the quarterly and monthly concentration averages of the different forms of nitrogen and phosphorus over the study period.

Tableau 3-1: Comparison of average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus for two sampling water procedures at Liebsdorf: 24H sample and point sample. Mean comparison test P-value (wilcoxon test). * p < 0.05, ** p < 0.01, * p < 0.001, NS=Not Significant. Zi = Vegetated buffer zone input, Zo = Vegetated buffer zone output, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus.**

	Parameters (mg/L)											
	NH4-N		NO3-N		NO2-N		TKN		GN		TP	
	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo
24H sampling N = 5	1.12 ±0.7	0.7 ±0.2	25.9 ±15.8	20.8 ±10.3	0.02 ±0.04	0.03 ±0.05	2.9 ±1.6	2.1 ±1.4	37.1 ±13	28.4 ±8.5	1.5 ±1.2	1.5 ±1.4
Point Sampling N=12	0.18 ±0.2	0.03 ±0.03	21.7 ±8.4	18.1 ±6.4	0.03 ±0.02	0.06 ±0.04	1.6 ±0.7	1.3 ±0.5	23.8 ±9.5	20.0 ±7.3	2.4 ±0.9	2.1 ±0.8
Mean comparison	**	***	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

1.4.2 Physicochemical parameters

The analysis of water physicochemical parameters reported in **Table 3-3** show there were small differences between the ditches of one VBZ. However, there was a higher dissolved oxygen concentration in ditch 1 at Raon than in ditch 2.

Except for the mean temperature, all the parameters are significantly different between the two VBZs. At Raon, the pH of the water is slightly more acidic than at Liebsdorf. The conductivity in Liebsdorf (1023.6 $\mu\text{S} / \text{cm}$) is more than twice as high as in Raon (402 $\mu\text{S} / \text{cm}$). The trend is the same for dissolved oxygen, which is much higher at Liebsdorf (5.9 mg / L) than at Raon (1.8 mg / L).

Table 3-2: Average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus for two sampling water methodologies at Liebsdorf: quarterly sampling (March, June and September 2014) and monthly sampling (March, April, May, June, July, August and September 2014). Means comparison test P-value (wilcoxon test). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$, NS=Not Significant. Zi = Vegetated buffer zone input, Zo = Vegetated buffer zone output, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus.**

	Parameters (mg/L)													
	NH4-N		NO3-N		NO2-N		TKN		GN		PO4-P		TP	
	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo	Zi	Zo
Quarterly Sampling N=3	0.74 ± 0.7	1.05 ± 0.9	24.8 ± 6.6	21 ± 6.1	0.41 ± 0.4	0.51 ± 0.6	3.14 ± 2.3	3.06 ± 2.4	28.4 ± 8.4	24.6 ± 7.3	3.04 ± 1.8	2.9 ± 1.3	3.15 ± 1.1	2.7 ± 0.8
Monthly Sampling N=7	0.36 ± 0.5	0.48 ± 0.7	24.3 ± 8.8	20 ± 6.7	0.19 ± 0.3	0.24 ± 0.4	1.99 ± 1.4	2.08 ± 1.7	26.5 ± 9.8	22.4 ± 7.4	2.35 ± 1.3	2.2 ± 0.99	2.62 ± 0.9	2.3 ± 0.7
Mean comparison	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Table 3-3: Water physicochemical parameters means in VBZs of Raon and Liebsdorf. N=sample size. Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations for each parameter.

	Liebsdorf		Raon	
	Ditch 1 (N=33)	Ditch 2 (N=33)	Ditch 1 (N=23)	Ditch 2 (N=33)
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	12.4 \pm 3.97 (a)	12 \pm 3.8 (a)	11.8 \pm 4.9 (a)	12.3 \pm 4.1 (a)
pH	7.1 \pm 0.2 (a)	7.3 \pm 0.2 (b)	6.6 \pm 0.3(c)	6.6 \pm 0.3 (c)
Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1066 \pm 377 (a)	981 \pm 295 (a)	384 \pm 97 (b)	421 \pm 96 (b)
Dissolved O2 (mg/L)	5.8 \pm 3.1 (a)	6.1 \pm 3.1 (a)	2.3 \pm 2 (b)	1.3 \pm 1.5 (c)

1.4.3 Nitrogen and phosphorus concentrations in water

The first part of **table 3-4** illustrates the results at Liebsdorf. The concentrations of the nitrogen and phosphorus forms decrease slightly, between the inlet and the outlet of the VBZ, except for nitrous nitrogen, which showed a significant increase of around 50 %.

The second part illustrates the results at Raon: the same trend can be observed between the inlet of the VBZ and the outlet of ditch 1 for nitrogen forms and orthophosphate. The total phosphorus decreased significantly by 50 %. In ditch 2, we note a significant decrease of nitrate nitrogen by 88 % and nitrite nitrogen by 64 % and a slight decrease of phosphorus forms. The global nitrogen and Kjeldahl nitrogen increased but not significantly in the two ditches. We notice from the table that the inputs of the Raon and Liebsdorf VBZs are highly different, especially for nitrogen. Indeed, at Liebsdorf, the concentration of nitrate is high, around 22mg/l N-NO₃, whereas the ammonium concentration is low (0.18 mg/l N-NH₄), and we observe the opposite in Raon. Phosphorus is higher in Raon than in Liebsdorf.

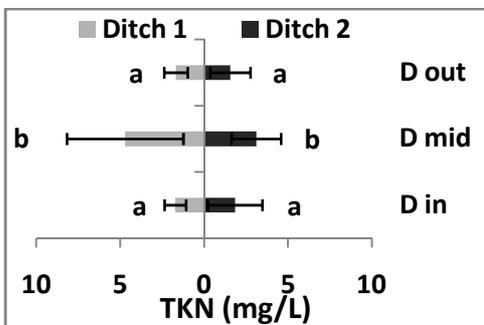
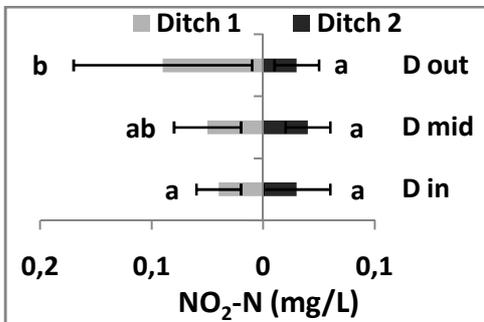
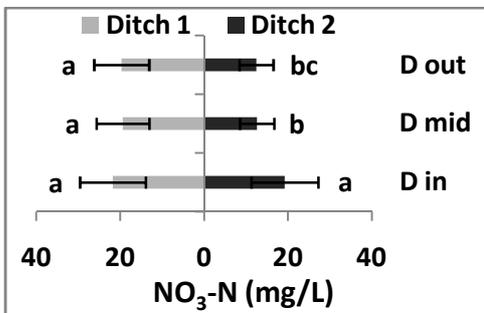
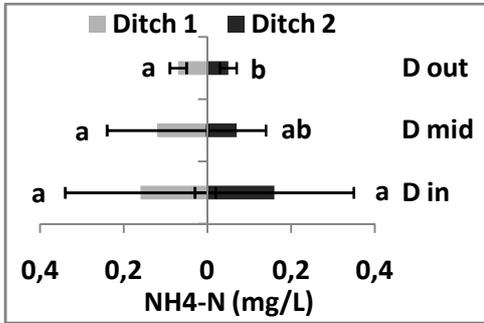
Comparing the concentrations along the ditch of both VBZs (**Figure 3-2**), there is no significant variation in concentrations of global nitrogen, total phosphorus and phosphate, whatever the ditch in both VBZs.

Table 3-4 : Average concentrations of different forms of nitrogen and phosphorus in water, means comparison test P-value (wilcoxon test). * P-value < 0.05, ** P-value < 0.01, * P < 0.001, NS: Not significant. VBZi = Vegetated Buffer Zone input, VBZo = Vegetated Buffer Zone output, D = ditch, TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, GN = Global Nitrogen, TP = Total Phosphorus.**

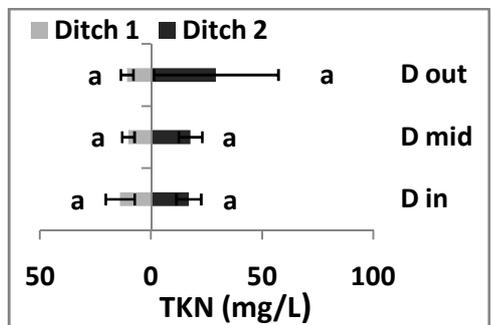
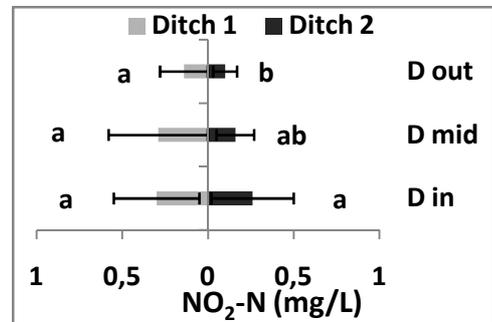
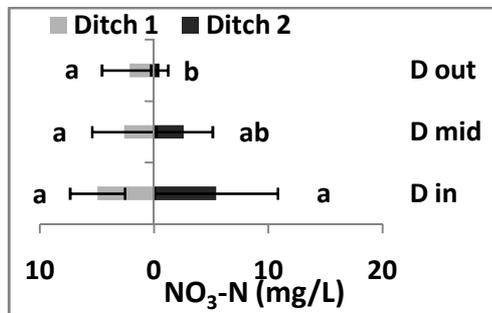
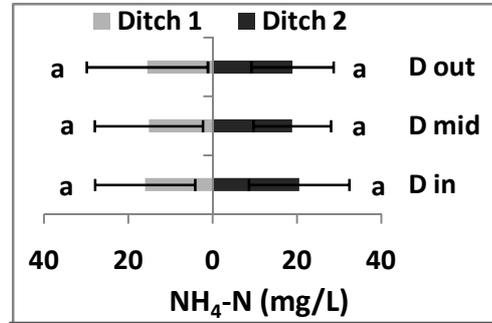
Liebsdorf	NH ₄ -N (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	TKN (mg/L)	GN (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	TP (mg/L)
VBZi N=12	0.18 ± 0.2	21.73 ± 8.4	0.03 ± 0.02	1.58 ± 0.7	23.81 ± 9.5	2.01 ± 1.2	2.39 ± 0.9
VBZo N=12	0.07 ± 0.03	18.14 ± 6.4	0.06 ± 0.04	1.33 ± 0.5	20.03 ± 7.3	1.79 ± 1	2.08 ± 0.8
Comparison P-value between VBZi and VBZo	0.157	0.266	0.016 *	0.332	0.3	0.544	0.319

Raon	NH ₄ -N (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	TKN (mg/L)	GN (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	TP (mg/L)
VBZi N=12	18.96 ± 8.1	3.91 ± 3.4	0.28 ± 0.3	21.33 ± 13	28.09 ± 15.5	4.01 ± 2.6	3.94 ± 3
D1 VBZo N=4	16.44 ± 16.4	2.23 ± 2.3	0.16 ± 0.1	46.43 ± 73.7	48.82 ± 72.2	2.57 ± 5.6	1.67 ± 5.8
D2 VBZo N=12	18.96 ± 9.7	0.48 ± 0.7	0.10 ± 0.07	29.37 ± 27.9	44.24 ± 48.2	4.79 ± 3.1	4.91 ± 3.1
comparison P-value between VBZi and D1o	0.599	0.38	0.317	0.412	0.343	0.212	0.008 **
comparison P- value between VBZi and D2o	0.713	0.002 **	0.033 *	0.898	0.756	0.59	0.843

Liebsdorf



Raon



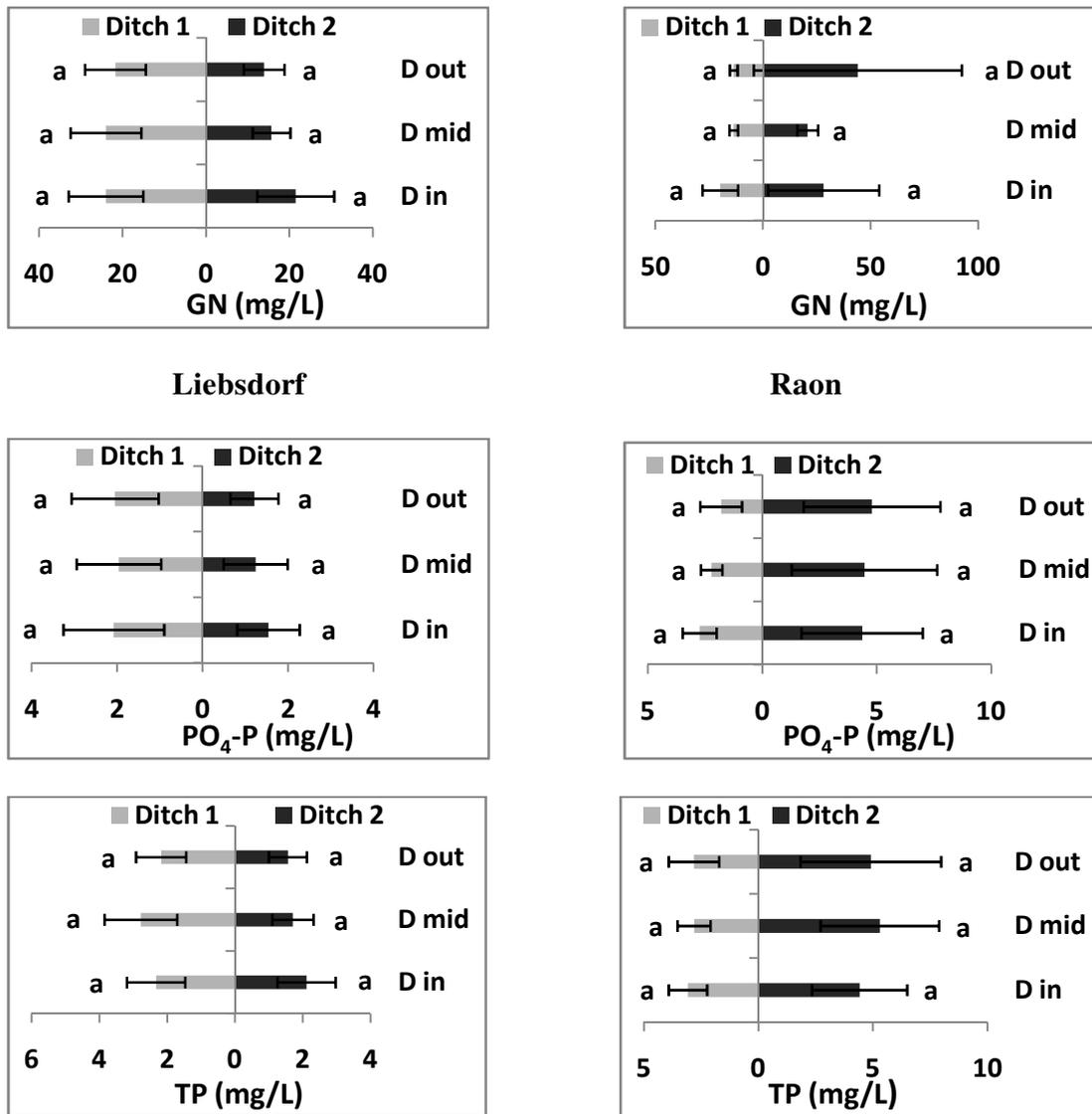


Figure 3-2: Comparison of average concentrations of nitrogen and phosphorus in water, between input, middle and output of each ditch at Raon and Liebsdorf VBZs (wilcoxon-test). Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations. D = ditch, TP = total phosphorus. Liebsdorf: N = 12, Raon D1: N=4, Raon D2: N = 12. The scales are different for the two sites

At Raon, as noted in table 3-4, nitrate and nitrite nitrogen concentrations decrease significantly between input and output, while there is a slight upward trend to Kjeldahl nitrogen, especially between the middle ditch and output, but this increase is not significant. On the other hand, we observe, at Liebsdorf, a significant nitrite increase in ditch 1 and TKN between the entrance and the middle of both ditches. There is also a significant decrease of N-NH₄ and N-NO₃ along ditch 2 and a minor decrease in N-NH₄ in ditch 1. The concentrations of the other forms remain stable.

At Raon, the stream may be considered very good quality as 7 parameters are classified as "very good quality", 2 of them as "good quality" and only one of them, TP, in "medium quali-

ty" (Table 3-5). Upstream of the effluent at Liebsdorf, the receiving stream featured quality conditions close to those in Raon. However, quality deteriorates downstream of the effluent, especially for PO₄-P and TP parameters classified “poor condition”, whereas the O₂ saturation rate, concentrations of NO₂-N and TKN are classified “good condition” instead of “very good”. However, the global quality of this stream is considered good.

1.4.4 Nitrogen and Phosphorus content in sediment

Table 3-6 shows the nitrogen and phosphorus forms content in the sediment. There was a clear decrease of nitrogen and phosphorus from the surface to the deeper layer of sediment. However, the decrease was less pronounced in Raon than in Liebsdorf. Nitrate concentration is very low when organic nitrogen and ammonia remain high whatever the depth. There is a clear difference in nitrogen and phosphorus content between the two ditches at Raon whereas the difference at Liebsdorf is much less marked. In Raon the chemical content is lower in ditch 1 than in ditch 2, which is permanently under water (which is not the case of ditch 1).

Table 3-5 : Evaluation of water quality in receiving streams in Raon and Liebsdorf based on the French referential SEQ-Eau. TKN = Total Kjeldahl Nitrogen, TP = Total Phosphorus. Blue = very good quality, Green = good quality, Yellow = medium quality, Orange = poor quality, Red = very poor quality. upstream- downstream of the effluent of ZVB

Parameters	Evaluation of water quality in France					Raon	Liebsdorf	
	Blue 80	Green 60	Yellow 40	Orange 20	Red	No rejection	Up- stream	Down- stream
Temperature (°C)	20	21.5	25	28		9.98	11.8	12.5
PH min	6.5	6	5.5	4.5		7.14	7.87	7.86
PH max	8.2	9	9.5	10				
Dissolved O ₂ (mg/L)	8	6	4	3		10.89	10.59	8.78
O ₂ saturation rate (%)	90	70	50	30		100.12	93.9	85.1
NH ₄ (mg/L)	0.1	0.5	2	5		0.09	0.18	0.29
TKN (mg/L)	1	2	4	10		1.15	0.83	1.77
NO ₂ (mg/L)	0.03	0.3	0.5	1		0.028	0.03	0.045
NO ₃ (mg/L)	2	10	25	50		3.53	2.12	4.12
PO ₄ (mg/L)	0.1	0.5	1	2		0.09	0.25	1.93
TP (mg/L)	0.05	0.2	0.5	1		0.21	0.27	0.59

Table 3-6 : Average contents of nitrogen and phosphorus forms in sediment of Raon and Liebsdorf VBZs N= 6 over the study period (2013-2015)

	Depth (cm)	NO ₃ -N (mg/g)		NH ₄ -N (mg/g)		N organic (mg/g)		Available P (mg/g)		Total P (mg/g)	
		0-5	20-30	0-5	20-30	0-5	20-30	0-5	20-30	0-5	20-30
Raon	Ditch 1	0.0004 ± 0.0003	0.0001 ± 0.00005	0.19 ± 0.11	0.13 ± 0.03	5.78 ± 3.6	1.67 ± 0.4	1.18 ± 0.6	0.26 ± 0.12	2.14 ± 1.4	0.75 ± 0.48
	Ditch 2	0.006 ± 0.01	0.004 ± 0.01	0.26 ± 0.16	0.18 ± 0.08	8.48 ± 1.3	1.47 ± 0.3	1.33 ± 0.4	0.26 ± 0.1	2.56 ± 1.3	0.65 ± 0.3
Liebsdorf	Ditch 1	0.001 ± 0.001	0.0002 ± 0.0002	0.11 ± 0.1	0.006 ± 0.003	9.03 ± 5.1	1.65 ± 0.5	1.36 ± 0.7	0.04 ± 0.02	2.32 ± 0.6	0.61 ± 0.3
	Ditch 2	0.0005 ± 0.0004	0.0002 ± 0.0001	0.13 ± 0.1	0.003 ± 0.001	10.64 ± 4.4	1.22 ± 0.17	1.48 ± 0.7	0.04 ± 0.01	1.93 ± 0.6	0.5 ± 0.2

1.4.5 Nitrogen and Phosphorus content in plants

The accumulation of nitrogen and phosphorus shown in **Figure 3-3** was investigated for two types of plant species commonly found in VBZs, ligneous (*Salix* sp), helophyte (*Mentha aquatica*, *Veronica beccabunga*, *Juncus* sp, *Poa palustris*, *Typha latifolia*, *Iris pseudacorus*, *Carex* sp, *Phragmites australis* and *Sparganium erectum*) and aquatic species (*Lemna minor*). Helophytes accumulate more nutrients than woody willow species with an average grade of 2.16% N and 0.37% P in shoots, 1.80% N and 0.5% P in the roots and 1.48% N and 0.3% P in the rhizomes. Willows accumulate a little more N and P in the leaves, respectively 1.89% and 0.22%, than in the boughs (0.22% N and 0.13% P).

It is observed that *Lemna minor* species, the only aquatic species present in the ditches at Raon, accumulates clearly more, with an average of 3.41 % N and 1.39 % P. This accumulation is especially remarkable for phosphorus, which rarely exceeds 1% content in plants.

Willows at Raon accumulated more nutrients than those at Liebsdorf.

1.4.6 Nitrogen and Phosphorus distribution in compartments - water, sediment and plant-

We chose to estimate the content of the three VBZ compartments in September 2014 when we had all the data in each compartment, in order to evaluate the importance of a compartment in nutrient retention. (**Table 3-7 and 3-8**)

Water

Liebsdorf VBZ receives about 32,000 m³ of water per year and discharges 34000 m³ i.e.. an extra 2,000 m³. However, a part of the nitrogen (10.6%) and phosphorus (7.6%) in the effluent from the treatment plant is retained in the VBZ. These low percentages show a very significant release of nitrogen and phosphorus into the natural environment. At Raon, the

VBZ receives a volume of water almost twice as low as Liebsdorf with an estimated 18,000 m³. Unlike Liebsdorf, the water is completely infiltrated within VBZ (**Table 3-7 and 3-8**).

Sediment

Table 3-7 shows the amount of nitrogen and phosphorus measured in September 2014 in the top 5 cm of sediment and at a 25 cm depth. At Liebsdorf, we observe that in the top 5 cm, the amount of phosphorus is comparable in both ditches while the nitrogen content is 1.6 times higher in ditch 2 than in ditch 1. At a depth of 25 cm, the amount of nitrogen and phosphorus is similar between the two ditches. In the topsoil at Raon, there is a higher retention of nitrogen in ditch 2 (+ 28.5%), compared to ditch 1, and the opposite phenomenon for phosphorus with a higher retention in ditch 1 (+ 41.5%). In depth, the retention in ditch 1 is 1.3 times higher for nitrogen and 1.5 times for phosphorus than in ditch 2.

Much larger surface nutrient retention is observed in Raon VBZ in comparison with Liebsdorf. In depth, the trend is similar but less pronounced. **Table 3-8** confirms this trend by the estimation of nutrients' part retained by soil in one year. This table shows that nitrogen is not retained in Raon soil and eliminated in Liebsdorf while the phosphorus is retained by VBZ soil, particularly in Raon.

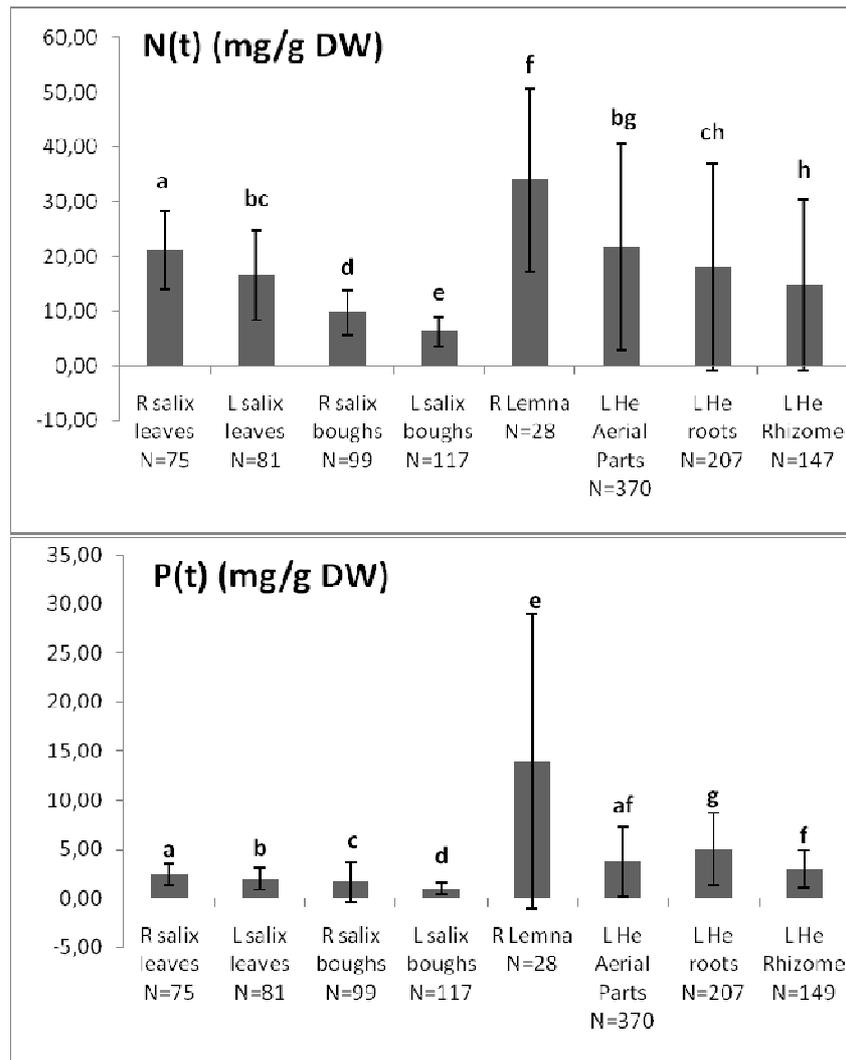


Figure 3-3: Total nitrogen and phosphorus average amounts in plants. Dissimilar letters show a significant difference of the mean concentrations. R= Raon, L=Liebsdorf, He=Helophyte

Plant

Willow bough biomass in Liebsdorf VBZ (willows cut every 4 years) is more than two times higher than willow biomass in Raon (willow cut annually). This proportion is reflected in the stored (potentially exportable) nitrogen and phosphorus amount. In both cases, this amount represents a small part of the nutrients received by the VBZ with 0.13% N and 0.22% P at Liebsdorf and 0.41% N and 0.39% P at Raon (**Table 3-8**). At Liebsdorf, the aerial biomass of helophytes and aquatic plants in ditch 2 is higher than in ditch 1. The stored nitrogen amount is also greater with + 44.3%, while phosphorus amount is comparable in the two ditches (**Table 3-7**).

Table 3-7 : Distribution of nitrogen and phosphorus in water, sediment (September 2014), and the aerial parts of the plant (September 2014) of VBZs Liebsdorf and Raon

	Liebsdorf		Raon	
	Ditch 1	Ditch 2	Ditch 1	Ditch 2
Water m ³ /year received by VBZ	32 237		18 308	
N g/year received by VBZ	853 308		568 293	
P g/year received by VBZ	84 460		84 036	
Sediment weight (0-5 cm) (Kg DW)	3 345	2 879	5 107	4 810
Sediment (0-5 cm) N content (g) / (g/m ³)	5 882 / 1 548	18 124 / 4 769	38 848 / 6 475	54 330 / 9 055
Sediment (0-5 cm) P content (g) / (g/m ³)	6 908 / 1 819	6 767 / 1 781	24 923 / 4 154	14 574 / 2 429
Sediment weight (5-25 cm) (Kg DW)	19 708	21 033	28 929	32 143
Sediment (5-25 cm) N content (g) / (g/m ³)	23 868 / 1 256	23 232 / 1 223	58 958 / 1 965	41 691 / 1 390
Sediment (5-25 cm) P content (g) / (g/m ³)	13 796 / 726	13 987 / 736	42 525 / 1 418	19 286 / 643
willow boughs Dry weight (g)	608 071		239 720	
N(g) in willow boughs	4 530		2311	
P(g) in willow boughs	736		326	
Helophyte aerial parts dry weight (g)	31 300	38 463		
N(g) in helophyte aerial parts	331	594		
P(g) in helophyte aerial parts	63	56		

Table 3-8 : Estimated nitrogen (N) and phosphorus (P) content supplied by fertirrigation, released into the river, retained by the ground on 25 cm and plants, in one year.

	Liebsdorf		Raon	
	N	P	N	P
Nutrients supplied into VBZ in one year (g)	853 308	84 460	568 293	84 036
Nutrients discharged into the receiving environment in one year (g)	762 630	78 035	0	0
Part of nutrients discharged into the receiving environment in one year (%)	89.4	92.4	0	0
Nutrients retained by the soil (0-25 cm) (g)	-9 183.21	15 547.6	19 932	47 425
Part of nutrients retained by the soil (0-25 cm) (%)	0	19.9	3.51	56.4
Nutrients retained by plant (g)	1 133	184	2311	326
Part of nutrients retained by plant (%)	0.13	0.22	0.41	0.39

1.5 Discussion

1.5.1 Reliability of the methodology

The methodology used in any study is crucial to obtain reliable results and gain a good understanding of the processes in place. In a natural environment in which many factors and parameters coexist and interact with each other, the frequency of field campaigns is essential to achieve results reflecting reality. In the study of vegetated buffer zones, 24H and monthly assessments of water and nutrient flows seem to be the most appropriate, due to high variations in water and pollutant influx. However, even at this frequency, measurements remain variable because of particular climatic events and anthropogenic factors (effluent input variation), which can lead to unrepresentative results. Getting closer to what is going on in this

type of zone would require daily tracking for at least one year with 24H balances. In both cases, however, the methodology is costly and time consuming. In view of our results, point and quarterly sampling seem to be suitable and can give a fairly reliable picture of nutrient flows in this type of system. However, there is a large variability of nutrient concentrations depending on the sampling day after climatic events and the time of day, especially for ammonium. In the case of VBZs this can be explained by the varying efficiency of reed bed filters or by variations in nutrient inputs to the wastewater treatment plant.

This varying effectiveness of reed beds at vertical flow explains the differences of water composition in both VBZs' input, despite the same upstream purifying treatment. At Liebsdorf, low concentrations of ammonium but higher nitrate concentrations suggest a high nitrification rate in the filters, which is generally expected for the hydraulic retention time observed in planted beds (Yang et al., 2010). The opposite trend at Raon (high ammonium concentrations and low nitrate ones) could show a dysfunctioning of the planted filter.

1.5.2 Reduction of nutrients in both VBZs

The two VBZs show a clear difference of inputs and also reveal large functional differences. At Liebsdorf, there is no decrease in nutrient concentrations between the input and the output, which can be explained by a short hydraulic retention time (HRT about 2 hours) in this area, as measured by Laurent et al. (2015). HRT is an important factor in nutrient fluxes. Shayan et al. (2016) showed that HRT of 6 days was optimum for ammonium, nitrite and nitrate retention while Tao and Wang, (2009) observed that for nitrogen removal it was 5 days and Toet et al., (2005) 4 days. To achieve better retention of phosphorus, HRT must be much longer and reach 15 days (Collins et al., 2016, Toet et al., 2005). This being impracticable, they concluded that a decrease in hydraulic load is required to reach this HTR. It is therefore essential to have a hydraulic load adapted to the surface, which is not the case at Liebsdorf with a surface area representing $0.43 \text{ m}^2 / \text{PE}$, a hydraulic load of $0.54 \text{ m}^3 / \text{m}^2 / \text{day}$ and low soil permeability.

However, there is a functional difference between the ditches : we estimated a removal of 69% of ammonium and 37% of nitrate in ditch 2, which can be explained by partial nitrification and denitrification (PNAD) (Zhang et al., 2010), while in ditch 1 we observed an increase by 50% of nitrite, which could show predominant nitrification pathways (Zhang et al., 2011). Moreover, the high nitrite content in ditch 1 could also promote anammox processes leading to ammonium reduction, even if the ammonium decrease along ditch 1 is not significant, as

has been shown in this study. Globally, nitrification seems to predominate denitrification in this VBZ thanks to high levels of dissolved oxygen in water and the presence of macrophytes. In fact, the lower ammonium content in Liebsdorf sediment compared to Raon could be due to the nitrification process. But the clayey soil favouring anaerobic processes by waterlogging (Moffat and Houston, 1991), could promote denitrification in the biofilm at surface (Lin et al., 2002) as well as anammox processes which is often observed in the constructed wetlands (Hu et al., 2016). The differences in nitrogen removal and microbiological processes between the two ditches are also explained by VBZ hydraulics, in which effluent distribution is 2/3-1/3 for ditch 1 and 2 respectively. The hydraulic load rate (HLR) and HRT are most suitable in ditch 2 and allow a better nitrogen removal (Moore et al., 2010). In the outlet of this VBZ, however, the retention of nutrients in ditch 2 is hidden by the hydraulic load of the ditch, resulting in the degradation of the receiving stream.

At Raon, all the infiltrated water is due to a more permeable sandy soil but also to the surface area of the VBZ most suited to the hydraulic load with $1.12 \text{ m}^2 / \text{PE}$ and $0.17 \text{ m}^3 / \text{m}^2 / \text{day}$. Although the total infiltration appears to protect the surface waters, filtering soil can lead to pollution of the groundwater, especially by nitrate, which is not retained by the soil, even if the presence of willows could reduce nitrate leaching (Dimitriou and Aronsson, 2011). Furthermore, a permeable soil does not allow optimum HRT to sustain microbiological processes.

We observed that ditch 1 in this VBZ is not correctly fed by the wastewater treatment plant due to a plug in the supply line. The better phosphorus retention in ditch 1 is probably due to non-irrigation periods (Haynes and Swift, 1985). In ditch 2, there was a decrease of both nitrate and nitrite concentration. This is due to the anoxic conditions of the environment owing to the low concentration of dissolved oxygen in the effluent, as well as the high cover of lemnids in this ditch, which also intensifies water desoxygenation. All these factors promote the process of denitrification. The stability of ammonium concentration between the inlet and outlet of the ditch would tend to prove an absence of anammox processes despite the anaerobic conditions. However, anoxic conditions, substantial organic nitrogen content, and the presence of enteric bacteria in this type of effluent are favorable to dissimilatory reduction of nitrate to ammonia (DRNA) processes and can explain the large amounts of ammonium in the water and soil (Koike and Hattori, 1978).

The main differences between the two VBZs concern the reduction of nitrogen. Despite a more favorable soil texture for aerobic processes at Raon than at Liebsdorf, the low effluent DO and the absence of plants within the ditches except for the lemnids leads to a lack of nitrification, whereas in Liebsdorf nitrification seems to predominate with a clayey reducing soil, but high level of effluent DO and numerous macrophytes. Thus the quality and composition of the effluent, the soil texture and the hydraulic load are major factors in nutrient removal. Liebsdorf VBZ soil characteristics and vegetation management seem to be more suitable for a high nitrogen removal than at Raon.

1.5.3 Role of plants in reduction of nutrient transfer

A positive impact of plants has been shown in microbiological processes (Penton et al., 2013, Tsiknia et al., 2013) by modifying the aerobic/anaerobic conditions in the root zone. Concerning the retention in biomass, the nitrogen content in the willow leaves (about 20 mg / g DW) is comparable to that observed by Labrecque et al. (1998) under fertirrigation, and higher than the mean content of 15 mg/g DW observed in natural milieu (Ennabili and Radoux, 2006). The higher content of nitrogen and phosphorus in Raon willow organs than in Liebsdorf contradicts Fillion et al. (2009), who noted a higher content in the willows planted in clayey soil than those planted in sandy soil. However, this difference can be explained by the annual willow coppicing at Raon, which leads to more nutrient uptake to produce biomass. Higher capacity nutrient retention was observed with the macrophyte *Lemna minor* L.. However, its capacity to retain nutrients depends on a temporary development. This ability was also observed by Iatrou et al. (2015) but also by Xu and Shen, (2011) with another species of duckweed *Spirodela oligorrhiza*.

We show that willows store more nutrients in leaves than in boughs, the perennial storage organ, and thus these nutrients can be released by leaf decomposition and the plant effect is reduced. By contrast, helophyte storage organs, roots and rhizoms, accumulate more nitrogen and phosphorus than aerial parts, as observed by Espinoza-Quiñones et al. (2013). We could conclude that helophytes would be more efficient than ligneous species.

In both VBZs, we estimated that plants are responsible for only a small percentage of nutrient retention despite high nutrient content. In a study on irrigated willow plantations, Guidi Nissim et al. (2015) observed retention of 86.4% nitrogen and 82.7% phosphorus for 164 kg N / ha / yr and 33 kg P / ha / yr of nutrient intakes with a density of 16000 willows/ha and Dimitriou and Aronsson, (2011) a removal of 90 to 96% of nitrogen and 94% of phosphorus

for 370 kg N / ha / year and 30 kg P / ha / year of nutrient intakes. Our study showed that Liebsdorf nutrient intake is much higher with 56118 kg N / ha / year and 5559 kg P / ha / year and 19586 kg N / ha / year and 2896 kg P / ha / year at Raon. Under these conditions the role of plants in nutrient retention remains minimal with around only 1% removal as observed by Tanner et al., 1995 with high HLR of dairy farm wastewater. These differing observations underline the importance of appropriate hydraulic load. The better retention of phosphorus in the soil in Raon VBZ can be explained by the total water infiltration and the regular renewal of willows by coppicing. At Liebsdorf, higher nitrogen content on the surface of ditch 2 is due in part to higher organic nitrogen rates (10.64 mg/g), which can be explained by a higher biomass production in this ditch. These observations show the impact of plants on soil chemistry.

1.6 Conclusion

In both VBZs there is globally no reduction of nutrients transfer, however depending on their physical features such as surface area, soil texture and hydraulic load. But we observe functional differences within the ditches. Some of them showed a clear reduction of nitrogen but their small surface area restrains their role in environmental protection. A low surface area added to a substantial wastewater loading rate in treatment plant input leads to a too short hydraulic retention time for the establishment of biological processes responsible for the removal of nitrogen and a good phosphorus adsorption by the soil. Soil texture plays a major role: clayey soil is preferable sandy soil to prevent the leaching of nutrients into the groundwater. In Raon all the water infiltrated, which protects the receiving surface water but not the groundwater. The presence of macrophytes within the ditches favours the phenomenon of partial nitrification and denitrification expected in the VBZ by creating aerobic zones in the rhizosphere in an anaerobic environment. The proper functioning of the treatment plant located upstream of the VBZ is an important parameter to best anticipate possible nutrient removal capacity and transfer in the VBZ. A specific study of nitrification, denitrification and bacterial biomass would refine the understanding of microbial processes involved in nitrogen reduction in VBZs.

2 Résumé des principaux résultats et discussion

A Liebsdorf, on n'observe aucune baisse significative des formes d'azote et phosphore entre l'entrée et la sortie de la ZTV. Ceci est dû probablement au ratio quotidien charge hydraulique/surface élevé de 0,54 m³/m²/j par rapport à Raon (0,17 m³/m²/j). Ce ratio important

ne permet pas un temps de rétention hydraulique assez long pour la mise en place des processus microbiologiques et pour la rétention du phosphore. Les transferts plus importants dans la noue 2 que dans la noue 1 s'expliquent par la répartition de l'effluent avec $2/3$ vers la noue 1 et $1/3$ vers la noue 2. Cependant, le volume rejeté par la noue 1 plus important que celui rejeté par la noue 2 ne permet pas d'observer les effets de cette dernière en sortie de la ZTV. A Raon, le ratio est d'autant plus acceptable que le sol sableux est très filtrant. Cependant une étude de la qualité de la nappe souterraine permettrait d'observer la présence ou non de lessivage notamment des nitrates. Dans le cas d'un lessivage avéré, un sol sableux serait à proscrire. Ceci conforte l'hypothèse selon laquelle le ratio charge hydraulique/surface est un paramètre déterminant dans la rétention des nutriments.

A Liebsdorf, on note une baisse de la concentration en ammonium et en nitrate à l'intérieur de la noue 2 démontrant un phénomène de nitrification/dénitrification. Dans la noue 1, on note une augmentation de la concentration en nitrite souvent témoin d'un phénomène de nitrification. Malgré un sol argileux, saturé en eau et aux caractéristiques anaérobies plus propice aux processus de dénitrification et Anammox, on observe un fort taux de nitrification probablement dû au taux élevé d'oxygène dissous de l'effluent et de la présence d'espèces héliophytes formant des zones aérobies, oxydantes au niveau de la rhizosphère, dans un milieu globalement anaérobie, conditions idéales à une nitrification et dénitrification partielle. De plus, on note en un an une élimination dans les 25 premiers centimètres de sol de l'azote, pouvant confirmer la présence de processus microbiologiques d'élimination de ce dernier. A Raon la baisse de la concentration en nitrate et la concentration inchangée en ammonium peuvent être le reflet de deux processus de réduction du nitrate se déroulant en condition anaérobie : la dénitrification et la réduction dissimilative du nitrate. Or la ZTV de Raon présente un sol sableux, normalement plus favorable à des conditions aérobies. Cette anaérobiose peut s'expliquer par le colmatage du sable par la matière organique, le faible taux d'oxygène dissous de l'effluent et le tapis de lemnes réduisant encore le taux d'oxygène dans la noue. Dans les deux ZTVs, le phosphore semble n'être que très peu retenu. Ces résultats infirment l'hypothèse selon laquelle un sol argileux est plus propice à la dénitrification et un sol sableux plus propice à la nitrification. En effet, de nombreux paramètres tels que la qualité physique et chimique de l'effluent et la présence d'héliophytes plantés dans les noues sont à prendre en compte, la texture du sol seule ne permettant pas de prévoir les processus microbiologiques majeurs de réduction de l'azote. De plus, on note que la présence

d'hélophytes améliore les conditions de nitrification et dénitrification dans un sol anaérobie, allant dans le sens de l'hypothèse formulée au départ de l'étude.

Dans les deux types de végétaux plantés, on observe un taux important de rétention dans les parties aériennes (20 mg N/g PS ; 2,20 mg P/g PS), comme dans les parties souterraines. Le taux de rétention dans *Lemna minor* est remarquable avec 34 mg/g PS d'azote et 14 mg/g PS de phosphore. Cependant, l'étude de la biomasse a démontré que l'impact de la végétation sur l'élimination des nutriments dans ces deux ZTVs reste mineur (<1%). Le sol semble donc être le compartiment privilégié pour la rétention de l'azote et du phosphore que ce soit par transformation des formes solubles de l'azote en formes gazeuses ou par adsorption du phosphore sur les particules du sol. La rétention du phosphore importante dans la noue 1 à sec à certaines périodes semble indiquer que des périodes d'assèchement des noues seraient favorables à l'adsorption du phosphore. Ceci confirme l'hypothèse émise sur le rôle mineur de la végétation dans l'élimination des nutriments. Cependant, sans étude des contenus en nutriments des eaux souterraines, il est difficile de conclure sur le rôle exact du sol dans l'élimination des nutriments.

Chapitre 4

Transferts de nutriments sous conditions contrôlées dans un site expérimental

L'objectif principal de ce chapitre est l'étude du transfert des nutriments –nitrate et phosphate- sous fertirrigation dans une zone tampon expérimentale aux conditions contrôlées. Cette étude a soulevé les questions suivantes:

- Comment nitrate et phosphate sont-ils transférés dans un sol de texture limono-argileuse?
- Le recépage et la densité des saules ont-ils un impact sur la rétention des nutriments ?
- Quelle part de l'azote et du phosphore ajoutés par fertirrigation, est retenue par le sol et par les plantes ?

Ces questions complètent celles déjà abordées au chapitre 3 :

- Quel est le compartiment –sol ou végétal- le plus efficace dans la rétention des nutriments ?

Plusieurs hypothèses peuvent être apportées en réponse à ces questions :

- Le phosphate serait retenu dans le sol d'autant plus qu'il y a alternance de période de saturation en eau et de période sèche propice aux conditions oxydantes (Schönbrunner et al., 2012).
- Le nitrate n'est pas retenu par le sol et peut subir un lessivage vers les horizons les plus profonds, lessivage favorisé pendant les périodes d'irrigation. (Sanchez-Perez et al., 2003)
- Le recépage des saules produit une nouvelle biomasse plus efficace dans l'absorption des nutriments.

- Une densité double de saules n'implique pas forcément une biomasse plus importante si l'espace entre les pieds est trop faible et donc la densité trop importante (Kopp et al., 1997).
- Dans le chapitre 3 on a montré que le sol retient une quantité non négligeable d'azote et de phosphore dans les premiers centimètres. Cette quantité est plus importante que celle retenue par les plantes (< 1% dans les zones tampon végétalisées en fonctionnement). L'expérimentation devra confirmer ces résultats.

Pour vérifier ces hypothèses, les noues ont été fertirriguées avec un mélange de nitrate et de phosphate excepté la noue A, noue témoin, qui a été irriguée avec l'eau du réseau d'alimentation (caractéristiques pH, conductivité, turbidité, etc disponibles sur le site sante.gouv.fr). Les caractéristiques des noues sont reportées dans le **Tableau 4-1**.

Remarque : les quantités en nutriments apportés lors de l'irrigation ont été mesurées à chaque campagne de terrain alors que les concentrations sont des estimations prenant en compte une irrigation de 15 m³ d'eau pour chaque noue. Or, lors de l'irrigation, l'eau était inégalement répartie entre les noues, la noue témoin recevant un volume plus faible et la noue C bien plus important que les noues B et D aux volumes comparables.

La concentration en nitrate, ammonium et phosphate de la solution du sol a été déterminée, ainsi que le contenu en azote et phosphore du sol à plusieurs profondeurs (5, 25, 50, 75 et 100 cm). Le contenu en azote et phosphore dans les plantes ainsi que la biomasse végétale ont été aussi estimés.

Tableau 4-1 : Caractéristiques de l'aménagement et de la gestion des noues du site expérimental de Colmar. La noue A représente la noue de référence. N = taille de l'échantillon.

	Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
Surface (m ²)	25	25	25	25
Type d'irrigation	Eau réseau	Eau réseau + nutriments	Eau réseau + nutriments	Eau réseau + nutriments
Apport moyen mensuel en N-NH ₄ et concentration (N = 10)	0,016 ± 0,016 g 0 mg/L	0,020 ± 0,018 g 0 mg/L	0,014 ± 0,009 g 0 mg/L	0,035 ± 0,047 g 0 mg/L
Apport moyen mensuel en N-NO ₃ (N=10)	5 ± 0,5 g 5 ± 0,5 mg/L	307 ± 26 g 20,5 ± 1,7 mg/L	301 ± 27 g 20 ± 1,8 mg/L	302 ± 28 g 20 ± 1,8 mg/L
Apport moyen mensuel en P-PO ₄ (N=10)	0,344 ± 0,1 g 0,344 ± 0,1 mg/L	216 ± 39 g 14,4 ± 2,6 mg/L	208 ± 48 g 13,9 ± 3,2 mg/L	224 ± 40 g 14,9 ± 2,6 mg/L
Fréquence d'irrigation	mensuelle	mensuelle	mensuelle	mensuelle
Densité de saule (saules/Ha)	10400	10400	10400	14400
Recépage	Octobre 2015 (fin de l'étude)	Octobre 2013, 2014 et 2015 (mensuel)	Octobre 2015 (fin de l'étude)	Octobre 2015 (fin de l'étude)

1 Résultats

1.1 Caractéristiques physico-chimiques du sol

Le sol a été échantillonné jusqu'à 1m de profondeur. On a numéroté les couches en fonction des profondeurs et non des horizons. Les couches I et II sont modérément calcaires puis le sol devient fortement calcaire dans les couches III et IV. Le pH est alcalin et augmente avec la profondeur. Le taux moyen en matière organique est élevé dans la couche I (> 3%), encore élevé dans les couches II et III (2%<MO<3% et Argile <20%) puis baisse drastiquement dans la couche IV avec 1,25%. La texture du sol est limoneuse, avec un pourcentage de limon qui augmente avec la profondeur. La conductivité hydraulique est basse et équivalente dans les couches I et IV. Dans la couche II à 30 cm de profondeur, la conductivité hydraulique moyenne augmente pour atteindre un Ks plus élevé de 457 cm/j, puis redescend pour atteindre 134,7 cm/j à la couche III. Les horizons II et III sont beaucoup plus filtrants que les horizons supérieurs et inférieurs avec un maximum atteint à 30 cm de profondeur. (**Tableau 4-2**)

Tableau 4-2: Caractéristiques physicochimiques du sol de Colmar. C=couche. N=3

Profondeur (cm)	Calcimétrie moyenne (% CaCO ₃)	pH moyen	% moyen en matière organique	Conductivité hydraulique à saturation moyenne=Ks (cm/jour)	Granulométrie		
					% Sable	% Limon	% Argile
CI 10 à 15	14,91 ± 0,15	8,24 ± 0,06	3,55 ± 0,16	45,1 ± 25,8	14,4 ± 4	69,8 ± 3,5	15,8 ± 0,6
CII 28 à 32	22,69 ± 0,55	8,33 ± 0,04	2,63 ± 0,03	456,9 ± 42,17	6,9 ± 1,7	73,8 ± 1,1	19,3 ± 1
CIII 60 à 65	33,28 ± 0,3	8,48 ± 0,03	2,95 ± 2	134,7 ± 109,65	8,9 ± 4,1	73,9 ± 2,7	17,2 ± 1,5
CIV 90 à 95	32,13 ± 1,96	8,56 ± 0,08	1,25 ± 0,95	31,5 ± 19,6	7,4 ± 6,2	78,4 ± 3,7	14,2 ± 2,5

1.2 Succion du sol

Plus la succion est faible mieux l'eau sera retenue. La succion moyenne du sol à 25 cm, aux alentours de -30 hPa, est comparable dans les noues A et C et se situe à plus du double dans les noues B et D avec une moyenne de -90 hPa et un écart type important notamment dans la noue D. A 50 cm, la succion avoisine les -130 hPa dans les 4 noues. A 75 cm la succion de 0 hPa, excepté dans la noue D où elle atteint -127 hPa, est anormale et peut être due à la présence de fissures marquées. Enfin à la plus grande profondeur, la succion est à sa valeur maximale (environ -180 hPa) dans les 4 noues. (**Tableau 4-3**)

Tableau 4-3: Succion moyenne du sol en -hPa pour les profondeurs de 25, 50, 75 et 100 cm dans les différentes noues de la zone de Colmar. N= taille de l'échantillon. Les lettres entre parenthèses représentent les résultats du test statistique de comparaison des moyennes (test wilcoxon). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les différentes noues et profondeurs. (p valeur < 0,05, wilcoxon test). (*) Taille de l'échantillon insuffisant pour le test statistique.

	Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
25 cm	-20,5 ± 24,8 N=6 (ad)	-87,7 ± 20,6 N=6 (e)	-38,7 ± 13 N=7 (a)	-94,5 ± 50,2 N=2 (*)
50 cm	-141,5 ± 12,5 N=6 (b)	-142 ± 10,7 N=6 (b)	-136,3 ± 20 N=6 (b)	-110,7 ± 27,3 N=7 (be)
75 cm	0 ± 0 N=4 (d)	0 ± 0 N=7 (d)	0 ± 0 N=6 (d)	-127,5 ± 14,9 N=4 (bf)
100 cm	-190,4 ± 11,9 N=5 (c)	-174,6 ± 10,14 N=5 (c)	-187,7 ± 12,7 N=3 (cf)	-173 ± 21,9 N=7 (c)

1.3 Nutriments dans la solution du sol

Les concentrations en azote ammoniacal (N-NH₄) de la solution du sol dans les 4 noues sont faibles et varient entre 12 et 35 µg/L. On n'observe aucune différence significative entre les noues. De même les concentrations sont comparables aux différentes profondeurs. (**Figure 4-1**)

Les concentrations en azote nitrique (N-NO₃) dans la solution du sol des noues B, C et D sont plus de 100 fois plus élevées que les concentrations en azote ammoniacal et varient entre 6,1 et 15,3 mg/L. Dans la noue A témoin, les concentrations sont beaucoup plus faibles que dans les autres noues et varient entre 0,65 et 1,1 mg/L. De plus, on ne note aucune différence significative entre les profondeurs. (**Figure 4-1**). Dans la noue B recépée tous les ans, la concentration la plus faible (7,75 mg/L) est observée à 50 cm de profondeur et les concentrations sont comparables pour les autres profondeurs avec une moyenne de $14,6 \pm 0,18$ mg/L. Dans les noues C et D la concentration la plus faible est observée à 25 cm de profondeur avec 6,1 et 7,9 mg/L respectivement et la plus élevée à 50 cm avec 14,6 et 15,3 mg/L respectivement puis tendent à diminuer avec la profondeur.

Les concentrations en phosphate (P-PO₄) dans la noue A sont comparables quelle que soit la profondeur et varient entre 10 µg/L (100 cm) et 55 µg/L (25 cm). Dans les autres noues, la concentration baisse avec la profondeur pour atteindre des concentrations similaires à celles de la noue témoin. Dans la noue B la plus haute concentration de 2,9 mg/L est observée à 25 cm de profondeur alors que dans la noue D la concentration maximale de 1,7 mg/L est relevée à 50 cm de profondeur. Aux autres profondeurs les concentrations sont basses et varient entre 17 et 210 µg/L. Dans la noue C, on observe un comportement différent : les concentrations sont élevées jusqu'à 75 cm de profondeur avec une moyenne de $3,36 \pm 0,8$ mg/L puis baissent pour atteindre 130 µg/L à 100 cm de profondeur. (**Figure 4-1**)

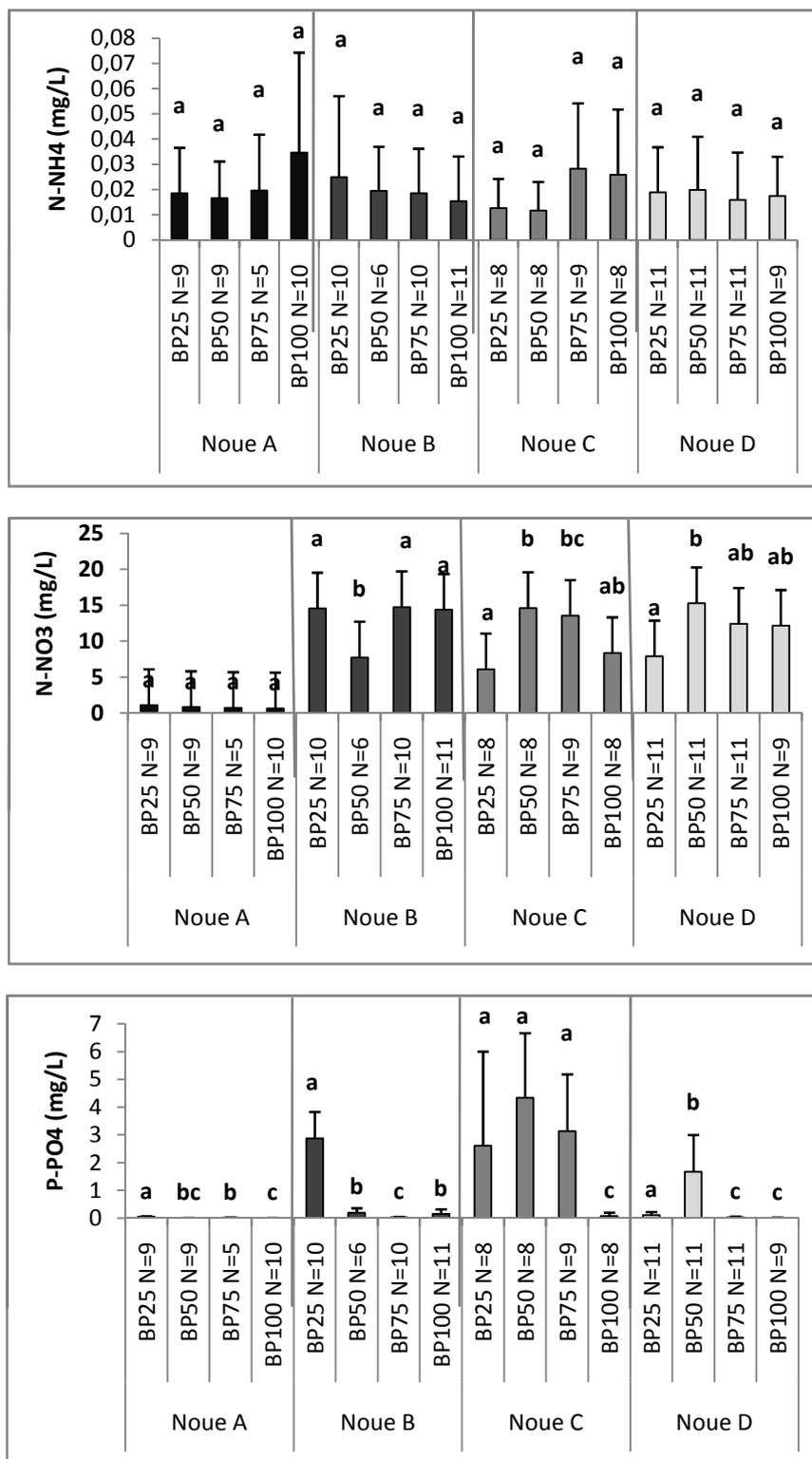


Figure 4-1: Concentrations moyennes de la solution du sol, après fertirrigation, en azote ammoniacal (N-NH₄), azote nitrique (N-NO₃) et phosphore des phosphates (P-PO₄) à différentes profondeurs du sol de chacune des noues. Les lettres permettent une comparaison des concentrations pour les différentes profondeurs d'une même noue. Le test statistique a été réalisé au sein de chaque noue. Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur < 0,05, wilcoxon test). BP25=bougie poreuse 25cm, BP50=bougie poreuse 50cm, BP75=bougie poreuse 75cm et BP100=bougie poreuse 100cm. N=taille de l'échantillon. La noue A représente la noue témoin.

La **Figure 4-2** permet une comparaison des concentrations en nutriments de la solution du sol prélevée après fertirrigation (24H après fertirrigation) et de celle prélevée « à sec » (aucune irrigation pendant un mois). Le peu de données hors irrigation ne permet pas de comparaison statistique. Pour l'azote ammoniacal, on note peu de différence entre les périodes de fertirrigation et hors irrigation. Cependant dans plusieurs cas on observe une concentration en azote ammoniacal plus élevée lors des périodes sèches. De plus les concentrations dans la noue A témoin sont comparables à celles des autres noues.

Au contraire pour l'azote nitrique et le phosphate on observe des concentrations nettement plus élevées dans la solution du sol lors des périodes de fertirrigation dans les 3 noues traitées. Pour l'azote nitrique, on observe des concentrations plus élevées en période sèche dans les noues B, C et D par rapport à la noue témoin où les concentrations restent faibles et comparables quelque soit la période et la profondeur. On observe aussi que la variation des concentrations selon la profondeur en période de non irrigation ne suit pas toujours la même tendance que lors de la fertirrigation : ainsi dans la noue C la concentration est maximale à 25 cm hors fertirrigation (contre 50 cm pour la période de fertirrigation), dans la noue D la concentration en nitrate est stable de 25 à 75 cm puis nulle à 100 cm hors fertirrigation alors que lors des périodes de fertirrigation elle est plus faible à 25 cm puis augmente et se stabilise à 50 et 100 cm.

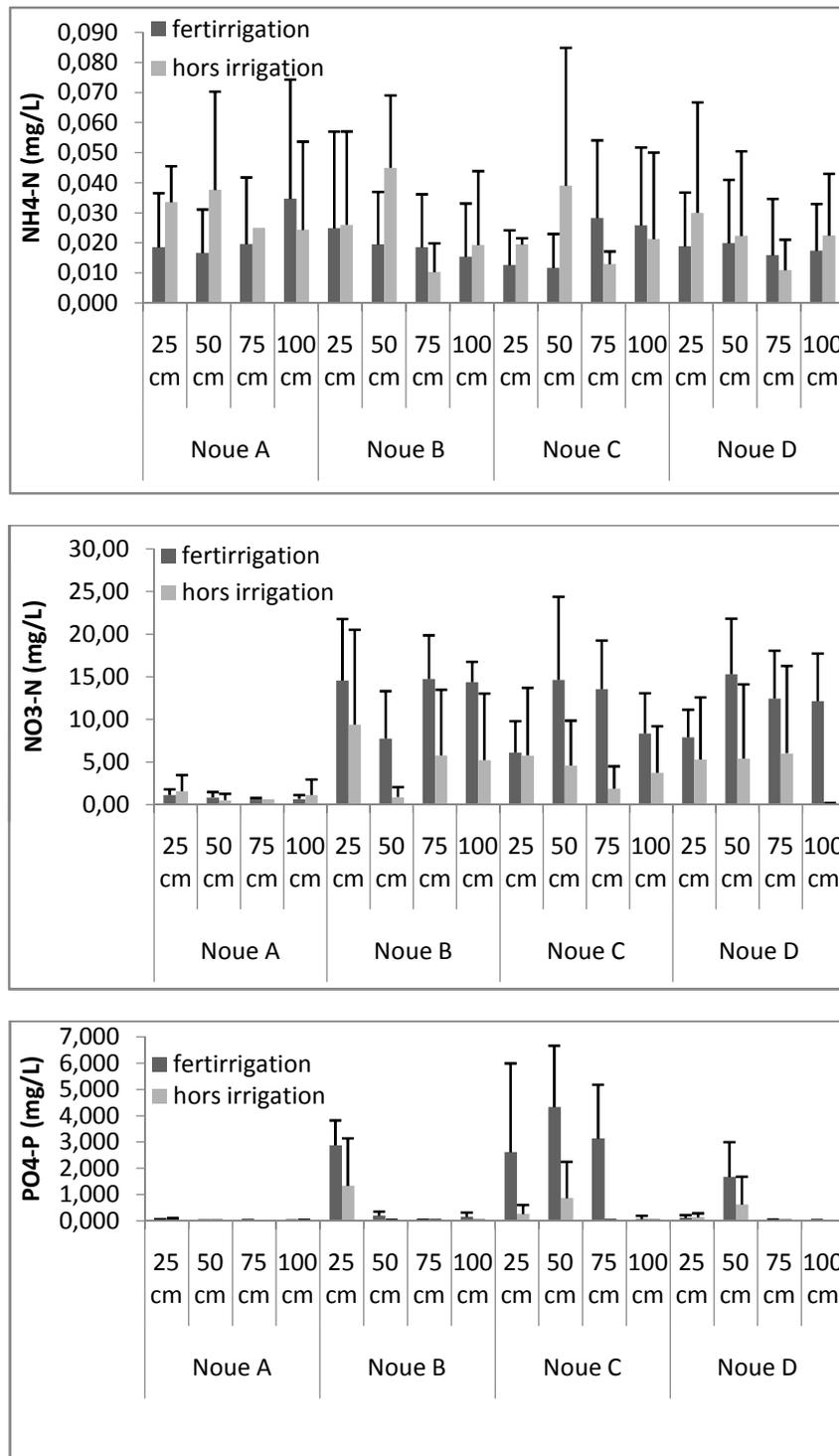


Figure 4-2: Concentrations moyennes en azote ammoniacal, azote nitrique et phosphore des phosphates dans la solution du sol, prélevée dans les 4 noues et à plusieurs profondeurs, après fertirrigation (fertirrigation) et après période sans aucune irrigation (hors irrigation). Taille de l'échantillon pour fertirrigation : $5 \leq N \leq 11$. Taille de l'échantillon hors irrigation : $1 \leq N \leq 3$.

1.4 Contenu et rétention des nutriments dans le sol

Dans ce volet on compare le contenu moyen en nutriments dans le sol (**figure 4-3**), ainsi que l'accumulation ou la perte de nutriments entre le début (août 2013) et la fin de l'étude (avril 2015) (**figure 4-4, tableau 4-4**), dans les 4 noues et les couches étudiées.

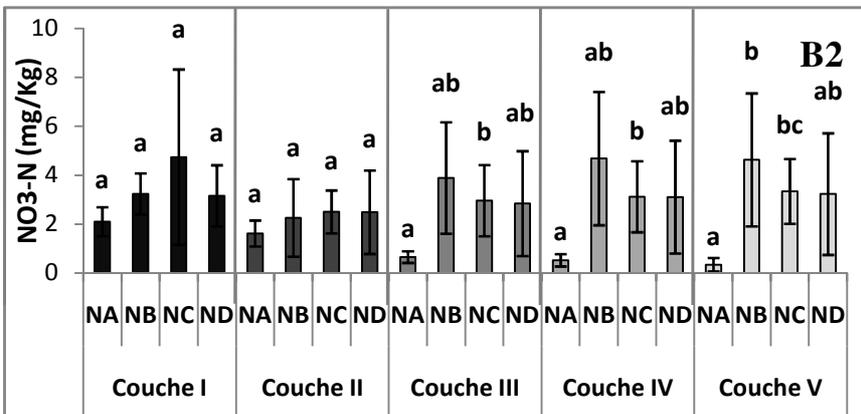
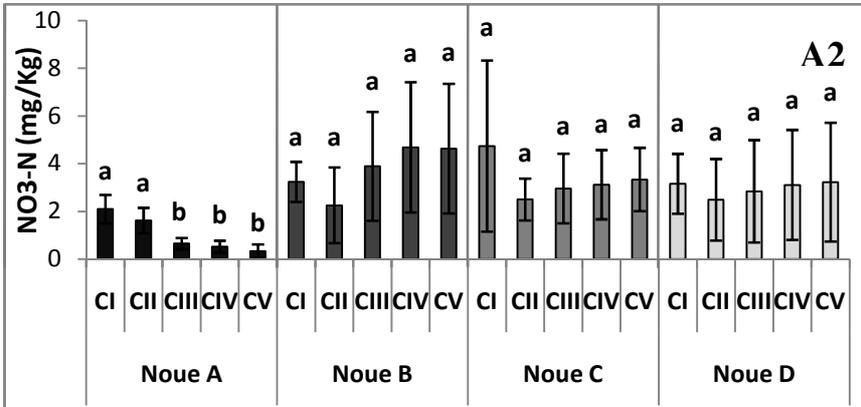
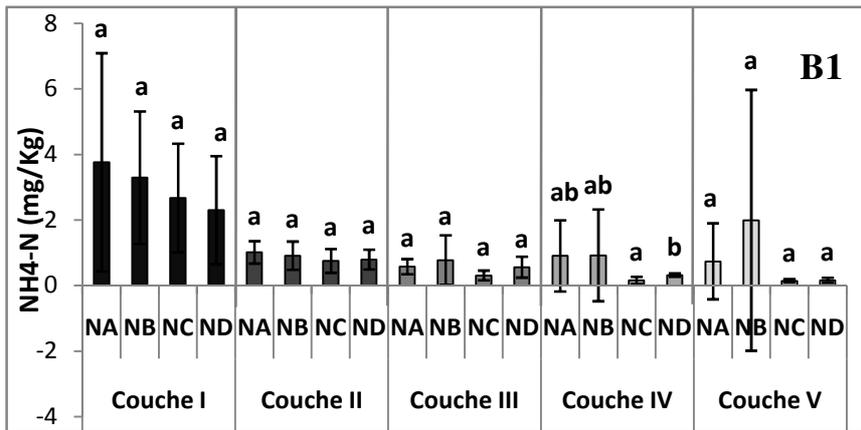
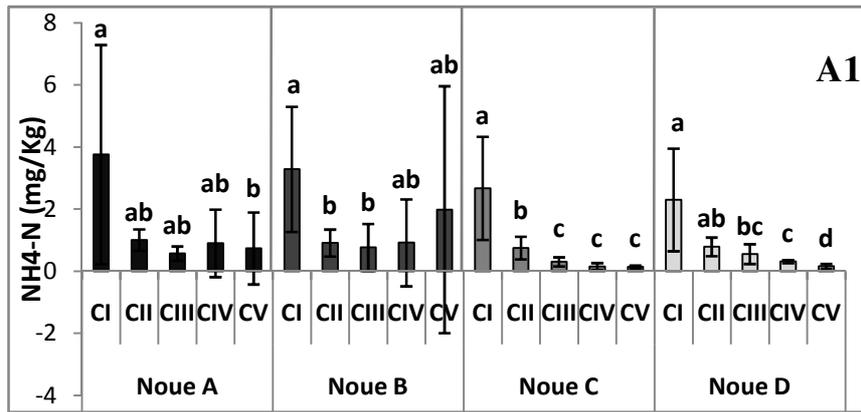
Le contenu en azote ammoniacal (**Figure 4-3 A1 et B1**) est plus élevé en surface (CI) pour toutes les noues, avec en moyenne 3 mg N-NH₄/kg PS. Dans les noues A et B on observe une baisse de l'ammonium entre la surface et 25 cm (CII), puis les quantités sont stables avec une légère augmentation à 75 et 100 cm (CIV et CV) dans la noue B. Dans les noues C et D, on note une baisse continue de 25 cm (CII) à 100 cm (CV) de profondeur. On ne note aucune différence significative entre les noues pour une même profondeur excepté à 75 cm où le contenu en N-NH₄ est plus élevé dans les noues A et B.

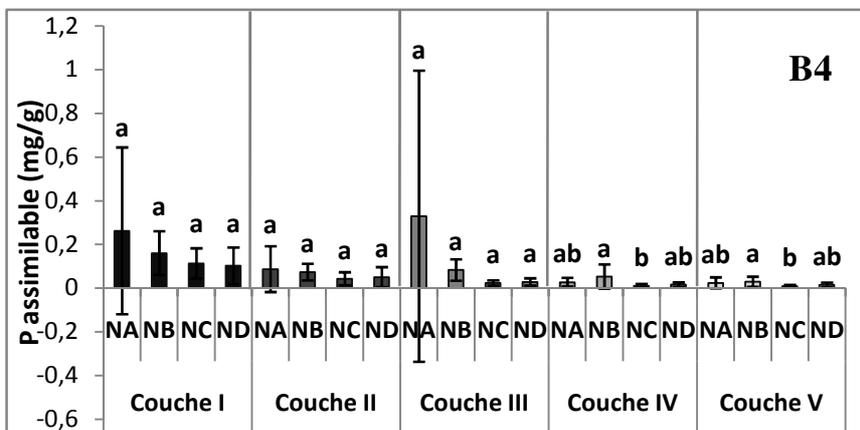
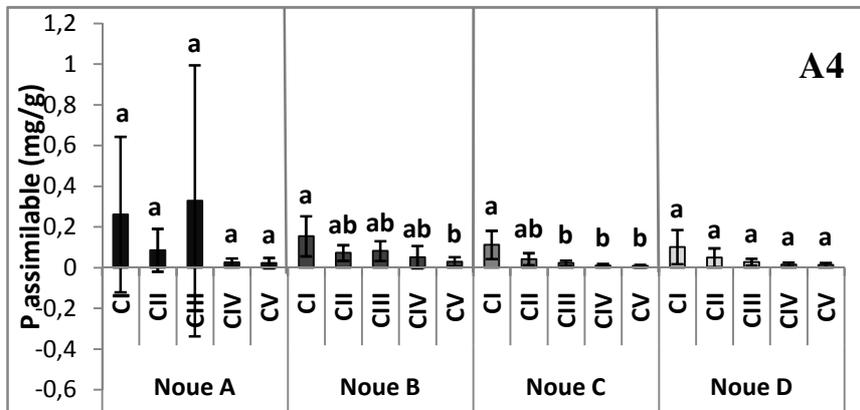
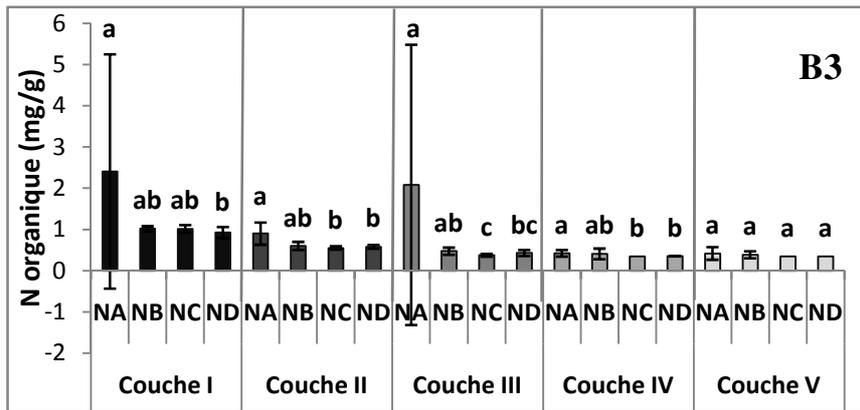
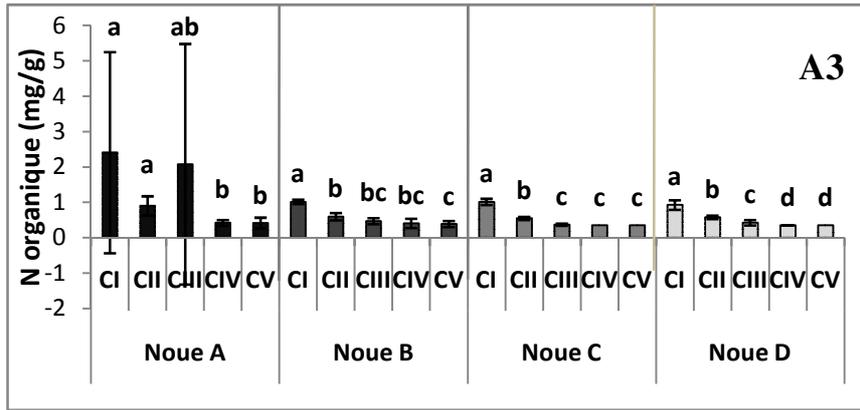
Il n'y a pas de variation du contenu en azote nitrique avec la profondeur dans les noues B, C et D. Par contre dans la noue A, on observe une baisse entre 25 cm (CII) et 50 cm (CIII). Le contenu en nitrate est similaire dans les noues aux profondeurs 5 (CI) et 25 cm (CII). A partir de 50 cm (CIII), le contenu en nitrate dans la noue A est bien plus faible que dans les autres noues, même si cette différence n'est pas toujours significative. On note aussi une tendance à un contenu plus élevé en nitrate dans la noue B à partir de 50 cm (CIII). (**Figure 4-3 A2 et B2**)

Le contenu en azote organique baisse dans toutes les noues avec la profondeur dès l'horizon 5 cm (CI). On observe que dans la noue A, ce contenu est supérieur à celui des autres noues à 5, 25, et 50 cm (CI, CII et CIII), même si cette tendance n'est pas toujours significative. (**Figure 4-3 A3 et B3**)

Le contenu en phosphore assimilable a tendance à baisser avec la profondeur notamment dans les noues B, C et D. On observe un contenu plus important dans la noue A à 5 cm (CI) et 25 cm (CII) mais cette tendance est non significative. (**Figure 4-3 A4 et B4**)

Pour le contenu en phosphore total, on ne note aucune différence entre les profondeurs dans les noues A et D. Dans la noue B, on observe un contenu assez comparable selon les profondeurs mais qui est significativement plus important en surface (CI) avec 0,89 mg/g PS et plus faible à 100 cm (CV) avec 0,61 mg/g PS. (**Figure 4-3 A5 et B5**).





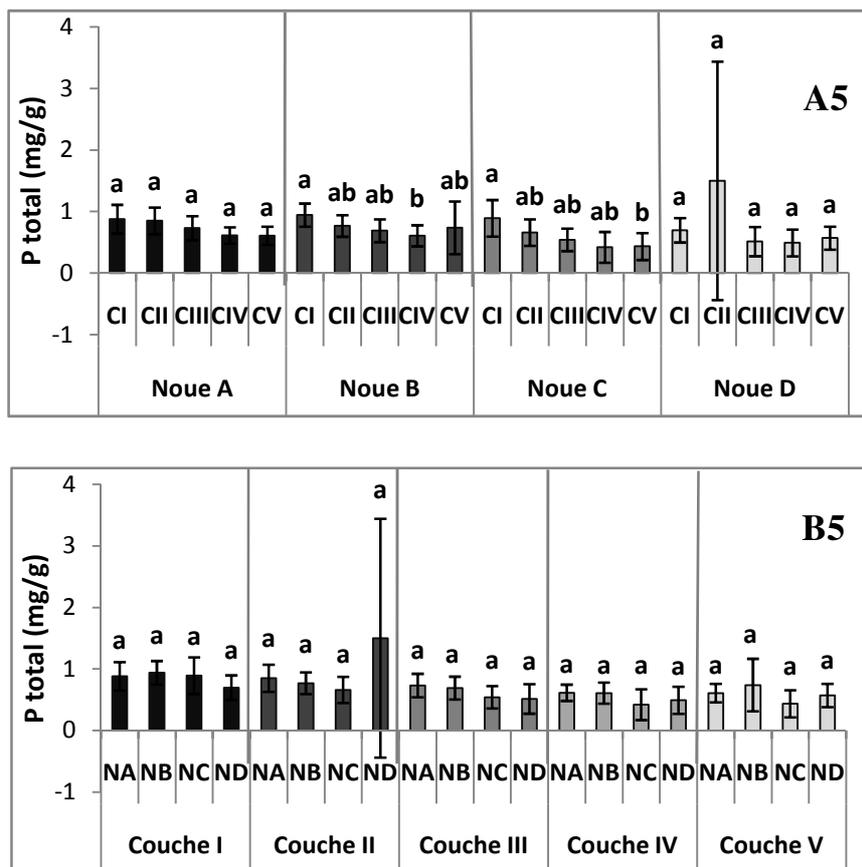


Figure 4-3: Contenu moyen en ammonium(mg/kg PS), nitrate (mg/kg PS) , azote organique (mg/g PS)(N organique), phosphore assimilable (mg/g PS) (P assimilable) et phosphore total (mg/g PS) (P total) dans le sol des 4 noes (NA= noe A, NB= noe B, NC= noe C et ND= noe D) du site de Colmar et à 5 profondeurs (CI= couche I : 0-5 cm, CII= couche II : 20-30 cm, CIII= couche III : 45-55 cm, CIV=couche IV : 70-80 cm et CV= couche 5 : 95-105 cm). La série notée A compare le contenu en nutriments du sol entre les différentes profondeurs d'une même noe. La série B compare le contenu en nutriments du sol entre les différentes noes pour une même profondeur. Le test statistique a été réalisé pour chaque couche. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N=5.

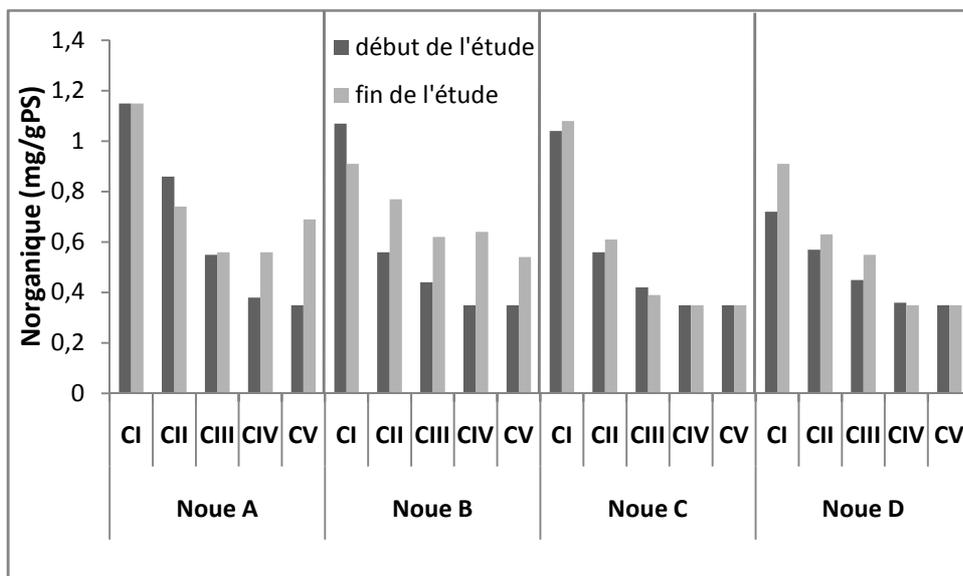
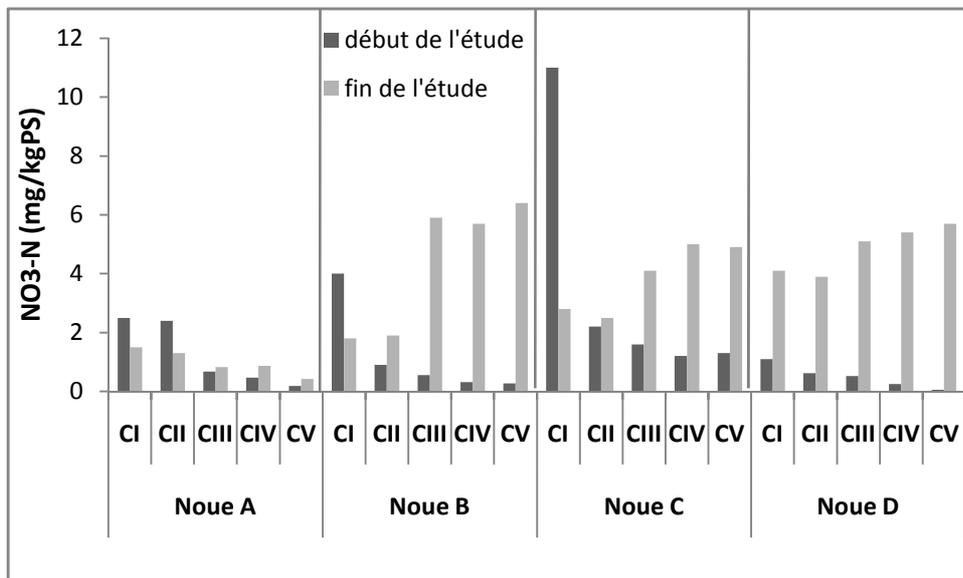
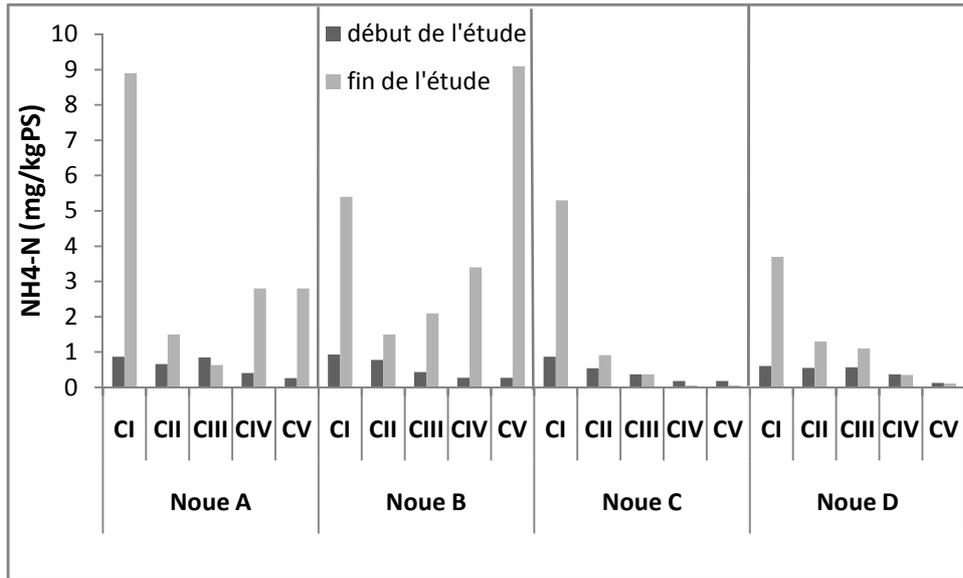
Dans la noe C, on observe une baisse significative du contenu en phosphore total entre la surface (CI) avec 0,89 mg/g PS et l'horizon 100 cm (CV) avec 0,43 mg/g PS. Il n'y a aucune différence significative entre les noes pour une même profondeur. (**Figure 4-3 A5 et B5**).

La **figure 4-4** compare le contenu en nutriments du sol des noes entre le début et la fin de l'étude et montre ainsi la capacité d'accumulation d'azote et de phosphore du sol. Le tableau 3 donne les quantités par profondeur ce qui permet de calculer des gains ou des pertes de nutriments sur un an de fertirrigation pour les noes traitées. On observe une forte accumulation de l'azote ammoniacal en surface (CI) dans toutes les noes, ainsi que dans les couches 75 cm (CIV) et 100 cm (CV) des noes A et B. Dans les noes C et D, on n'observe pas

d'accumulation de l'azote ammoniacal en profondeur. On ne note aucune accumulation de l'azote nitrique dans les couches de surface dans les 3 noues A, B et C, seule la noue D présente une capacité d'accumulation à toutes les profondeurs étudiées (**Figure 4-4**). En revanche il y a peu ou pas d'accumulation d'azote organique quelles que soient la noue et la profondeur à l'exception des couches profondes des noues A témoin et B recépée. Le **tableau 4-4** montre une accumulation importante d'azote minéral dans les profondeurs des noues B et D pouvant aller à plus de 2000 %. En surface, les noues A et D sont celles qui accumulent le plus d'azote minéral ce qui correspond à l'accumulation préférentielle d'azote ammoniacal (**figure 4.4**). Des trois noues fertirriguées, la noue C est celle où on observe le moins d'accumulation d'azote minéral et même une perte de 32 % en surface (CI).

Dans la noue A témoin, on ne note aucune accumulation de l'azote organique de 5 cm (CI) à 50 cm (CIII). Dans la noue B, on observe une légère accumulation de 34 à 76% à partir de 25 cm (CII). Dans la noue C, il n'y a aucune accumulation d'azote organique quelle que soit la profondeur et une accumulation très faible dans la noue D dans les couches CI de 25 cm (28%) et CIII de 50 cm (50%). (**Figure 4-4, Tableau 4-4**)

L'accumulation en azote total est la même que pour l'azote organique, la part d'azote minéral étant mille fois plus faible que celle de l'azote organique dans le sol (**Tableau 4-4**).



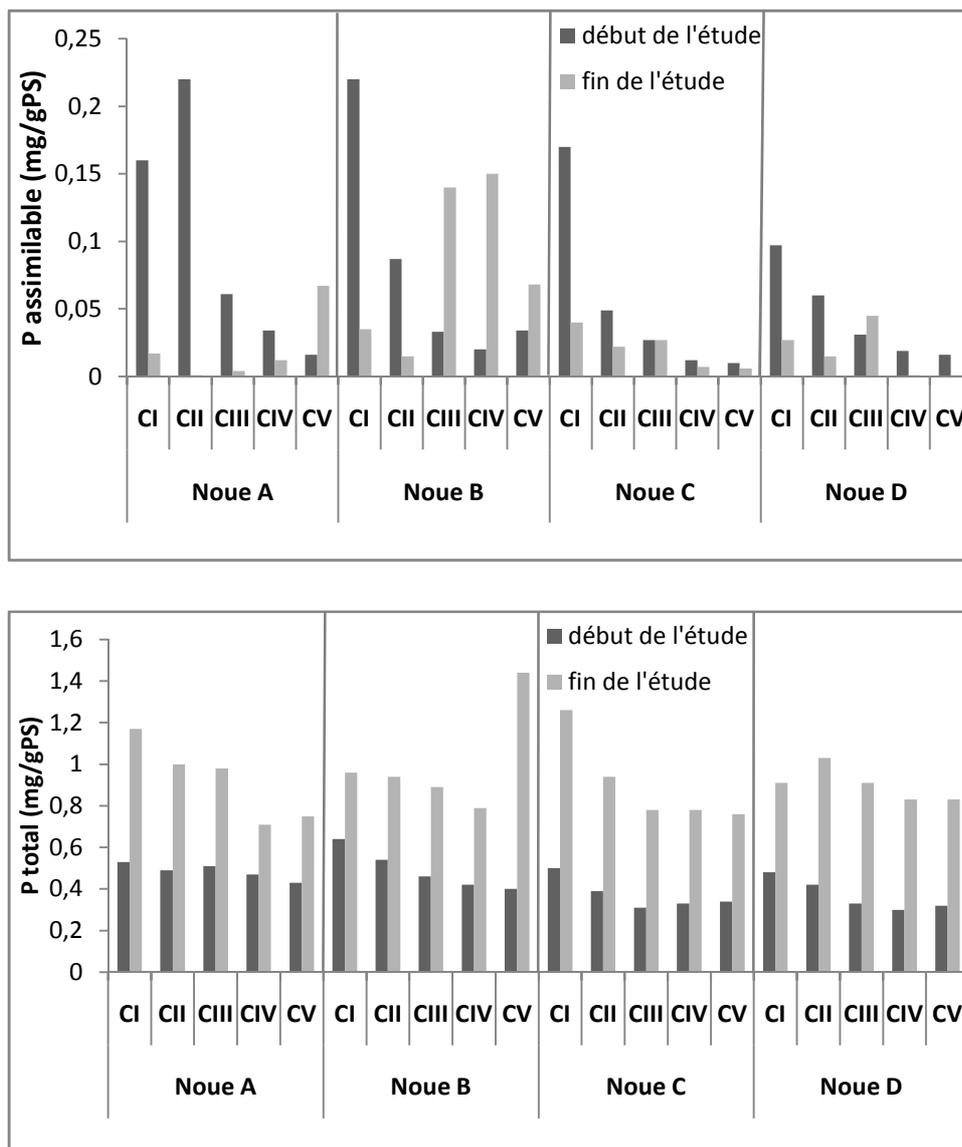


Figure 4-4: Variation du contenu en ammonium, nitrate, azote organique (N organique), phosphore assimilable (P assimilable) et phosphore total (P total) dans le sol des 4 noues du site expérimental de Colmar entre le début de l'étude (Août 2013) et la fin de l'étude (Avril 2015) à 5 profondeurs (CI= couche I : 0-5 cm, CII= couche II : 20-30 cm, CIII= couche III : 45-55 cm, CIV= couche IV : 70-80 cm et CV= couche V : 95-105 cm).

La **figure 4-4** et le **tableau 4-3** montrent une tendance à la perte de phosphore assimilable comparable dans les différentes noues et aux différentes profondeurs (de 42% à 94%), à noter une exception à savoir une accumulation forte en profondeur des noues A à 100 cm (305%), et B à 75 cm (maximum de 622 %).

On observe une accumulation du phosphore total dans toutes les noues et à toutes les profondeurs. Cependant à partir de 70 cm cette accumulation est plus faible dans la noue A témoin, et la plus élevée dans la noue B recépée à 100 cm.

Tableau 4-4: Contenu (g) en azote minéral, azote organique, azote total, phosphore assimilable et phosphore total des profondeurs 0-5 cm, 20-30 cm, 45-55 cm, 70-80 cm et 95-105 cm dans chaque noue de 25 m² en début d'étude (Août 2013) et fin d'étude (Avril 2015) (pour les calculs voir annexe 3). Les pourcentages en vert marquent un gain en nutriment entre le début et la fin de l'étude alors que les pourcentages en rouge marquent une perte en nutriments. En dessous de 15 % (chiffres en noir) le pourcentage est considéré comme non significatif.

		0-5 cm CI		20-30 cm CII		45-55 cm CIII		70-80 cm CIV		95-105 cm CV	
		Août 13	Avril 15	Août 13	Avril 15	Août 13	Avril 15	Août 13	Avril 15	Août 13	Avril 15
N minéral (g)	Noue A	0,483	1,462	0,92	0,814	0,447	0,417	0,255	1,019	0,128	0,907
	Noue B	0,693	1,05	0,496	0,979	0,289	2,241	0,173	2,572	0,157	4,249
	Noue C	1,699	1,154	0,797	0,982	0,581	1,275	0,409	1,421	0,431	1,411
	Noue D	0,243	1,117	0,345	1,489	0,321	1,773	0,184	1,642	0,053	1,645
gain/perte (%)	Noue A	202,7		-11,5		-6,7		299,6		608,6	
	Noue B	51,5		97,4		675,4		1386,7		2606,4	
	Noue C	-32,1		23,2		119,4		247,4		227,4	
	Noue D	359,7		331,6		452,3		792,4		3003,8	
N orga- nique (g)	Noue A	164,7	161,7	257,5	215,1	161,7	159,9	110,9	155,6	102,1	194,4
	Noue B	150,3	132,9	165,5	221,7	129,6	173,6	102,7	180,9	101,8	148
	Noue C	148,9	153,8	162,8	175,7	123,9	111,3	103,7	98,5	101,8	99,8
	Noue D	102,3	130,2	167,9	180,3	132,6	157,4	106,8	99,9	102,1	99,1
gain/perte (%)	Noue A	-1,8		-16,5		-1,1		40,3		90,4	
	Noue B	-11,6		34,0		34,0		76,1		45,4	
	Noue C	3,3		7,9		-10,2		-5,0		-2,0	
	Noue D	27,3		7,4		18,7		-6,5		-2,9	
N total (g)	Noue A	165,2	163,2	258,4	215,9	162,1	160,3	111,2	156,6	102,2	195,3
	Noue B	151	134	166	222,7	129,9	175,8	102,9	183,5	102	152,3
	Noue C	150,6	155	163,6	176,7	124,5	112,6	104,1	99,9	102,2	101,2
	Noue D	102,5	131,3	168,3	181,8	132,9	159,2	107	101,5	102,2	100,8
gain/perte (%)	Noue A	-1,2		-16,4		-1,1		40,9		91,0	
	Noue B	-11,3		34,1		35,4		78,3		49,3	
	Noue C	2,9		8,0		-9,6		-4,0		-1,0	
	Noue D	28,1		8,1		19,8		-5,1		-1,4	
P assimi- lable (g)	Noue A	22,9	2,4	65,9	0,3	17,9	1,1	9,9	3,3	4,7	18,9
	Noue B	30,9	5,1	25,7	4,3	9,7	39,2	5,9	42,4	9,9	18,6
	Noue C	24,3	5,7	14,2	6,3	8	7,7	3,6	2	2,9	1,7
	Noue D	13,8	3,9	17,7	4,3	9,1	12,9	5,6	0,3	4,7	0,3
gain/perte (%)	Noue A	-89,5		-99,6		-93,6		-66,5		304,7	
	Noue B	-83,5		-83,3		303,3		622,3		88,1	
	Noue C	-76,5		-55,6		-3,8		-44,4		-41,6	
	Noue D	-71,7		-75,7		41,8		-94,6		-93,6	
P total (g)	Noue A	75,92	164,5	146,7	290,7	149,9	279,8	136,2	197,2	125,4	211,3
	Noue B	89,93	140,3	159,6	270,7	135,5	249,3	123,3	223,3	116,4	394,8
	Noue C	71,6	179,4	113,4	270,7	91,5	222,5	97,8	219,6	98,9	216,6
	Noue D	68,18	130,2	123,7	294,9	97,3	260,3	89	237	93,3	235
gain/perte (%)	Noue A	116,7		98,1		86,6		44,8		68,5	
	Noue B	56,0		69,6		84,0		81,2		239,2	
	Noue C	150,6		138,7		143,3		124,5		119,0	
	Noue D	91,0		138,4		167,6		166,4		151,8	

Tableau 4-5: Estimation du contenu en azote nitrique (N-NO₃) et phosphore (P-PO₄) apportés lors de l'irrigation, retenus dans les 105 premiers cm du sol et lessivés dans les couches inférieures, dénitrifiés (cas du nitrate) ou captés par la flore, durant la période d'étude (Novembre 2013 à Juin 2015)

	Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
Apport en N-NO₃ (g)	63,6	3685,3	3608,6	3622,8
N-NO₃ retenu dans les 105 premiers cm du sol (g)	0 (-0,8)	10,4	3,41	13,2
N-NO₃ lessivé dans les couches inférieures du sol, transformé par la microflore ou prélevé par les plantes (g)	63,6	3674,9	3605,2	3609,6
Apport en P-PO₄ (g)	4,1	2596,6	2493,5	2684,8
Phosphore assimilable retenu dans les 105 premiers cm du sol (g)	0 (-248)	53	0 (-74,9)	0 (-74,3)
P-PO₄ lessivé dans les couches inférieures du sol, adsorbé ou prélevé par les plantes (g)	4,1	2543,6	2493,5	2684,8

Le **tableau 4-5** donne un bilan des masses en entrée et sortie des nutriments apportés par fertirrigation (nitrate et phosphate) durant la période d'étude de Novembre 2013 à Juin 2015. L'entrée correspond aux contenus introduits lors de l'irrigation, et la sortie aux horizons du sol au-delà de 105 centimètres, l'effet des plantes et/ou les transformations physiques et microbiologiques du nitrate et du phosphate.

La quantité de nitrate apportée dans les noues varie entre 3600 et 3685 g dans les noues fertirriguées et est de 63,6 g dans la noue A témoin irrigué avec l'eau du réseau. Le nitrate n'est pas retenu dans le premier mètre de sol de la noue A et très peu retenu dans le sol des autres noues fertirriguées avec un maximum de 13g dans la noue D. La majorité du nitrate apporté se retrouve donc en sortie du système.

La quantité de phosphate apportée dans les noues varie entre 2493 et 2684 g dans les noues fertirriguées et est de 4,1 g dans la noue A témoin. La quantité de phosphate accumulée dans le sol est nulle dans les noues où il y a une perte en phosphore assimilable excepté dans la noue B où 53 g de phosphore assimilable sont retenus dans le premier mètre de sol.

1.5 Contenu en nutriments des saules et biomasse végétale

Le contenu moyen en azote et phosphore dans les feuilles et rameaux de saules a été évalué dans chacune des noues pour toutes les campagnes de terrain (**Figure 4-5**). Rappelons que la noue D présente une densité de saules supérieure aux autres noues (14400 saules/ha contre 10400 pour les autres noues, à noter que la plantation des saules supplémentaires a été réalisée en 2013) et que la noue B a été recépée chaque automne (Novembre 2013, 2014). En Janvier 2015, toutes les noues ont été recépées, permettant une estimation de la biomasse aérienne produite en un an dans la noue B et en 6 ans dans les autres noues (depuis 2009 date d'implantation des saules) et des quantités d'azote et phosphore stockées dans chaque noue (**Tableau 4-6**).

Le contenu moyen en azote des feuilles des saules varie entre 17,5 et 21,2 mg/g PS et est toujours plus élevé que celui des rameaux (6,4 à 10,7 mg/g PS). Les rameaux des saules recépés de la noue B présente un contenu significativement plus élevé que ceux des autres noues. Les feuilles des saules des noues A et D sont celles qui accumulent le moins alors que le contenu des feuilles de la noue C est aussi important que celui de la noue B avec cependant une plus forte variation. Dans les rameaux, le contenu des saules des noues A, C et D est équivalent. Le contenu moyen en phosphore des feuilles de saules varie peu, entre 2,17 et 2,91 mg/g PS et celui des rameaux entre 1,26 et 1,91 mg/g PS. On distinguera les feuilles des rameaux : on observe que les feuilles des saules des noues A et D accumulent autant de phosphore que ceux de la noue B mais avec une variation plus importante mais que les rameaux de saules de la noue B accumulent plus de P que ceux des noues A et D. Les feuilles des saules de la noue C sont celles qui accumulent le moins. Le contenu en phosphore des rameaux des noues A et C est équivalent. (**Figure 4-5**)

La biomasse produite par les saules dans la noue B est équivalente entre les deux années d'étude mais on observe un stockage des nutriments un peu plus élevé en 2014. En Janvier 2015, les noues A, C et D ont été recépées pour la première fois depuis la construction du site en 2009, avec une plantation par boutures identiques en taille, cependant on a très vite observé que les saules de début de noue avaient une croissance bien plus importante que ceux de fin de noue. (**Tableau 4-6**)

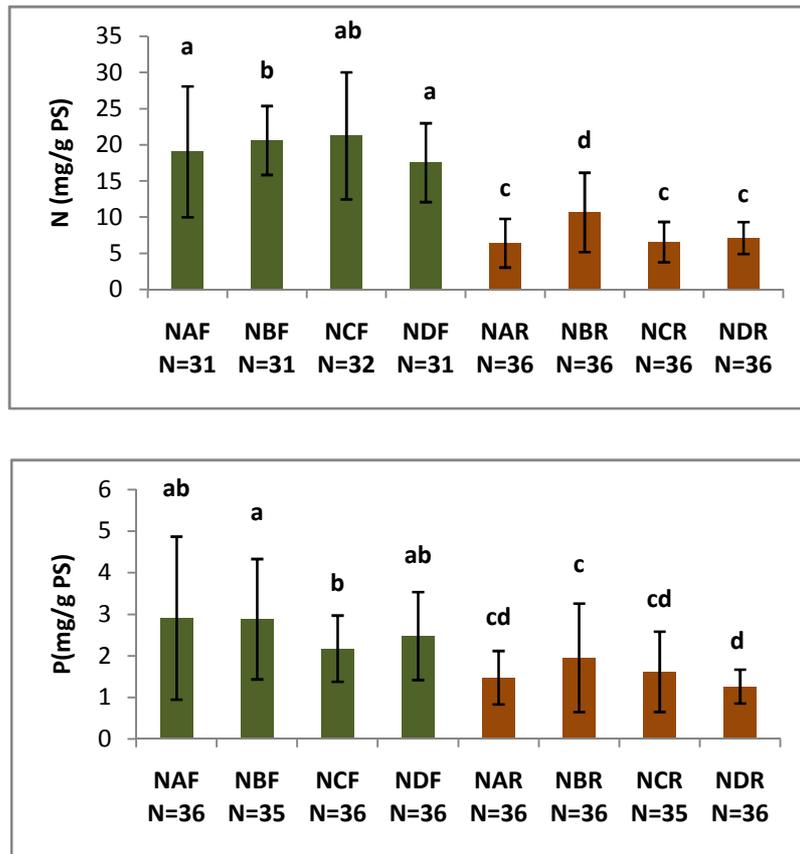


Figure 4-5: Contenu moyen en azote (N) et phosphore (P) dans les feuilles (F) et rameaux (R) des saules des noues A (NA), B (NB), C (NC) et D (ND) de la zone expérimentale de Colmar. Cette moyenne a été calculée à partir des données de toutes les campagnes de terrain confondues. Des lettres différentes marquent une différence significative ($p_{\text{valeur}} < 0,05$, wilcoxon test). N= taille de l'échantillon.

Tableau 4-6: Biomasse des saules récoltée dans la noue B de Colmar en Novembre (années 2014 et 2015) et dans chacune des quatre noues en Novembre 2015 et estimation du contenu en azote et phosphore. Dans les noues A, C et D la biomasse et le contenu en nutriments représentent le stockage depuis la plantation des saules en 2009.

Contenu en nutriment (g) = Biomasse (kg) * Contenu moyen en nutriment des rameaux lors de la période de récolte (g/kg)

	2014			
	Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
Poids (Kg PS)	NA	38,96	NA	NA
N (g)	NA	329	NA	NA
P (g)	NA	45,2	NA	NA
	2015			
	Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
Poids (Kg PS)	169,9	32,2	117,6	137
N (g)	1392,3	273,7	988,3	1247
P (g)	210,6	37,3	137,9	181,9

La biomasse aérienne de saule de la noue A est la plus élevée des 3 noues non recépées. La noue C a la plus faible biomasse et la noue D une biomasse intermédiaire malgré une augmentation de la densité. La quantité d'azote et de phosphore stockée dans les saules des trois noues suit les mêmes variations entre les noues que la biomasse. On observe que la noue B recépée, a accumulé la même quantité d'azote et de phosphore en 4 ans que ce que les autres noues ont accumulé en 6 ans.

1.6 Rétention des nutriments dans les compartiments sol et plantes

Le **tableau 4-7** donne un bilan estimatif du contenu en nutriments (N minéral et phosphore assimilable) apporté par l'irrigation retenus par chacun des compartiments (sol-plante). Dans le compartiment sol, le contenu a été déterminé en calculant la quantité accumulée entre le début et la fin de l'étude, l'estimation concerne le volume de la noue soit 25cm x 100cm x 105 cm (largeur x Longueur x profondeur) (Cf. feuille de calcul en annexe 4).

Les apports en nutriments dans la noue A Témoin sont bien plus faibles que dans les autres noues et proviennent des nutriments présents dans l'eau du réseau. Dans le sol, 13,6 % de l'azote minéral apporté est retenu alors que le phosphore assimilable n'est pas accumulé. Le contenu en azote et phosphore total accumulé dans le sol ainsi que dans les plantes est élevé, les plantes retiennent plus de 100% des nutriments apportés.

Le sol de la noue B, recépée et fertirriguée, accumule faiblement mais mieux le phosphore assimilable et l'azote total que les noues C et D où l'accumulation est nulle, et a une part d'azote minéral et phosphore total accumulé comparable à celle des autres noues, à savoir entre 0,5 et 0,1% pour l'azote minéral et 50 et 60% pour le phosphore total. Les plantes des 3 noues accumulent très peu le phosphore, et ce sont celles de la noue B qui retiennent le plus d'azote avec 16,4%.

Tableau 4-7: Estimation du contenu en azote (Nminéral) et phosphore (P-PO4) apporté par irrigation durant la période d'étude (Novembre 2013 à Juin 2015), retenu par le sol sur 105 cm et par les rameaux de saules et quantité d'azote et phosphore total retenue par les 105 premiers cm du sol. (Feuille de calcul en annexe 4)

	Noe A		Noe B		Noe C		Noe D	
	N	P	N	P	N	P	N	P
Quantité d' azote minéral et phosphate apportée lors de l'irrigation (g)	63,8	4,2	3685	2597	3609	2493	3623	2685
Quantité d' azote minéral et phosphore assimilable retenue par le sol (0-105 cm) (g)	8,7	0	20,1	53	5,1	0	15,2	0
Part retenue par le sol (%)	13,6	0	0,5	2	0,1	0	0,4	0
Quantité retenue par les parties aériennes (rameaux) de saules (g)	464	70	602,7	82,5	329,4	46	416	60,6
Part retenue par les rameaux de saules (%)	727	1667	16,4	3,2	9,1	1,9	11,5	2,3
Quantité d' azote et phosphore total retenue par le sol (0-105 cm) (g)	164,5	1208,5	497,4	1431	63,6	1535	153	1604
Part retenue par le sol (%)	257,84	28773	13,5	55,4	1,7	61,6	4,22	59,7

2 Discussion

2.1 Transfert des nutriments dans le sol

Comme attendu le contenu en nitrate, apporté par fertirrigation, dans la solution du sol et dans le sol est plus élevé dans les noues fertirriguées que dans la noue témoin A. Cependant on a pu constater que hors fertirrigation, le contenu en nitrate est beaucoup moins important, mais toujours plus élevé dans les noues fertirriguées que dans la noue témoin, démontrant qu'une partie du nitrate apporté est stockée dans le sol de surface (probablement dans la microflore, puisque cette forme ne peut être retenue sur les particules du sol). Cette accumulation du nitrate dans le sol est probablement due à la texture du sol limono-argileuse (Gaines and Gaines, 1994), et/ou la présence des saules. Ces derniers prélèvent et donc réduisent la quantité d'eau du sol susceptible de lessiver le nitrate (Aronsson, 2001) pouvant expliquer une plus forte accumulation dans la noue B recépée et la noue D à plus forte densité de saule. De plus la nitrification mais aussi la dénitrification se déroulent majoritairement en surface des sols, pouvant expliquer l'accumulation moindre de nitrate mais aussi d'ammonium (Brodrick et al., 1988; Willems et al., 1997). Cependant, au regard des quantités en nitrate apportées lors de la fertirrigation et la quantité retenue dans le premier mètre de sol, la majeure partie du nitrate est lessivée dans les parties inférieures. Le lessivage du nitrate est d'autant plus probable que celui-ci n'est pas la forme préférentielle d'azote dans la nutrition des saules (Marchner, 1986). Les résultats montrent que la forme nitrate est toujours dominante par rapport à la forme ammonium dans la solution du sol même dans la noue A témoin où il n'y a pas eu fertirrigation, et ce, en surface comme en profondeur. Dans le sol l'ammonium représente toujours une part extrêmement faible de l'azote minéral total excepté dans la couche de surface. De plus, Il est un peu plus abondant en période hors irrigation, ce qui indiquerait une production quoique faible, par ammonification du moins dans les horizons de surface. Ce processus d'ammonification est en plus favorisé par un pH alcalin (Triska et al., 1994). En effet, dans le sol, on remarque une accumulation en surface et beaucoup moins en profondeur, l'ammonium produit pourrait être retenu sur les particules limono-argileuse (Nieder et al., 2010).

En revanche il a été observé un taux d'azote organique du sol nettement plus élevé en surface qu'en profondeur quelle que soit la noue que l'on pourrait attribuer à l'accumulation en surface de matière organique apportée par la végétation.

Le phosphate, apporté par fertirrigation, serait retenu dans le sol, par adsorption et/ou précipitation et tendrait à s'accumuler. Or dans la solution du sol de la noue A témoin, les quantités sont négligeables, alors que dans les noues fertirriguées on mesure un contenu important en surface et qui devient négligeable en profondeur. On ne constate que peu d'accumulation de phosphore assimilable dans le sol, on peut émettre l'hypothèse qu'une partie de celui-ci serait donc absorbé par les végétaux. En revanche dans le sol, on constate que le phosphore total est accumulé à toutes les profondeurs, même dans la noue témoin, résultat que l'on pourrait attribuer à la précipitation de phosphate insoluble. La rétention du phosphore dépend notamment de la présence d'oxydes de fer, d'aluminium et de calcaire (Reddy et al., 1999), or à Colmar on note un taux de calcaire élevé (26% CaCO₃ en moyenne) assurant la précipitation du phosphore sous forme de phosphate tricalcique insoluble ; de plus Jalali and Jalali, (2016) ont démontré que la rétention du phosphore dans les sols calcaires était encore favorisée dans des sols à texture limoneuse et argilo-limoneuse ce qui est le cas à Colmar. L'adsorption du phosphate sur les particules du sol, menant à l'augmentation du contenu en phosphore total, ainsi que leur prélèvement pour la nutrition des végétaux, n'expliquent pas le devenir des quantités en phosphate apportées lors de la fertirrigation. Il y a donc un risque de lessivage d'une partie de ce phosphate vers les couches inférieures à 1 mètre du sol et donc un risque de pollution de la nappe lorsque cette dernière est proche de la surface, ce qui n'est pas le cas à Colmar. Cependant des variations de ces tendances générales sont observées dans les 3 noues fertirriguées, Les modalités de gestion, recépage, densité de saules différentes selon les noues, peuvent-elles expliquer ces variations ? Ainsi la concentration la plus faible en nitrate dans la solution du sol est observée à 25 cm dans les noues C et D mais à 50 cm dans la noue B recépée. On note également des variations du transfert du phosphate: ainsi des concentrations plus élevées à 25 cm dans la noue B et à 50 cm dans la noue D, et des concentrations encore élevées jusqu'à 75 cm dans la noue C, (n'ayant subi aucun traitement particulier) alors que les concentrations sont très faibles hors fertirrigation. Deux hypothèses peuvent expliquer ces résultats: i) le recépage aurait un impact sur la profondeur de l'enracinement, le volume des racines augmenterait pour palier à la diminution de celui des racines latérales. Une étude menée par Reed et al., (1998) sur *Arabidopsis thaliana* a en effet démontré qu'une excision des parties aériennes bloquait le mouvement d'auxine et le développement des racines latérales. ii) Le recépage des saules permet une meilleure production de la végétation herbacée notamment par disponibilité des rayons lumineux par rapport aux autres noues, augmentant la production de matière organique et le taux d'ammonification en surface. L'accumulation, plus importante d'azote organique dans le sol des noues A et D, peut

être expliquée par la biomasse plus importante des saules dans ces noues et donc par un taux de dégradation de la matière organique plus important. Ce lessivage plus important peut expliquer aussi des teneurs plus élevées en phosphate encore à 75 cm de profondeur dans la solution du sol. Au contraire, le recépage (noue B) et l'augmentation de la densité des saules (noue D) sembleraient baisser la teneur en eau du sol et augmenter le phénomène de succion et donc un moindre risque de lessivage en profondeur.

2.2 Rétention des nutriments par les saules

Le contenu en nutriments des feuilles de saules est équivalent dans les 4 noues avec cependant des variations (écarts type) élevées. Ce contenu est plus élevé que celui mesuré dans des saules en milieu non anthropisé (Chauvet, 1987; Irons et al., 1988) notamment pour le phosphore même dans la noue A témoin. Ceci démontre que les quantités présentes dans l'eau du réseau (en moyenne 250 µg/L de P-PO₄, 20 µg/L de N-NH₄ et 5 mg/L de N-NO₃) permettent une augmentation du contenu en nutriments dans les feuilles et suffisent aux besoins des saules, puisque qu'on ne note pas de différence avec les noues fertirriguées. Cependant, d'autres études comme celle de Labrecque and Teodorescu, (2001) ont démontré que le contenu en azote des feuilles pouvaient atteindre les 3% en conditions de fertirrigation, ce qui pourrait être expliqué par la faible concentration en ammonium dans la solution du sol alors que l'ammonium est la forme préférentielle d'assimilation de l'azote par les plantes dans les conditions optimales. Dans les rameaux, on note un contenu en nutriments plus élevé dans les saules de la noue B démontrant un probable effet du recépage des saules. En effet le recépage des saules permet une production plus importante de biomasse par année et donc une rétention plus importante des nutriments, tout en évitant un relargage de ces nutriments dans le sol par décomposition de la matière organique, puisque les rameaux prélevés lors du recépage sont exportés.

Comme déjà vu, les apports par l'eau du réseau et par la dégradation de la matière organique sont suffisants pour la nutrition des saules, hypothèse renforcée par la biomasse importante des saules dans la noue A, supérieure à celle de la noue C fertirriguée avec la même densité de saules. Outre des apports suffisants, la composition des saules change d'une noue à l'autre, ainsi dans la noue A il y a une majorité de *Salix viminalis*. Justin et al. (2010) ont observé que la biomasse moyenne des parties aériennes de *S. viminalis* (entre 32,8 et 174,2 g) était double à celle de *S. purpurea* (entre 14,3 et 96 g), cette observation sera à valider dans le chapitre 5.

2.3 Rôle des compartiments (sol-végétation) dans la rétention des nutriments

On observe une faible rétention de l'azote dans le sol de la zone tampon végétalisée ce qui s'explique par une fertilisation composée en majorité de nitrate non retenu par les particules du sol. Dans les noues fertirriguées, la part d'azote retenue par les plantes est supérieure à celle retenue par le sol, ce qui fait de la végétation le compartiment majeur de rétention des nutriments, même si ce pourcentage est faible comparé à ceux observés par exemple par Börjesson and Berndes, 2006 et Elowson, 1999 variant de 75 à 95 % pour des apports annuels en azote de 200KgN/Ha. Or dans les noues fertirriguées la charge était supérieure à 1000 kg/ha/an pouvant expliquer les pourcentages de rétention plus faible. A l'inverse, le phosphore est mieux retenu par le sol que par les végétaux. On note cependant un pourcentage de rétention du phosphore très élevée dans le sol de la noue A alors que dans les noues fertirriguées il semble y avoir une saturation du sol en phosphore ne permettant pas de retenir tout le phosphore apporté. Les 3 noues fertirriguées retiennent à peu près la même quantité de phosphore à savoir 634 Kg/ha sur toute la période de l'étude, ce qui pourrait représenter la quantité de phosphore maximum pouvant être retenue par le type de sol d'une ZTV comme Colmar avec un apport en moyenne de 1036 Kg/ha.

3 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons analysé les transferts de nutriments -azote et phosphore - et la mise en évidence des processus de transformation dans un site expérimental aux conditions contrôlées: en fonction de modalités de traitement des noues, fertirrigation, recépage des saules et augmentation de la densité de saules. On note une bonne rétention du phosphore total dans toutes les couches du sol étudiées, alors que le phosphate échangeable n'est présent que dans les couches de surface et tend à disparaître en profondeur. La texture limono-argileuse du sol et un taux de carbonates élevé, permettant la formation de phosphate tricalcique précipité pourrait expliquer ces résultats. Le nitrate qui n'est pas retenu par le sol est lessivé plus en profondeur, notamment dans la noue C qui reçoit le plus d'eau bien qu'une part soit retenue de par la faible fréquence des irrigations, la faible perméabilité du sol, la pluviométrie faible de Colmar et la présence de saules aux besoins en eau importants et ayant des taux d'évapotranspiration importants. Le recépage des saules semble induire une baisse du contenu en phosphore assimilable dans les couches plus profondes de la noue traitée, laissant supposer une extension verticale des racines qui pourrait pallier à une baisse du développe-

ment des racines latérales induite par le recépage des parties aériennes. De plus le recépage des saules induit une concentration en nutriments dans les rameaux de saules plus important et une production annuelle de biomasse plus élevée comparée à des saules non recépés. Les apports en azote et phosphore par l'eau du réseau sont suffisants pour la nutrition des saules puisque dans la noue témoin, le contenu en azote et phosphore des feuilles et rameaux est comparable à celui des autres saules non recépés et la biomasse similaire à celle des autres noues bien que cette dernière observation puisse être due à une densité plus élevée de *Salix viminalis* à la biomasse importante. L'azote apporté est mieux retenu par les plantes que par le sol alors que la tendance est contraire pour le phosphore pour lequel il semble qu'il y ait une saturation du sol dans les noues fertirriguées posant la question d'une capacité des ZTVs à retenir le phosphore à long terme.

Chapitre 5

Activité microbienne des zones tampon végétalisées

Ce chapitre présente une étude préliminaire de l'activité microbienne (biomasse bactérienne, nitrification et dénitrification) des substrats (sol et sédiment) des deux zones tampon végétalisées et du site expérimental de Colmar. Les questions posées :

- o Existe-t-il une différence d'activité microbienne entre les zones tampon végétalisées de Raon et Liebsdorf aux fonctionnements et caractéristiques différents? Peut-on mettre en évidence des facteurs de contrôle ?
- o La fertirrigation, le recépage et la densité des saules ont-ils un impact sur l'activité microbienne ?

Plusieurs hypothèses peuvent être apportées en réponse à ces questions :

- o La texture argileuse du sol de Liebsdorf aux propriétés réductrices serait plus favorable au processus de dénitrification alors que le sol sableux, mieux oxygéné, de la ZTV de Raon serait plus favorable à la nitrification. Cependant, l'étude de l'eau et du sol évoquée dans le chapitre 3, a montré qu'à Liebsdorf il existe un phénomène couplé de nitrification et dénitrification alors qu'à Raon il n'y aurait que peu de nitrification et que l'activité dénitrifiante serait dominante. Cette étude quoique préliminaire devrait confirmer ou infirmer les hypothèses posées au chapitre 3.
- o L'apport d'azote devrait augmenter l'activité microbienne, qui serait favorisée par l'alternance de période sèche et de période d'inondation assurant ainsi une variation des conditions oxydo-réductrices.
- o Une densité plus élevée de saules devrait augmenter le volume de la rhizosphère et donc favoriser l'activité nitrifiante au niveau de la rhizosphère, la dénitrification potentielle restant le processus dominant dans le reste de la zone saturée.

Pour vérifier ces hypothèses, nous avons mesuré la biomasse bactérienne dans le substrat de chacune des ZTVs, l'activité nitrifiante potentielle couplée à la biomasse bactérienne pos-

sédant le gène *amoA* et enfin l'activité dénitrifiante potentielle couplée à la biomasse bactérienne possédant le gène *nirK*.

1 Rappel des caractéristiques des zones tampon végétalisées

Avant d'analyser et discuter les résultats, nous rappelons les principaux paramètres hydrauliques et physicochimiques des zones tampon végétalisées de Raon, Liebsdorf et Colmar, le jour de l'échantillonnage pour l'étude de l'activité microbienne excepté pour l'apport en NH_4 et NO_3 lors des fertirrigations à Colmar qui sont des valeurs moyennes. Ces données sont reportées dans le **tableau 5-1**.

Tableau 5-1: Paramètres d'irrigation, chimie du sol et de l'eau des noues des Zones Tampon Végétalisées de Raon, Liebsdorf et Colmar le jour de l'échantillonnage de la biomasse microbienne.

	Raon				Liebsdorf				Colmar			
	Noue 1		Noue 2		Noue 1		Noue 2		Noue A	Noue B	Noue C	Noue D
	Entrée	Milieu	Entrée	Milieu	Entrée	Milieu	Entrée	Milieu				
Texture du sol	Sableux				Argileux				Limoneux			
Fréquence d'irrigation	Continue mais faible		Continue		Continue (2/3)		Continue (1/3)		Fertirrigation 1 fois / mois excepté dans la noue A témoin où simple irrigation			
Estimation lame d'eau (cm)	5	0 à 2	20	>40	15	>40	>6	2 à 4	/	/	/	/
pH moyen du sol	6,99				7,92				8,4			
N total organique (0-5cm) (mg/g)	2,07	8,12	10,5	8,01	6,34	6,37	8,15	10,7	1,15	0,91	1,08	0,91
N total organique (25cm) (mg/g)	1,15	2,16	1,98	1,49	2,03	1,27	1,44	1,28	0,74	0,77	0,61	0,63
pH eau	6,45	10	6,42	9,3	6,2	8,7	6,2	8,6	/	/	/	/
O ₂ dissous (mg/L)	1,5	7,5	2,2	2,43	8,4	13	8,8	12,5	/	/	/	/
NH ₄ eau (mg/L)	24,26	23,7	24,26	22,82	0,4	0,17	0,42	0,04	0	0	0	0
NO ₃ eau (mg/L)	1,53	1,5	0,66	1,1	13,9	13,9	12,3	9,54	0,3	20,5	20	20,1

Les ZTVs de Raon et Liebsdorf ont des caractéristiques très différentes. La ZTV de Liebsdorf est constituée de deux noues parallèles plantées de macrophytes sur un substrat argileux et bordées de saules. L'irrigation est continue, avec une lame d'eau superficielle constante sur toute la surface des noues. L'effluent d'entrée est fortement chargé en nitrate (> 9 mg/L) et faiblement en ammonium (< 0,5 mg/L), avec un taux d'oxygène dissous élevé (>8 mg/L). La ZTV de Raon est constitué de deux noues parallèles au substrat sableux bordées de saules et d'une noue terminale très rarement en eau. L'irrigation est continue, avec une faible

irrigation de la noue 1, et donc une mise en eau temporaire en milieu et fin de la noue, et une lame d'eau superficielle constante sur toute la surface de la noue 2. L'effluent d'entrée est faiblement concentré en nitrate (> 20 mg/L) et très concentré en ammonium ($< 1,6$ mg/L). Le taux d'oxygène dissous de l'effluent est faible de l'ordre de de 2mg/l.

La ZTV de Colmar est une zone expérimentale composée de 4 noues parallèles plantées de saules. Les noues sont irriguées 1 fois par mois, avec un ajout constant de nitrate et phosphate dans l'eau d'irrigation des noues B, C et D. Dans la noue B, les saules sont recépés tous les ans et dans la noue D, la densité de saules est plus importante que dans les autres noues.

2 Résultats

2.1 Biomasse bactérienne

Le nombre de copies du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S (petite sous-unité des ribosomes chez les procaryotes) a été déterminé dans le substrat des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar, à deux profondeurs, surface (0-5 cm) et profondeur (15-25 cm) (**Figure 5-1**). En effet, l'ARNr 16S est caractéristique des organismes procaryotiques. Il est à noter qu'un individu procaryotique possède plusieurs copies du gène *ARNr 16S* et que le gène peut être présent sans être exprimé, ceci dépendant fortement des conditions environnementales. Cette étude donne donc une estimation de la biomasse bactérienne (vivante et morte) mais ne donne que peu d'indication sur l'activité bactérienne réelle. Pour simplification de l'expression, on utilisera l'expression « biomasse bactérienne » à la place de « nombre de copies du gène *ARNr 16S* ».

A Liebsdorf, en entrée des deux noues, la biomasse bactérienne est comparable entre les deux profondeurs étudiées alors qu'au milieu des noues, elle est plus élevée en surface qu'en profondeur notamment dans la noue 1. Dans cette dernière la biomasse est plus élevée que dans la noue 2.

A Raon, en entrée et milieu de la noue 1 et en entrée de la noue 2, le nombre de copies du gène *ARNr 16S* est plus important en surface qu'en profondeur alors qu'on observe l'inverse en milieu de la noue 2. Le nombre de copies du gène est plus élevé en entrée de noue qu'au milieu excepté dans la couche profonde de la noue 2.

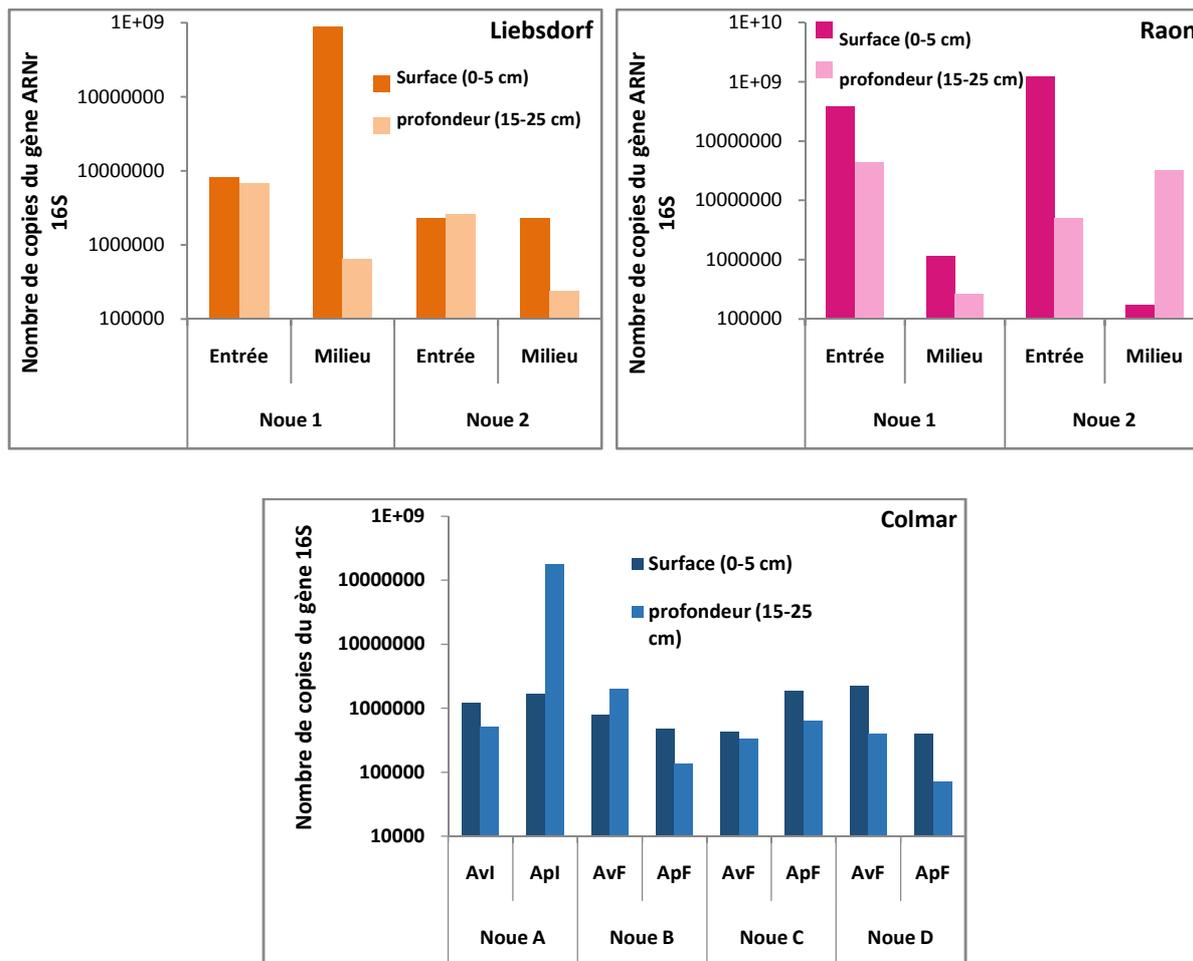


Figure 5-0-1: Biomasse bactérienne totale (Nombre de copies du gène *ARNr 16S*) en entrée et milieu de noe et à deux profondeurs (0-5 cm et 15-25 cm) du sol des ZTVs de Liebsdorf , Raon et Colmar . AvI= avant irrigation, ApI= après irrigation, AvF= avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Taille de l'échantillon=2.

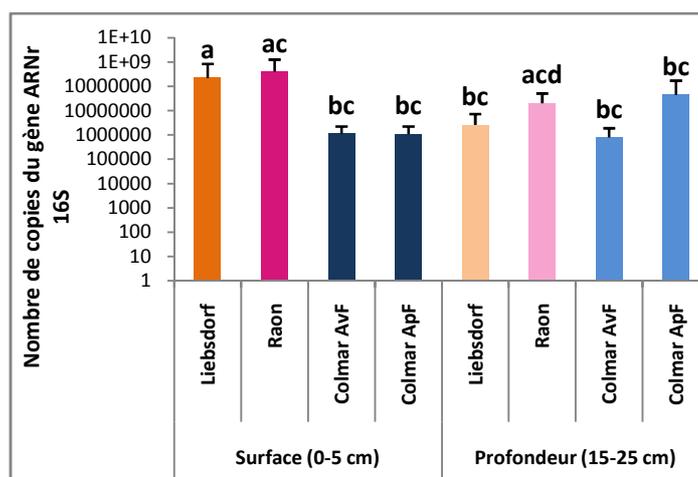


Figure 5-0-2: Biomasse bactérienne du sédiment des ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p-value<0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4

A Colmar, la biomasse bactérienne est plus élevée en surface qu'en profondeur excepté dans la noue A après fertirrigation et dans la noue B avant fertirrigation. Dans les noues A et C, le nombre de copies du gène est plus élevé avant fertirrigation qu'après fertirrigation alors qu'on observe la tendance inverse dans les noues B et D.

La **figure 5-2** compare la biomasse bactérienne dans les ZTVs étudiées. On observe une biomasse comparable dans les différentes ZTVs avec une valeur un peu plus élevée en surface des ZTVs de Raon et Liebsdorf et en profondeur de la ZTV de Raon.

2.2 Activité nitrifiante

2.2.1 Biomasse nitrifiante

Lors du processus de nitrification, l'ammonium (NH_4) est transformé en hydroxylamine (NH_2OH) puis en nitrite (NO_2) grâce à l'activité d'un complexe enzymatique : l'ammonium monooxygénase. Ce complexe est composé de trois sous-unités A, B et C codées par les gènes *amoA*, *amoB* et *amoC*. La détermination du nombre de copies du gène *amoA* donne donc une estimation de la biomasse bactérienne nitrifiante.

Le nombre de copies du gène *amoA* est plus élevé en surface qu'en profondeur dans le sol des trois ZTVs. La biomasse nitrifiante est comparable dans les deux noues à Liebsdorf comme à Raon (excepté dans la noue 1 de Raon, en profondeur). A Colmar, en surface des noues A et B, le nombre de copies du gène est supérieur après fertirrigation alors que la tendance est inversée dans les noues C et D où la biomasse est plus élevée avant fertirrigation. On retrouve cette dernière tendance en profondeur dans toutes les noues. (**Figure 5-3**)

On observe des différences de nombre de copies du gène *amoA* entre les ZTVs. C'est à Liebsdorf qu'on observe la biomasse la plus élevée et à Raon la plus faible. A Colmar, les biomasses nitrifiantes sont intermédiaires. (**Figure 5-4**)

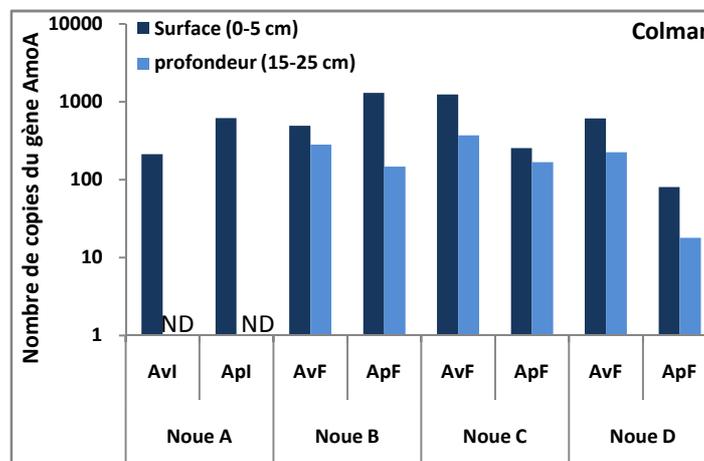
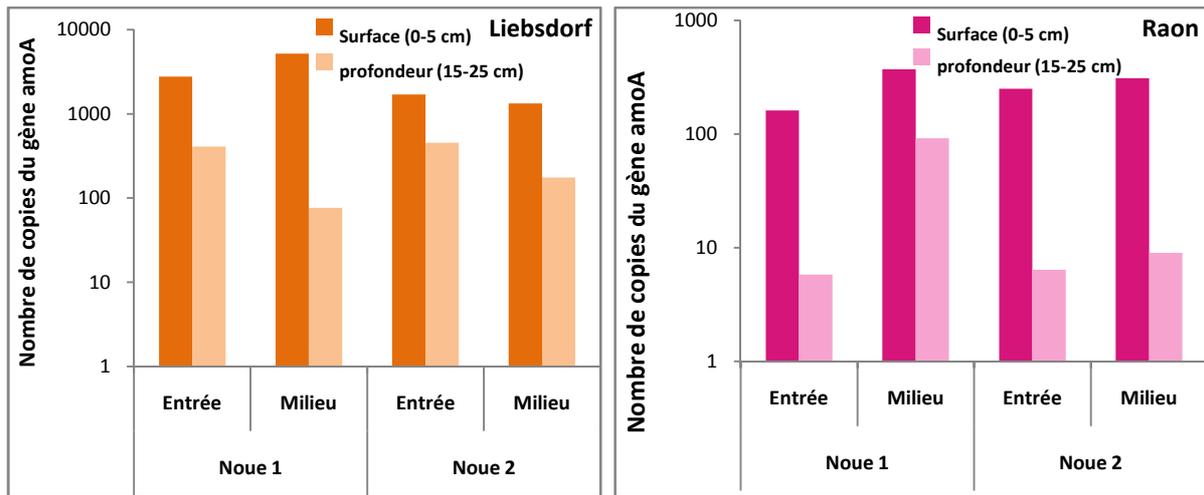


Figure 5-0-3: Biomasse nitrifiante (Nombre de copies du gène *amoA*) en entrée et milieu de noue et à deux profondeurs (0-5 cm et 15-25 cm) du sol des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. AvI= avant irrigation, ApI= après irrigation, AvF= avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation, ND= Non déterminé. Taille de l'échantillon=2.

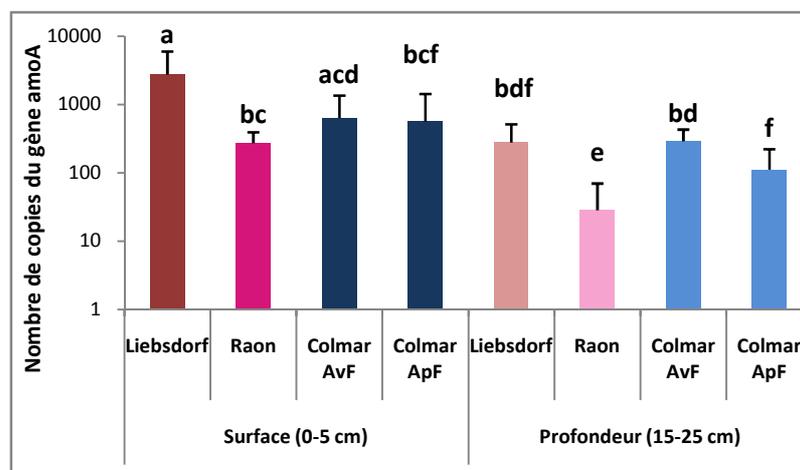


Figure 5-0-4: Variation de la biomasse nitrifiante dans les différentes ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4

2.2.2 Nitrification potentielle

Une expérience de nitrification potentielle a été menée en conditions optimales en laboratoire sur des échantillons de sol prélevés en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25 cm) des noues des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. Cette expérimentation a permis d'obtenir la quantité potentielle de NO_3 produit et de NH_4 consommé en 21 jours.

A Liebsdorf, la quantité de nitrate produite dans les échantillons de sol en surface (0-5 cm) de la noue 1 est supérieure à celle produite en profondeur (15-25 cm) alors que dans la noue 2 il n'y a pas de différence significative entre la surface et la profondeur. En surface notamment, la quantité de nitrate produit dans la noue 1 est toujours supérieure à celle de la noue 2. L'azote ammoniacal consommé suit la même tendance que le nitrate produit (**Figure 5-5**).

A Raon, la quantité de nitrate produit est faible voire nulle excepté en surface du milieu de la noue 1. Au contraire quelque soit la localisation dans la ZTV, il n'y a pas de consommation, mais une production d'ammonium, particulièrement élevée en surface du milieu des deux noues. (**Figure 5-6**)

A Colmar, avant fertirrigation, il y a plus de production de nitrate en surface qu'en profondeur. La tendance est la même pour l'ammonium avec une consommation plus élevée en surface qu'en profondeur, notamment dans les noues B et C et un peu plus faible dans la noue A. On observe la même tendance après fertirrigation, avec une quantité de nitrate produit et d'ammonium consommé plus élevé en surface des noues qu'en profondeur et avec des quantités comparables entre les noues. (**Figure 5-7**)

On observe peu de différence significative de production de nitrate avant et après la fertirrigation, excepté en surface dans la noue C et en profondeur dans les noues A et D où la quantité produite après fertirrigation est significativement supérieure. La quantité d'ammonium consommé est supérieure après fertirrigation en surface de la noue A et en profondeur de la noue B. On observe la tendance inverse en surface de la noue B et C. (**Figure 5-8**)

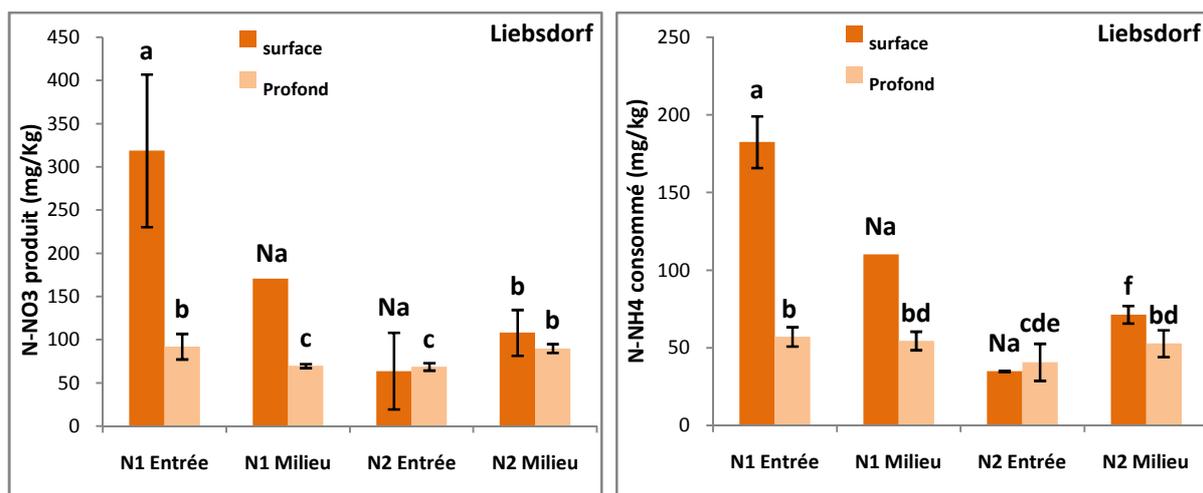


Figure 5-0-5: Nitrate (N-NO₃) produit et ammonium (N-NH₄) consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et milieu des noues de la ZTV de Liebsdorf. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N= noue, Na= pas de valeurs. 1 ≤ Taille de l'échantillon ≤ 3

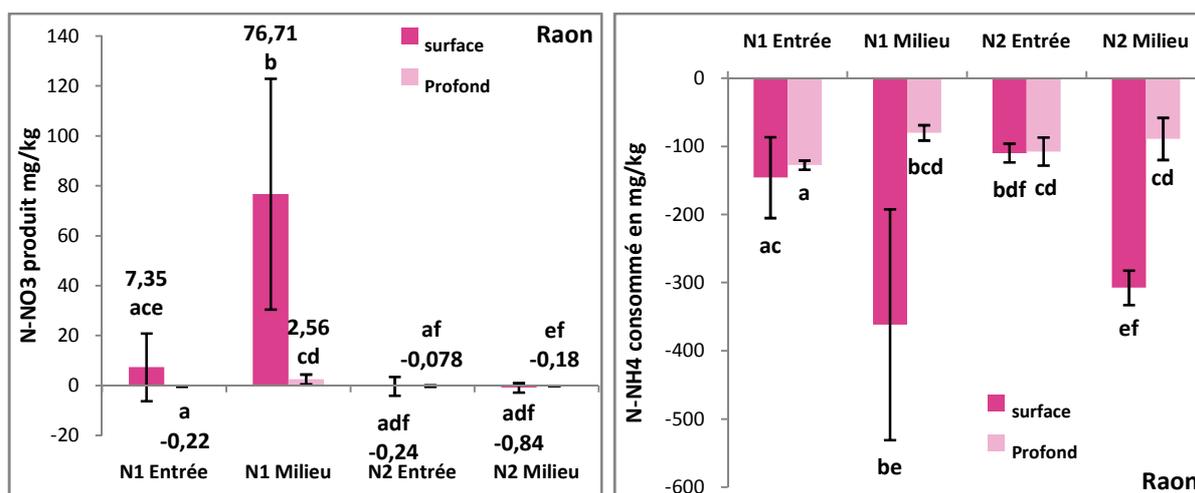


Figure 5-0-6: Nitrate (N-NO₃) produit et ammonium (N-NH₄) consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et milieu des noues de la ZTV de Raon. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N= noue. 1 ≤ taille de l'échantillon ≤ 3

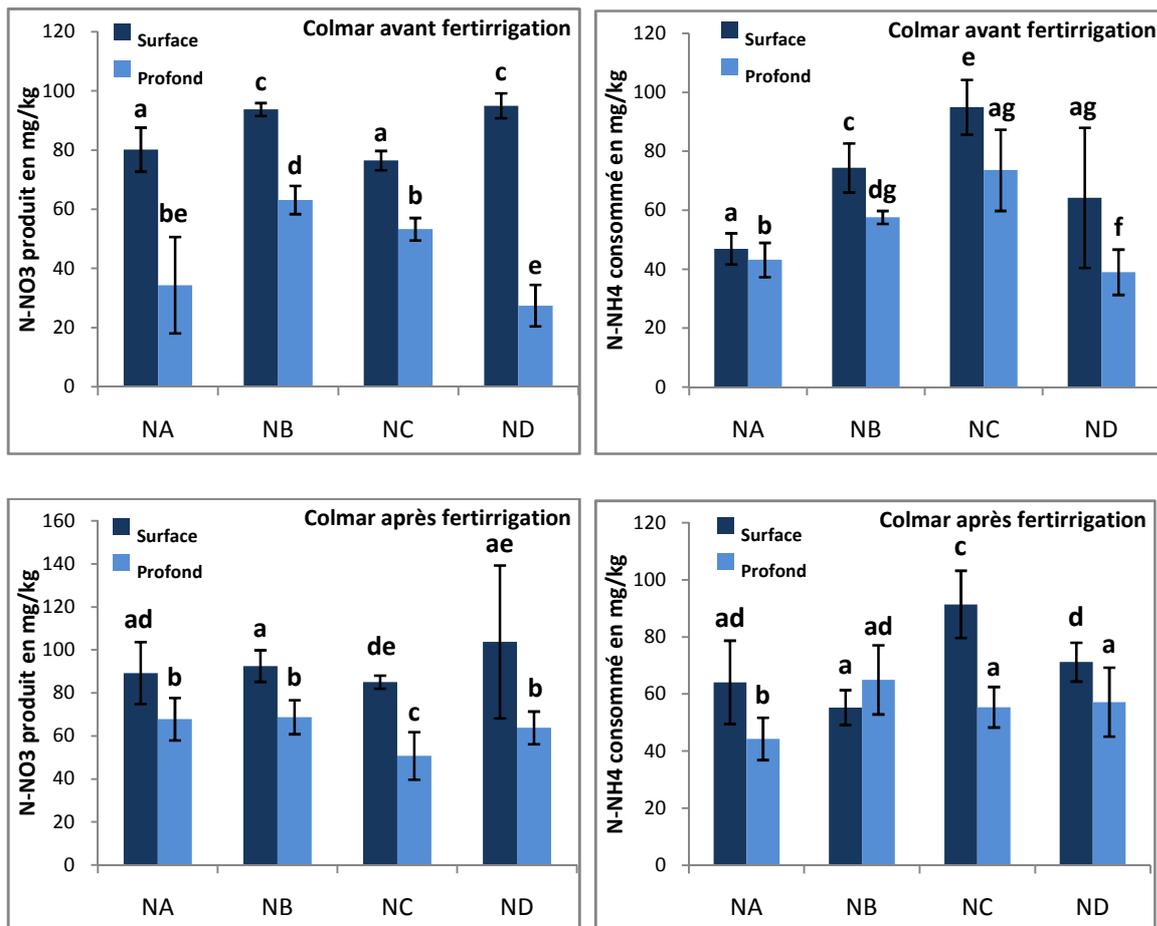


Figure 5-0-7: Nitrate N-NO₃ produit et ammonium N-NH₄ consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant des différentes noues de la ZTV de Colmar avant et après fertirrigation. A noter que dans la noue A témoin, une simple irrigation sans ajout a été réalisée. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N= Noue. Taille de l'échantillon=3

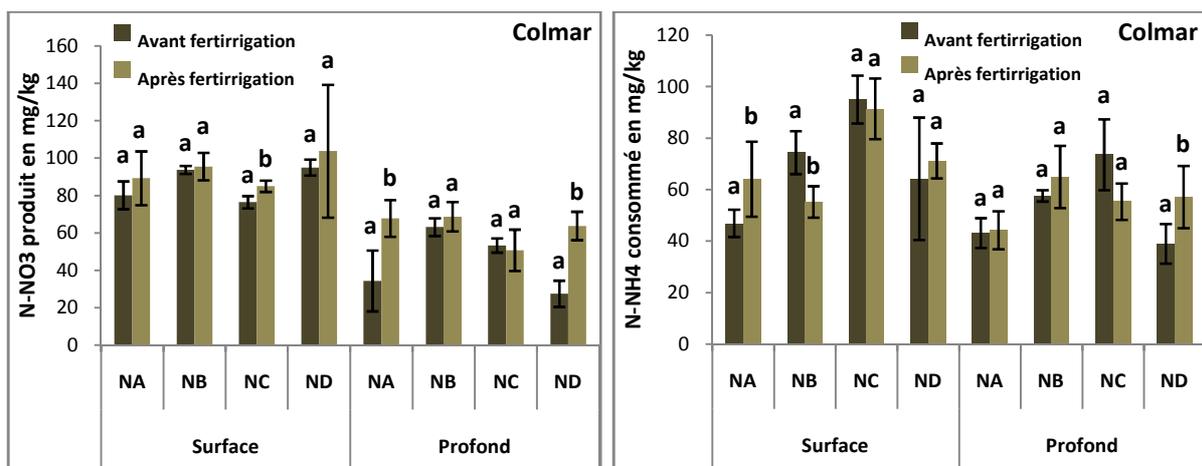


Figure 5-0-8: Comparaison du N-NO₃ produit et N-NH₄ consommé durant 21 jours lors d'une expérimentation de nitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant des noues de la ZTV de Colmar avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N=noue. Taille de l'échantillon=3

2.3 Activité dénitrifiante

2.3.1 Biomasse dénitrifiante

L'étape spécifique clé de la dénitrification est la réduction du nitrite (NO_2) en oxyde nitreux (NO). Cette étape est réalisée par la nitrite réductase qui peut être codée soit par le gène *nirK*, soit par le gène *nirS*. En déterminant le nombre de copies du gène *nirK*, on obtient une estimation de la biomasse dénitrifiante.

A Liebsdorf et Colmar, la biomasse dénitrifiante est plus élevée en profondeur qu'en surface excepté en entrée de la noue 1 à Liebsdorf (ce résultat peut être dû à une erreur d'expérimentation) et en surface de la noue A après irrigation à Colmar. La tendance est inverse à Raon, avec une biomasse dénitrifiante nettement plus élevée en surface qu'en profondeur. En surface à Liebsdorf, la biomasse est faible notamment en entrée de noues, à Colmar elle est particulièrement faible voire nulle. (**Figure 5-9**)

La **figure 5-10** compare le nombre de copies de gène *nirK* dans le sol entre les différentes ZTVs. En surface la biomasse dénitrifiante est faible et comparable dans les ZTVs de Liebsdorf et Colmar mais nettement plus faible qu'à Raon ; en profondeur elle est beaucoup plus élevée qu'en surface à Liebsdorf et Colmar et à l'inverse beaucoup plus faible à Raon.

2.3.2 Dénitrification potentielle

Une expérience de dénitrification potentielle a été menée en conditions optimales en laboratoire sur des échantillons de sol prélevés en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25 cm) des noues des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. Cette expérimentation a permis d'obtenir la quantité potentielle de N_2O pouvant être produit en une heure.

A Liebsdorf, en surface des noues, on observe une quantité de N_2O produit comparable entre les noues et variant entre 20 et 25 mg $\text{N}_2\text{O}/\text{h/g}$ de sédiment. En profondeur, cette quantité est faible voire nulle. (**Figure 5-11**)

A Raon, on observe une quantité de N_2O produit importante et variable selon l'emplacement dans les noues. Il y a un maximum de N_2O produit en milieu de la noue 1, alors qu'il n'y en a que très peu en entrée. Au contraire dans la noue 2, le taux de dénitrification est plus élevé en entrée qu'au milieu de la noue. En profondeur, il n'y a pas de N_2O produit. (**Figure 5-12**)

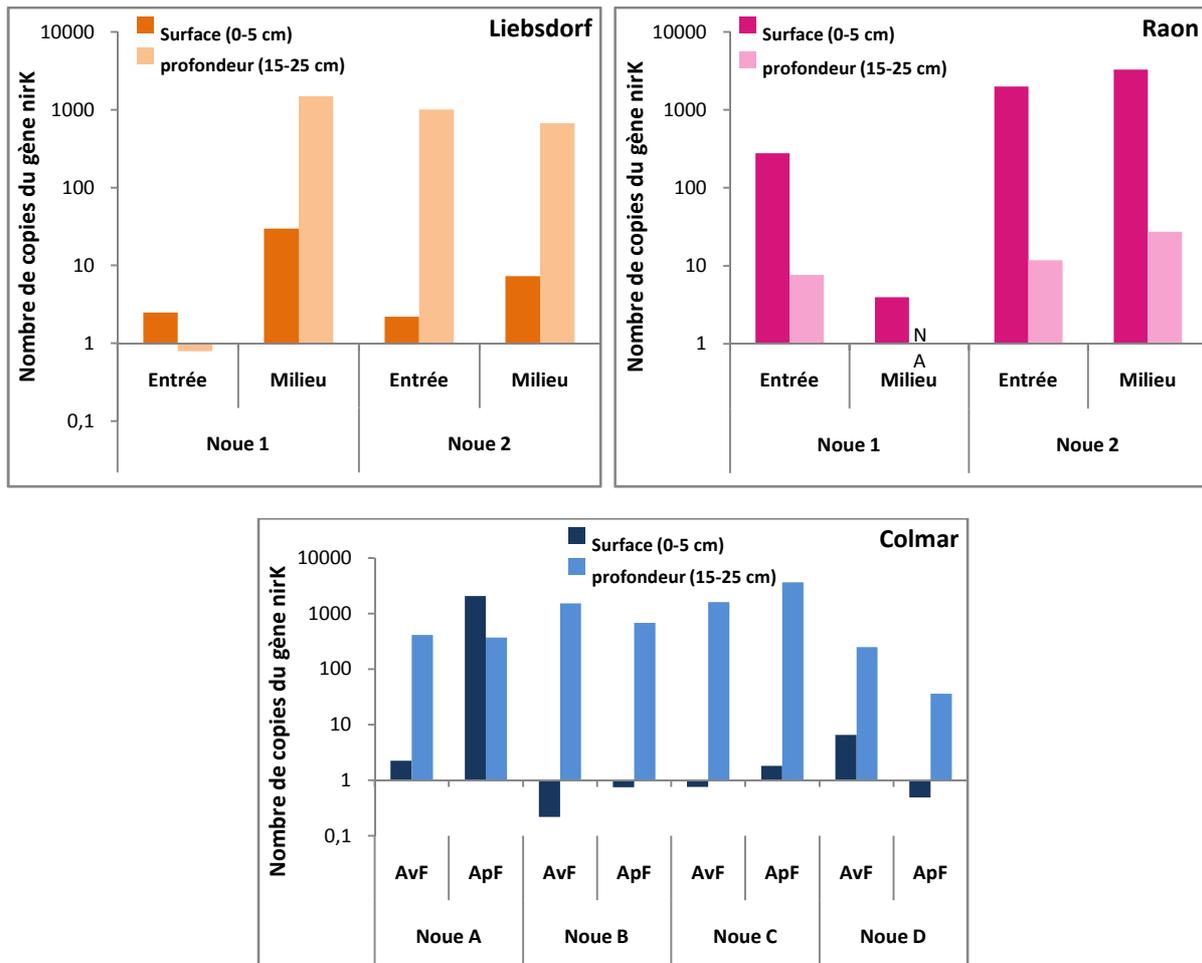


Figure 5-0-9: Biomasse dénitrifiante (Nombre de copies du gène *nirK*) en entrée et milieu de noue et 0-5 cm et 15-25 cm de profondeurs du sol des ZTVs de Liebsdorf, Raon et Colmar. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Taille de l'échantillon=2.

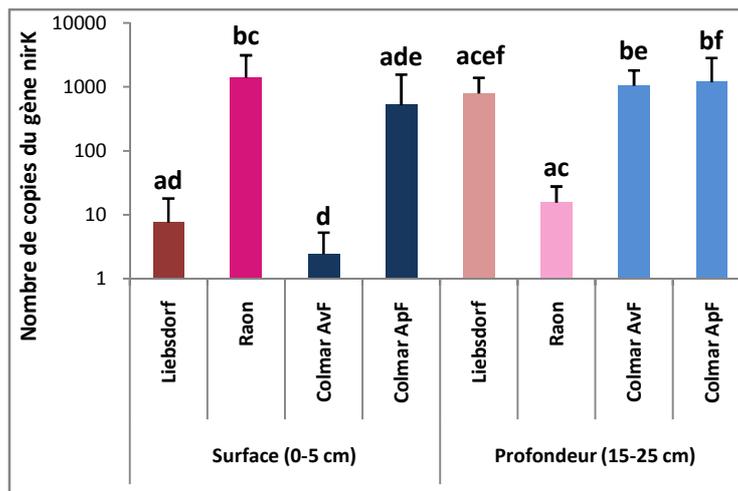


Figure 5-0-10: Variation de la biomasse dénitrifiante dans les différentes ZTVs. AvF=avant fertirrigation, ApF=après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur<0,05, wilcoxon test). Taille de l'échantillon=4

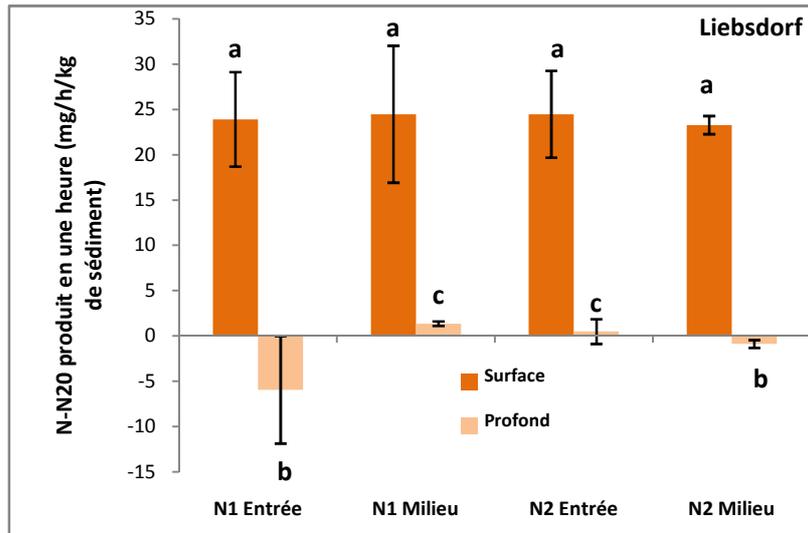


Figure 5-0-11: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et du milieu des noues de la ZTV de Liebsdorf en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25cm). Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3

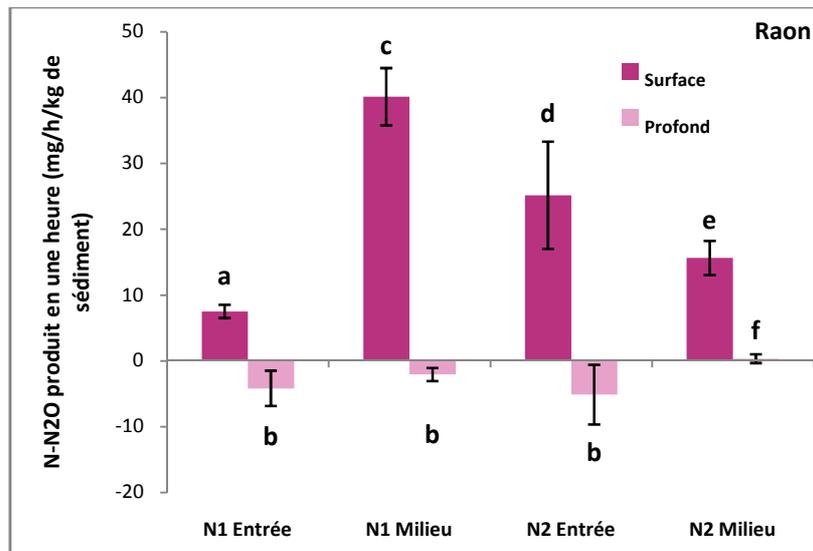


Figure 5-0-12: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol provenant de l'entrée et du milieu des noues de la ZTV de Raon en surface (0-5 cm) et profondeur (15-25cm). Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur<0,05, wilcoxon test). N=noe. Taille de l'échantillon=3

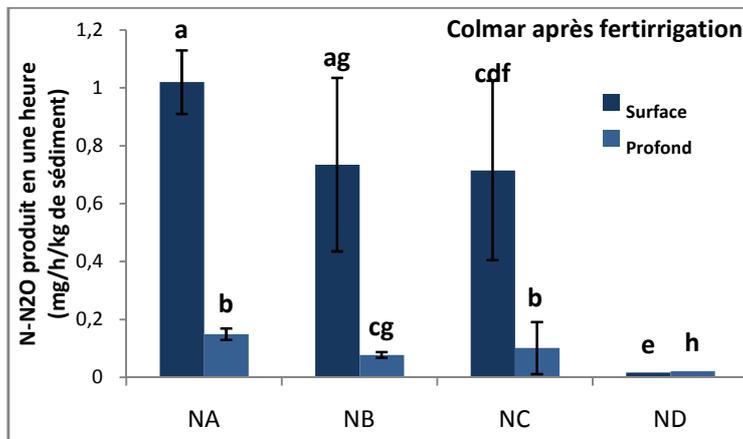
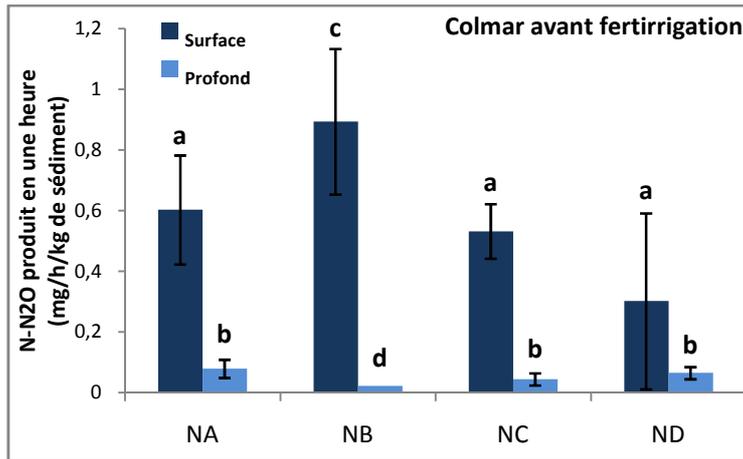


Figure 5-0-13: Oxyde d'azote N-N₂O produit en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol de surface (0-5 cm) et de profondeur (15-25 cm) provenant des différentes noues de la ZTV de Colmar avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N=noue. Taille de l'échantillon=3.

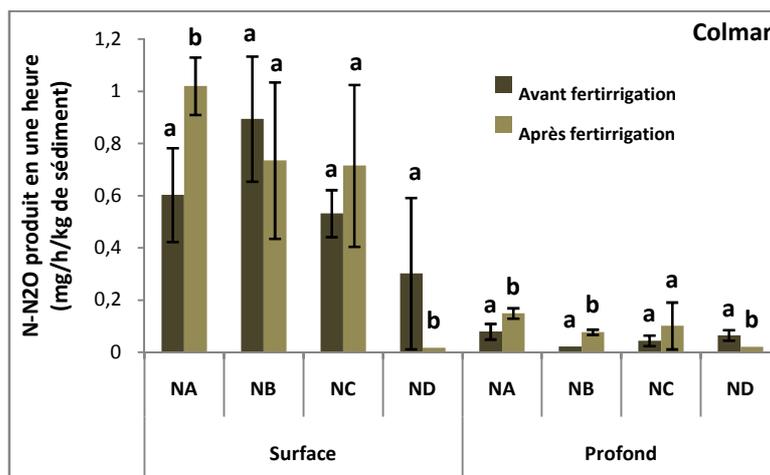


Figure 5-0-14: Production d'oxyde d'azote (N-N₂O) en une heure lors d'une expérimentation de dénitrification potentielle réalisée en laboratoire, dans des échantillons de sol de surface (0-5 cm) et de profondeur (15-25 cm) provenant des noues de la ZTV de Colmar, entre avant et après fertirrigation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). N=noue. Taille de l'échantillon=3

A Colmar, avant fertirrigation, la quantité de N₂O produit est supérieure en surface des noues. Cette quantité est faible en profondeur des noues. Après fertirrigation, cette quantité produite est aussi plus élevée en surface qu'en profondeur, excepté dans la noue D où on observe des quantités faibles quelque soit la profondeur. (**Figure 5-13**)

La **Figure 5-14** compare les quantités de N₂O produit dans le sol des noues de la ZTV de Colmar avant et après la fertirrigation. On observe une différence de N₂O produit dans la plupart des cas, avec en général une production plus importante après fertirrigation excepté dans la noue D où on observe la tendance inverse.

3 Discussion

3.1 Rôle de la biomasse bactérienne dans les ZTVs

La biomasse bactérienne totale présente des taux plus bas que ceux relevés par exemple par Fernandes et al., (2016) dans la baie d'Arcachon dans des échantillons d'une zone boueuse en pente de la baie en contact avec l'atmosphère 12h/jour et des échantillons sableux situés dans la zone intertidale de la plage (zone de marnage). Dans cette dernière étude, et dans une étude menée dans des marais salants par Dollhopf et al., (2005), la biomasse nitrifiante mesurée entre 10 000 et 1 300 000 copies gène *amoA*/g de sédiment est beaucoup plus élevée que celle relevée dans les ZTVs (entre 5 et 10 000 copies *amoA*/g de sédiment). De même, l'étude de Ligi et al., (2014) sur l'activité dénitrifiante dans des sédiments de deux marais et d'une zone humide recevant les eaux de dérivation d'une rivière avec une lame d'eau située entre 0-60 cm, colonisés par *Typha sp* a mesuré une moyenne de 4000 copies de gène *nirK*/g de sédiment elle aussi plus élevée que dans notre étude. De plus, ces auteurs montrent que le gène *nirS* serait plus présent dans la population dénitrifiante que le gène *nirK*.

Alors que Lavahun et al.(1995), n'observent aucune variation de la biomasse bactérienne totale entre 0 et 30cm, Unger et al. (2009) observaient une baisse de cette dernière entre 10 et 20 cm notamment par perte de la biomasse bactérienne aérobie. A Liebsdorf et Raon, il n'existe pas de différence de biomasse bactérienne totale entre le substrat de surface et celui plus profond, excepté en milieu de la noue 1 à Liebsdorf et en entrée de la noue 2 à Raon où la biomasse en surface (près de 1 milliard de copies de gène *ARN16S* dans les deux zones) est beaucoup plus élevée qu'en profondeur (environ 500 000 copie de gènes). Cette importante différence peut être due à la lame d'eau moins importante en entrée qu'en milieu de noue 2 à Raon, permettant des échanges avec l'atmosphère en surface. Au contraire, à Liebsdorf c'est

la lame d'eau importante qui limiterait la quantité d'oxygène dans la profondeur du substrat par rapport aux autres points de prélèvement alors qu'en surface des échanges sont possibles avec le taux oxygène dissous (13 mg/L) de la lame d'eau. L'un des facteurs majeurs contrôlant la biomasse et l'activité microbienne serait la quantité d'oxygène. Ainsi la biomasse nitrifiante aérobie est plus élevée en surface qu'en profondeur, différence d'autant plus marquée en milieu de la noue 1 pour les mêmes raisons qu'indiquées ci-dessus. L'importance de l'oxygène pour les bactéries oxydant l'ammonium a été prouvée notamment à travers l'étude des membranes aérées à biofilm (Cole et al., 2004). A Liebsdorf, malgré un sol argileux plutôt anaérobie dû à la saturation en eau (Moffat and Houston, 1991), l'oxygénation de l'effluent permet une bonne nitrification notamment en surface avec en moyenne 7,9 mgN-NO₃/kg de substrat/jour pouvant potentiellement être produit et une consommation potentielle de 4,8 mgN-NH₄/kg de substrat/jour. La consommation moins importante d'ammonium par rapport au nitrate produit, peut être expliquée par un processus d'ammonification en parallèle. Cette possible ammonification du substrat durant le test de nitrification potentielle a aussi été observée dans les échantillons de substrat de Raon, où malgré une texture de sol plus favorable à l'aérobiose, la concentration en oxygène dissous de l'effluent n'excédant pas 2,4 mg/L peut expliquer la faible quantité de biomasse nitrifiante et l'absence de nitrification potentielle, excepté en milieu de noue 1, peu irriguée et où l'oxygénation est effective. A Colmar, dans le sol limoneux, planté de saules et rarement saturé en eau, paramètres favorisant une bonne oxygénation, le processus de nitrification domine en surface, cependant après irrigation ou fertirrigation, dans la couche inférieure (15-25cm) la dénitrification devient aussi importante que la nitrification. La population dénitrifiante est composée de bactéries aérobies/anaérobies facultatives et anaérobies strictes, ceci peut donc expliquer la plus importante biomasse dénitrifiante en profondeur à Colmar, comme à Liebsdorf. Au contraire, à Raon, la biomasse dénitrifiante est plus élevée en surface qu'en profondeur, ce qui peut être expliqué par la faible oxygénation de l'eau. Enfin d'oxygène dissous au niveau de la subsurface semble favoriser le processus de dénitrification dans le sédiment de surface et explique les taux importants de N₂O produits observés à Liebsdorf et en milieu de la noue 1 à Raon. Cette zone intermédiaire entre aérobiose et anaérobiose semble être le site privilégié de dénitrification puisqu'on observe un taux de dénitrification plus élevé dans le substrat de surface dans les trois ZTVs comme cela a été également observé par Brodrick et al. (1988) et Willems et al. (1997) où le taux de dénitrification baissait à partir de 6 à 8 cm. Il apparaît une contradiction entre le taux de la dénitrification potentielle et la biomasse dénitrifiante excepté à Raon. En effet, alors que la biomasse dénitrifiante est quasi nulle en surface, le taux de dénitrification potentielle est

toujours plus élevé qu'en profondeur. Deux hypothèses peuvent expliquer cette contradiction :

- i) Les bactéries dénitrifiantes anaérobies strictes se trouvent plus en profondeur où la concentration d'oxygène est faible, cependant pour la dénitrification ces bactéries ont besoin de matière organique expliquant que la dénitrification tout comme la nitrification suivent le gradient du contenu en matière organique avec des taux plus élevés en surface et non pas par un manque de biomasse dénitrifiante en profondeur comme l'ont souligné Yeomans et al., (1992).
- ii) Le gène *nirK* n'est pas le seul à coder la nitrite réductase. Il existe le gène *nirS* souvent plus présent que le gène *nirK* (Ligi et al., 2014).

La teneur en matière organique est aussi un facteur majeur du développement de la biomasse bactérienne totale (Friedel et al., 2000; Wu et al., 2016). Ainsi l'apport continu en eaux usées sur une longue période augmente les apports en éléments organiques (Friedel et al., 2000; Filip et al., 2000). Or à Raon, l'effluent d'entrée encore très chargé en matière organique représente une source de carbone organique dissous et peut expliquer la quantité importante de biomasse bactérienne totale en surface. A Colmar, la ZTV est irriguée avec de l'eau sans carbone organique dissous mais enrichie en nutriments inorganiques. De plus, la ZTV n'est irriguée qu'une fois par mois, or en dehors des périodes d'irrigation le sol est relativement sec, ce qui réduit le taux de décomposition de la matière organique (Linn and Doran, 1984). Ces faibles apports en carbone organique peuvent expliquer la plus faible biomasse bactérienne totale à Colmar par rapport aux deux autres ZTVs.

Le pH est un autre facteur important dans le développement de la biomasse bactérienne et dans le ratio bactérie/champignon, ce ratio semble baisser avec la baisse du pH, notamment en dessous de 7 (Rousk et al., 2009). Or dans les trois ZTVs, le pH du sol est adapté à un bon développement de la biomasse bactérienne totale. Des études ont démontré une baisse du nombre de copies du gène *amoA* à des pH trop élevés (>8) (Wang et al., 2011; Nicol et al., 2008) ce qui est le cas en milieu de noue à Liebsdorf et Raon (pH de l'effluent entre 8 et 13) ; ce pH élevé favorise la forme non dissocié $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_3$ susceptible d'inhiber l'activité de la nitrate réductase (Aleem and Alexander, 1960) et une baisse de la nitrification. Ce facteur, couplé au faible taux d'oxygène dissous dans les noues expliquerait la nitrification faible à nulle à Raon.

Certaines études montrent aussi un effet de la texture du sol avec une biomasse totale plus importante dans les sols sableux et limoneux (Hassink, 1994) alors que d'autres observent une biomasse bactérienne plus importante dans l'argile (Kaiser et al., 1992, Filip et al., 2000).

Dans notre étude, la texture du sol ne semble pas avoir un rôle majeur dans les variations de la biomasse bactérienne totale, puisqu'il n'y a que peu de différence entre Raon (substrat sableux) et Liebsdorf (substrat limono- argileux).

3.2 Fertirrigation et activité microbienne

L'hydraulique et la composition de l'effluent peuvent jouer un rôle sur l'activité microbienne. Dans la zone expérimentale de Colmar, les apports faibles en ammonium pourraient expliquer un taux de nitrification un peu plus bas qu'à Liebsdorf. En effet, dans certaines études on note une corrélation entre le taux de nitrification et la concentration en ammonium dans le sol (Wang et al., 2011). Cependant, l'observation du taux de nitrification à Raon aux effluents chargés en ammonium, nous permet de conclure que la quantité d'ammonium n'est pas un facteur majeur de la nitrification. La fertirrigation n'a aucun impact sur la biomasse nitrifiante en surface, alors qu'en profondeur elle entraîne une diminution de cette dernière et favorise plutôt la biomasse dénitrifiante, ce résultat serait dû à la saturation en eau du sol et donc à une anaérobiose temporaire. L'intermittence des irrigations serait un facteur favorisant la quantité du gène *nirK* (Ligi et al., 2014). Pourtant le taux de dénitrification potentielle est inchangé ou un peu plus élevé après fertirrigation.

La présence de végétaux devrait améliorer l'activité microbienne par l'effet rhizosphère ou/et par l'apport de MO. En effet, la présence d'espèces héliophytes comme *Typha* sp améliore la quantité en carbone organique du sol (Angeloni et al., 2006). La rhizosphère favorise la présence de bactéries nitrifiantes, y compris dans les sols anaérobies (Armstrong and Armstrong, 1988) et peut expliquer la présence d'une nitrification même dans la couche inférieure, que l'on a observée à Liebsdorf et Colmar. En revanche, le recépage des saules ne semble pas avoir d'impact sur l'activité microbienne puisqu'on n'observe que peu de différences des activités nitrifiantes ou dénitrifiantes entre les noues A et B (noue recépée). En revanche dans la noue D on a observé les plus faibles biomasses nitrifiantes et dénitrifiantes, ainsi qu'une dénitrification potentielle de surface très faible, surtout après fertirrigation, mais peu de différence de la nitrification potentielle avec les 3 autres noues. La densité de saules plus élevée au travers de l'effet rhizosphère ne peut pas expliquer ces résultats. Peut-être est ce dû à un approvisionnement en eau et nutriments plus faible dans cette noue (dysfonctionnement de l'alimentation en eau)?

3.3 Bilan de masse estimatif de l'activité microbienne dans les ZTVs étudiées

Afin de discuter au mieux des potentialités microbiennes de chaque station étudiée dans la transformation de l'azote, les quantités en N-NO₃ et N-NH₄ apportées par irrigation et contenu dans les 30 premiers cm du sol ont été comparées aux quantités d'azote transformées via la nitrification et la dénitrification dans les 30 premiers cm de sol également (**Tableau 5-2**). Ces données sont celles obtenues au mois de mars 2015, période de récolte du sol pour les tests d'activité microbienne. Il n'est pas possible d'extrapoler sur une période plus longue de par la variabilité saisonnière de l'activité des microorganismes.

Tableau 5-2: Quantité de N-NH₄ et N-NO₃ apportée lors de l'irrigation des noues, contenue dans le sol et quantité potentielle de N-NO₃ produit par nitrification et de N-N₂O produit par dénitrification durant le mois de mars 2015 sur les 30 premiers cm de sol. Les quantités apportées dans la noue 1 de Raon ne sont pas déterminables (ND = non déterminé) car une quantité d'eau négligeable arrive dans cette noue.

	N-NH ₄ apporté (g)	N-NH ₄ dans le sol (g)	N-NO ₃ produit par nitrification (g)	N-NO ₃ apporté (g)	N-NO ₃ dans le sol (g)	N-N ₂ O produit par dénitrification (g)
Liebsdorf Noue 1	601	404,7	4699	21 099	6,8	1028
Liebsdorf Noue 2	321	492,4	2643	9 336	8,31	222
Raon Noue 1	ND	3392	675	ND	8,2	347
Raon Noue 2	22 764	3994	0	1521	10,2	297
Colmar Noue A	0	3,9	95	6	1,2	0.371
Colmar Noue B	0,011	2,7	97	297	1,6	0.257
Colmar Noue C	0,019	2,3	80	307	2,3	0.260
Colmar Noue D	0,059	2	99	315	3,4	0.014

A Liebsdorf, à Colmar et dans la noue 1 de Raon, la présence d'oxygène atmosphérique et/ou dissous dans l'eau est favorable à la nitrification contrairement à la noue 2 de Raon. Ce faible taux de nitrification, voire nulle, à Raon peut expliquer les quantités plus élevées d'ammonium dans le sol par rapport à Liebsdorf (8 fois moins) et Colmar (plus de 100 fois moins). Les quantités d'ammonium dans les noues d'une même station est comparable. Le ratio N-NO₃ produit/N-NH₄ apporté est d'environ 8 à Liebsdorf et varie de 1670 (Noue D) à 8800 (Noue B) à Colmar démontrant la potentialité de nitrification forte dans ces stations. On aurait pu s'attendre à un ratio plus élevé dans la noue D de par un effet rhizosphère augmenté par l'augmentation de densité des saules, cependant, les saules replantés sont jeunes et n'ont pas forcément un système racinaire très développé. De plus, l'augmentation de la densité des

saules n'induit pas forcément à l'augmentation de la biomasse souterraine à cause de la compétition intra-spécifique. Les résultats à Raon confirment que le taux de nitrification n'est pas dépendant de la quantité d'azote ammoniacal dans l'eau et le sol. Le substrat (ammonium) n'apparaît donc pas être un facteur de contrôle dans le phénomène de nitrification.

Potentiellement la part de nitrate apporté par irrigation transformée via la dénitrification potentielle est faible (0,004% à 19,5%), notamment dans les noues de Colmar, malgré une saturation en eau des noues une fois par mois. On observe une faible dénitrification potentielle dans la noue D à Colmar alors qu'elle est identique dans les 3 autres noues, même la noue A qui ne reçoit que peu d'azote nitrique et qui reçoit la même quantité d'eau que la noue D. On observe une légère corrélation négative entre le taux de nitrification et la quantité de nitrate dans le sol.

4 Conclusion

Les ZTV de Liebsdorf et Raon présentent des différences d'activité microbienne, notamment dans le processus d'oxydation de l'ammonium. Alors que la texture du sol nous orientait vers une nitrification favorisée à Raon et une dénitrification à Liebsdorf, les résultats confirment les hypothèses avancées dans le chapitre 3, à savoir un processus de nitrification et dénitrification à Liebsdorf alors qu'à Raon la dénitrification est majoritaire avec une quasi absence de nitrification. Ces résultats nous permettent de conclure que la texture du sol n'est pas un facteur majeur de contrôle dans l'activité microbienne. En revanche le taux d'oxygène du substrat, lié à l'hydraulique impacte la biomasse et l'activité microbienne en profondeur alors que le taux d'oxygène dissous dans l'effluent est le facteur majeur de l'activité microbienne en surface lors d'une irrigation continue et de l'existence d'une lame d'eau constante. L'oxygénation du milieu semble donc être le facteur majeur de contrôle de l'activité microbienne. D'autres facteurs, de moindre importance, contrôlent aussi cette activité : La présence de matière organique favorise la biomasse bactérienne totale et le processus de dénitrification, un pH entre 6 et 8 permet une bonne activité microbienne alors qu'un pH alcalin (>8) limite les processus de nitrification et dénitrification. L'étude de la ZTV de Colmar ne permet pas d'attribuer un rôle au recépage dans les processus microbiens. Se pose la question du rôle direct ou indirect de la densité des saules. La présence du végétal permet l'apport de matière organique et d'oxygène dans le sol au niveau de la rhizosphère. La fertirrigation, telle qu'elle est réalisée à Colmar, ne permet pas de conclure à un impact de cette dernière, ceci étant expliqué par la faible quantité de composés organiques et d'ammonium dans l'eau d'irrigation.

Par contre l'alternance des périodes d'irrigation et des périodes sèches pourrait augmenter la biomasse dénitrifiante et le processus de nitrification, en augmentant les échanges avec l'oxygène atmosphérique. A Colmar et à Liebsdorf, les conditions nitrifiantes permettent une élimination potentielle de la totalité de l'ammonium apporté alors que la dénitrification ne peut potentiellement éliminer qu'une faible part du nitrate apporté et ce dans toutes les stations étudiées. Cette étude préliminaire a permis d'affirmer ou d'infirmier certaines de nos hypothèses mais mériterait d'être approfondie, notamment en utilisant d'autres gènes pour l'étude des populations dénitrifiantes (gènes *nirS* et *nosZ*).

Chapitre 6

Rétention des nutriments dans la biomasse végétale des Zones Tampon Végétalisées

L'objectif principal de ce chapitre est l'étude de la capacité de rétention des nutriments par les espèces végétales des zones tampon. Pour l'estimation de la biomasse, nous avons testé un protocole simple de détermination non destructive de la biomasse des saules coupés en têtards. Cette étude répondra aux questions suivantes :

- Existe-t-il une différence intra et interspécifique de capacité de rétention des nutriments entre des espèces herbacées (macrophytes-hélophytes) et ligneuses (des saules). Quelles seraient les espèces les plus efficaces ?
- Y-a-t-il un effet saisonnier sur la rétention des nutriments par les végétaux ?
- Y a-t-il des espèces plus productives que d'autres, cela participe-t-il de leur efficacité dans la rétention de nutriments ?

Des réponses ont déjà été données à ces questions, mais elles se révèlent contradictoires. Nous verrons au travers d'analyses et de suivi des nutriments dans les plantes , si on peut vérifier, infirmer ou confirmer et compléter ces réponses:

- Une précédente étude sur 2 ZTVs (Koenig, 2010, rapport de master données non publiées), avait démontré qu'il n'existait aucune différence de capacité de rétention des nutriments entre les différentes espèces de saules alors que Labrecque et Teodorescu (2001) démontraient que *S. viminalis* accumulait mieux les nutriments que *S. discolor* dans un sol argileux.
- D'après une étude menée par Ennabili et Radoux, 2006 sur les espèces des genres *Lemna*, *Typha*, *Sparganium*, *Juncus*, *Phragmites* et *Iris*, certaines espèces de macrophytes présentent des différences de capacité de rétention des nutriments. Ces auteurs montrent notamment que *Lemna minor* et *Sparganium erectum* absorbent plus efficacement que d'autres.

- Les plantes accumulant des nutriments au cours de la saison de croissance, une augmentation du contenu en nutriments devrait être observée sur la période de végétation, cependant l'augmentation de la biomasse durant cette période induit une dilution des nutriments à l'intérieur de la plante. (montré par Conreux, 2014, rapport de master, données non publiées).

Pour vérifier ces hypothèses, le contenu en azote et phosphore total dans les espèces végétales (parties aériennes, racines et rhizomes chez les macrophytes, feuilles et rameaux chez les saules) des stations de Raon, Liebsdorf et Colmar a été évalué à chaque saison et mensuellement de mars à septembre 2014. La biomasse a été estimée en septembre 2015 par une coupe systématique de tous les rameaux de saules (biomasse aérienne) et pour les macrophytes par récolte de quelques individus et détermination du nombre d'individus dans des quadrats de 1m². En parallèle nous avons testé un protocole simple et non destructif pour l'estimation de la biomasse des saules coupés en têtards. Le détail des méthodes est fourni dans le chapitre 2 « matériel et méthodes ».

1 Capacité d'accumulation des macrophytes

1.1 Variations intra-spécifiques et temporelles du contenu en nutriments

Des prélèvements des différentes espèces de plantes herbacées ont été faites trimestriellement en Janvier, Mars, Juin et Septembre (de mars 2013 à Juin 2015) et mensuellement de Mars à Septembre 2014.

Les tendances de variations mensuelles de concentrations en azote et phosphore dans les parties aériennes sont comparables, bien que pas toujours significatives, pour la plupart des espèces excepté pour *Veronica beccabunga* pour laquelle on n'observe aucune variation (**Figure 6-1**). Ainsi, la concentration en nutriments est plus élevée au début de printemps (Mars) voire même en hiver (Janvier) pour les espèces au développement plus précoce. Entre les mois d'avril et de juin, les concentrations sont un peu plus faibles, dû certainement à la croissance des végétaux et donc à la dilution des nutriments. Au mois de Juin on note généralement une légère tendance à la hausse, puis les concentrations baissent de juillet à septembre, notamment pour l'azote. Ceci démontrerait que les plantes puisent les nutriments de manière ponctuelle et non continue en début (janvier à mars) et milieu (Juin) de développement.

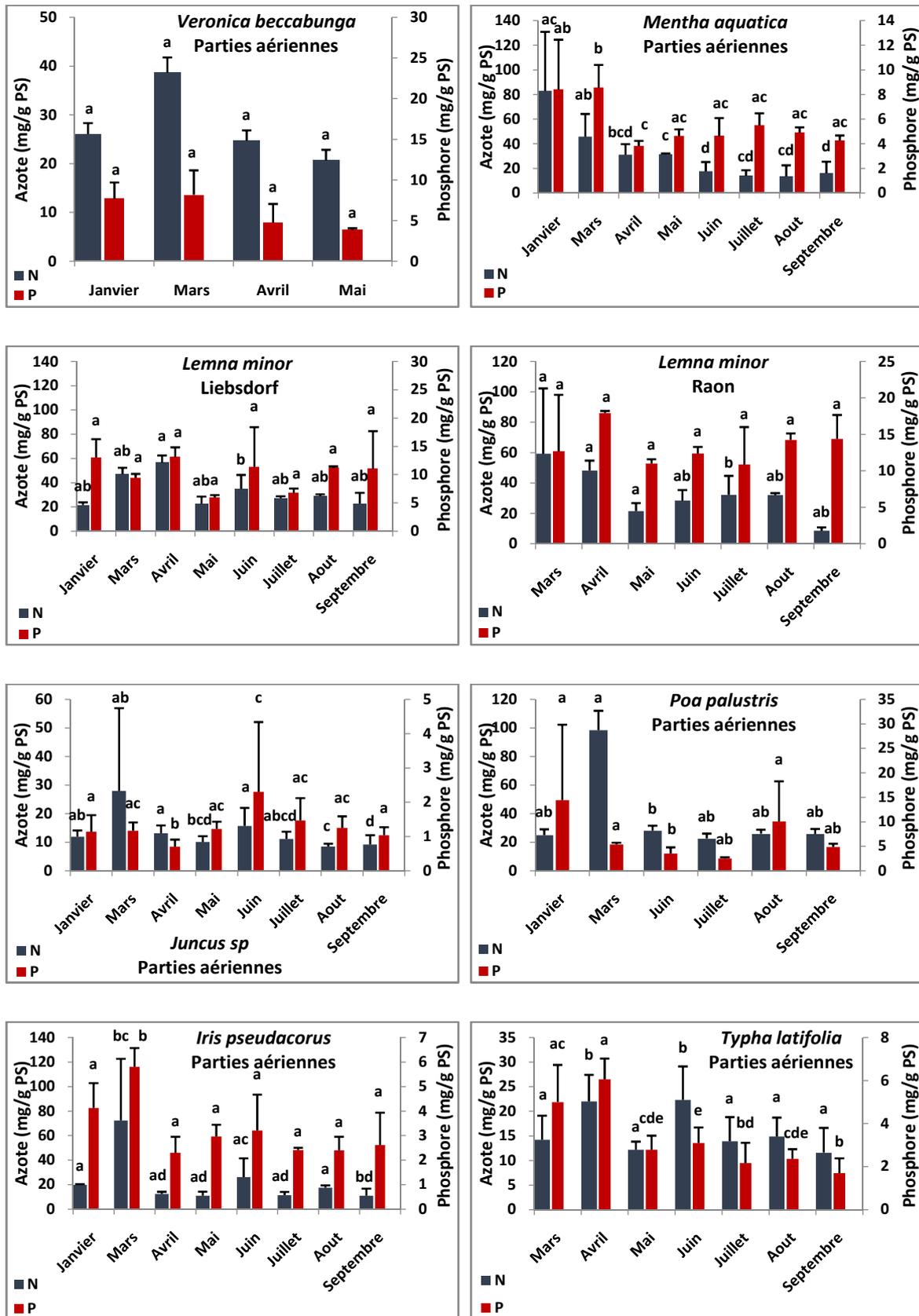
La concentration racinaire en nutriments donne des tendances similaires (**Figure 6-2**) à celles observées dans les parties aériennes : aucune variation pour *Veronica* sp et des valeurs supérieures en mars pour l'azote et le phosphore et en juin particulièrement pour l'azote pour les autres espèces. Au mois de septembre, on observe une augmentation de la concentration en azote chez *Mentha* et *Iris* et du phosphore chez *Typha* et *Sparganium*, pouvant démontrer une translocation des nutriments des parties aériennes vers les racines lors de l'approche de la sénescence.

Dans les rhizomes (**Figure 6-3**), la concentration en nutriments est elle aussi supérieure en début de printemps et demeure plus basse et stable sur le reste de la période de végétation.

Que ce soit dans les parties aériennes ou souterraines, on observe la même tendance, à savoir une baisse du contenu en azote et phosphore entre mars et juin puis un contenu plutôt stable jusqu'en septembre et enfin une ré-augmentation de ce contenu en hiver. Cette tendance a largement été observée dans d'autres études (Boyd, 1970; Martín and Fernández, 1992; Bollmark et al., 1999). Au printemps les espèces assimilent les nutriments dont ils ont besoin pour leur croissance, puis le contenu baisse par un effet de dilution des nutriments durant la croissance. On montre également que l'assimilation des nutriments pour la croissance commence dès l'hiver pour les espèces persistantes comme *Iris pseudacorus* et *Mentha aquatica* avec un stockage dans les parties souterraines. Les parties aériennes récoltées en hiver étaient en effet les jeunes pousses de la nouvelle année.

La variation intra-spécifique moyenne de la concentration en nutriment (Ecart-type), dans les parties aériennes, est plus élevée chez *Mentha aquatica* (13,3 mgN/g PS), *Juncus* sp (6,12 mgN/g PS), *Lemna minor* (5,35 et 9,9 mgN/g à Liebsdorf et Raon respectivement) et *Poa palustris* (5,18 mgN/g PS) que chez *Veronica beccabunga* (2,41 mgN/g), *Sparganium erectum* (3,03 mg/g PS), *Carex acutiformis* (3,55 mgN/g PS). Les variations sont généralement plus élevées dans les parties aériennes que dans les parties souterraines (racines et rhizomes). Dans tous les cas, la variation est plus importante lorsque les concentrations en nutriments sont plus importantes à savoir en hiver, début de printemps et début d'été (janvier, mars et juin). Ces périodes semblent correspondre aux périodes de prélèvement des nutriments par la plante. Ainsi lors de la période de consommation il existe une différence temporelle de nutrition entre les individus expliquant l'écart type important observé puisque l'étude est réalisée sur une journée dans le mois. A la fin de cette période, durant la croissance, la quantité de

nutriments consommés par individu est presque équivalente et la variation moins importante. (Figure 6-1, 6-2 et 6-3).



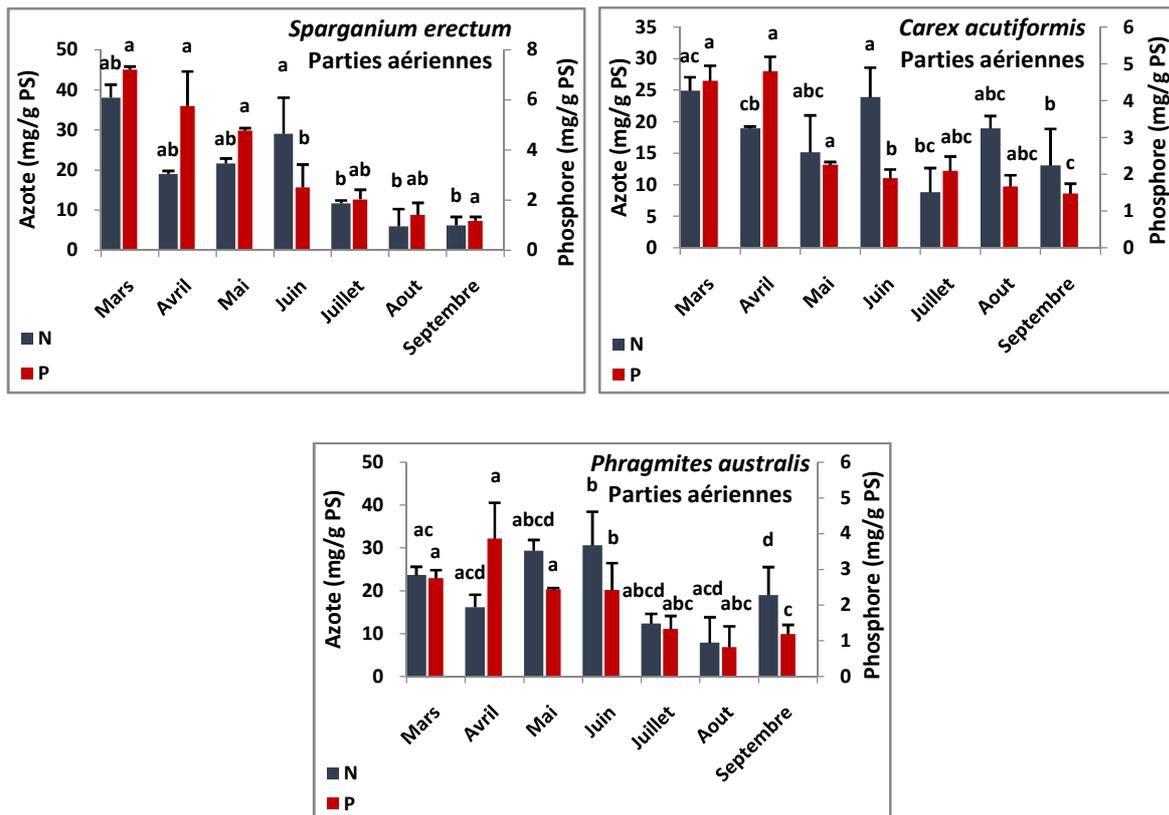


Figure 6-1 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les parties aériennes de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (*Veronica beccabunga*, *Mentha aquatica*, *Poa palustris*, *Juncus* sp, *Lemna minor*, *Iris pseudacorus*, *Typha latifolia*, *Sparganium erectum*, *Carex acutiformis* et *Phragmites australis*) et Raon (*Lemna minor*). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (p valeur < 0,05, wilcoxon test). 3 ≤ taille de l'échantillon ≤ 27

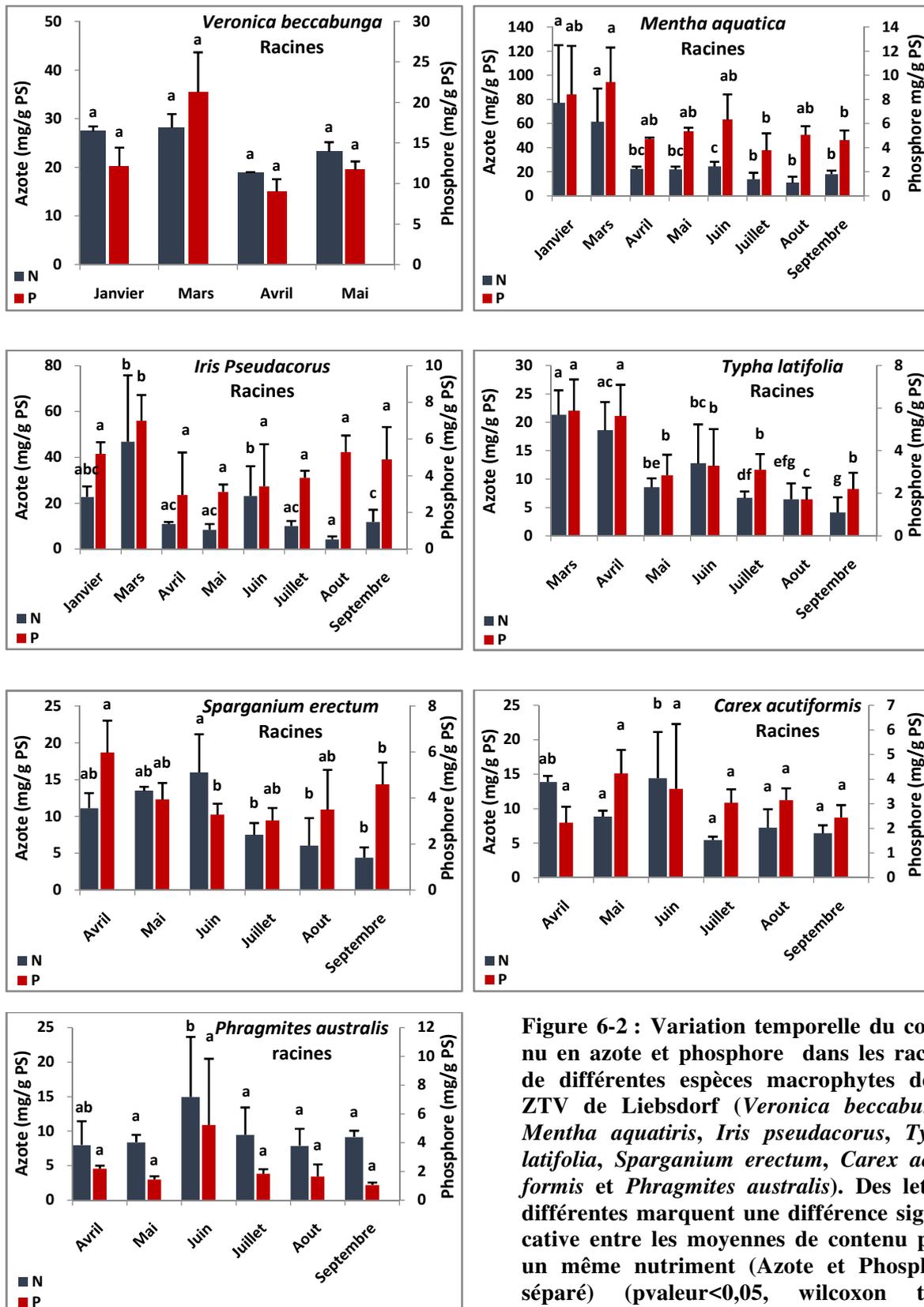


Figure 6-2 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les racines de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (*Veronica beccabunga*, *Mentha aquatica*, *Iris pseudacorus*, *Typha latifolia*, *Sparganium erectum*, *Carex acutiformis* et *Phragmites australis*). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (p valeur < 0,05, wilcoxon test). 3 ≤ taille de l'échantillon ≤ 18

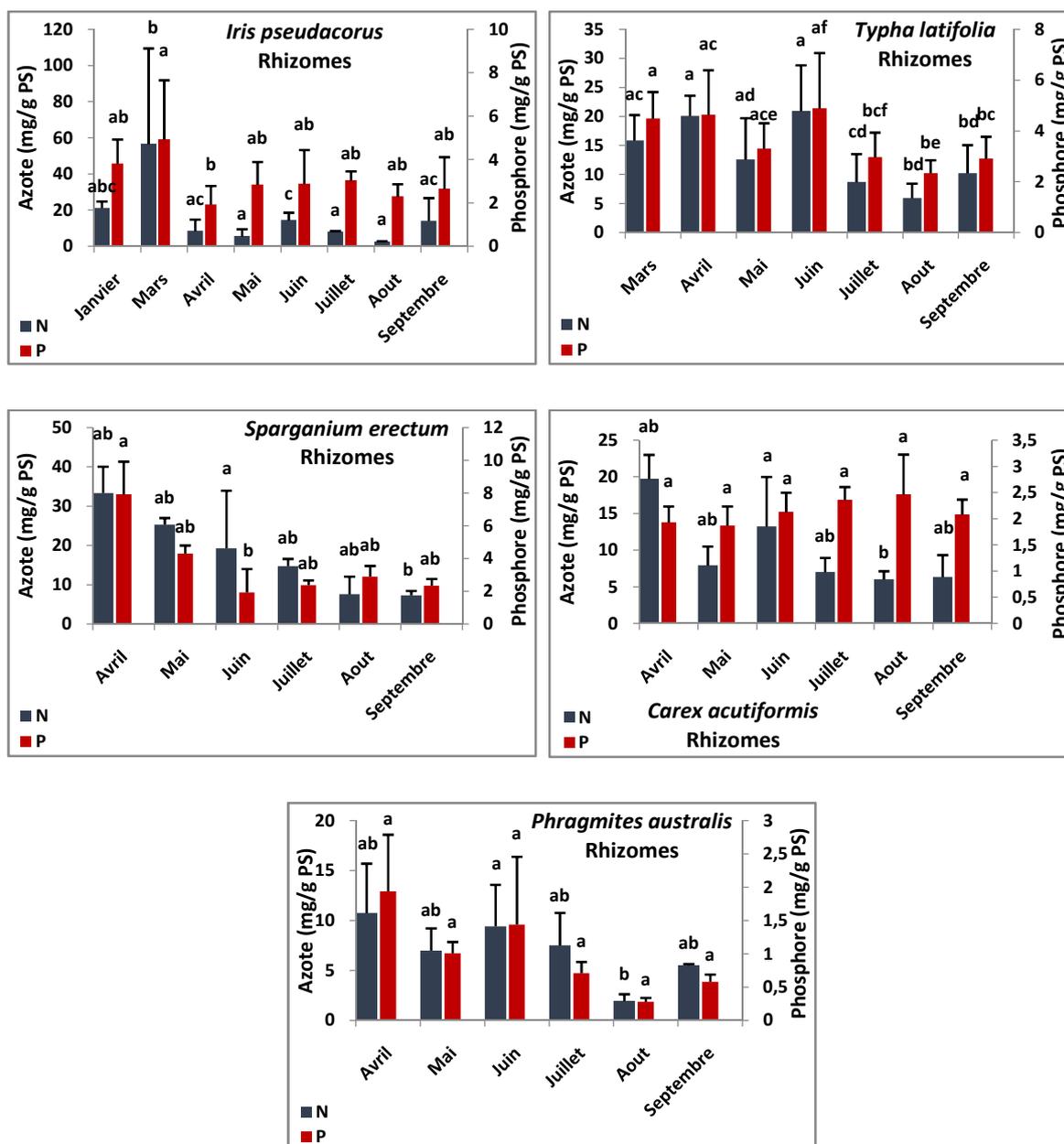


Figure 6-3 : Variation temporelle du contenu en azote et phosphore dans les rhizomes de différentes espèces macrophytes de la ZTV de Liebsdorf (*Iris pseudacorus*, *Typha latifolia*, *Sparganium erectum*, *Carex acutiformis* et *Phragmites australis*). Des lettres différentes marquent une différence significative entre les moyennes de contenu pour un même nutriment (Azote et Phosphore séparé) (p valeur < 0,05, wilcoxon test). 3 ≤ taille de l'échantillon ≤ 18

1.2 Variations inter-spécifiques du contenu en nutriments

La plupart des espèces des ZTVs ont été plantées avec l'objectif d'accumuler les nutriments et donc de participer à la réduction des transferts, signalons toutefois que deux espèces de *Poa* (*Poa palustris* et *Poa trivialis*) se sont développées spontanément dans une des noues de Liebsdorf. Or ce sont des espèces spécifiques des marais bien eutrophisés (Vermeer and Berendse, 1983).

Dans les parties aériennes, les espèces de macrophytes retenant le mieux les nutriments avec un contenu en azote supérieur à 20 mg/g PS et en phosphore supérieur à 5 mg/g PS (**Figure 6-4**), sont *Veronica beccabunga*, *Mentha aquatica*, *Poa palustris* et *Lemna minor*, cette dernière ayant la plus forte capacité de rétention avec 35 et 12 mg/g PS d'azote et de phosphore respectivement. On observe aussi une forte capacité de rétention de *Phragmites australis* pour l'azote. L'espèce *Juncus* (*effusus* et *conglomeratus* confondus) accumule le moins bien les nutriments (12,6 mg N/g et 1,3 mg P/g).

Si on compare les teneurs en N et P mesurées à celles observées dans les milieux « non anthropisés », on constate que le contenu en azote et phosphore dans les parties aériennes des macrophytes des ZTVs est majoritairement plus élevé qu'en milieu naturel (**Tableau 6-1**). Par « milieu naturel » on entend zones humides non soumises à des actions humaines. Le milieu peut être oligotrophe, mésotrophe à eutrophe, pour exemple des cours d'eau de zone alluviale étudiés par Meyer (2012) dans lesquels un suivi du contenu en nutriments des macrophytes a été fait, sont caractérisés comme milieux mésotrophes à eutrophes ; si on compare le contenu en N et P entre ces deux types de milieu, les bras morts de zone alluviale et les noues de ZTV, on constate que le contenu en azote est similaire, voire supérieur dans les bras morts, dans *Veronica beccabunga* et *Lemna minor* et que le contenu en phosphore augmente avec l'augmentation du niveau trophique des ZTVs. Les espèces qui retiennent le mieux les nutriments en milieu « non anthropisé » sont les mêmes que celles observées dans les ZTVs à savoir *Mentha*, *Veronica* et *Lemna*. On note aussi qu'en milieu naturel, la capacité de rétention de l'azote de *Phragmites* est élevée. La capacité de rétention des nutriments de grands héliophytes rhizomateux comme *Typha*, *Iris* et *Sparganium* est équivalente dans le milieu naturel, ce qui a aussi été observé dans cette étude. On observe que l'augmentation du contenu en nutriments dans les ZTVs et pour toutes les espèces concerne surtout le phosphore. Güsewell and Koerselman, (2002) ont noté que lors d'une fertilisation en azote et phosphore, il y avait une augmentation moyenne de 33,5% de l'azote et de 69,8% du phosphore.

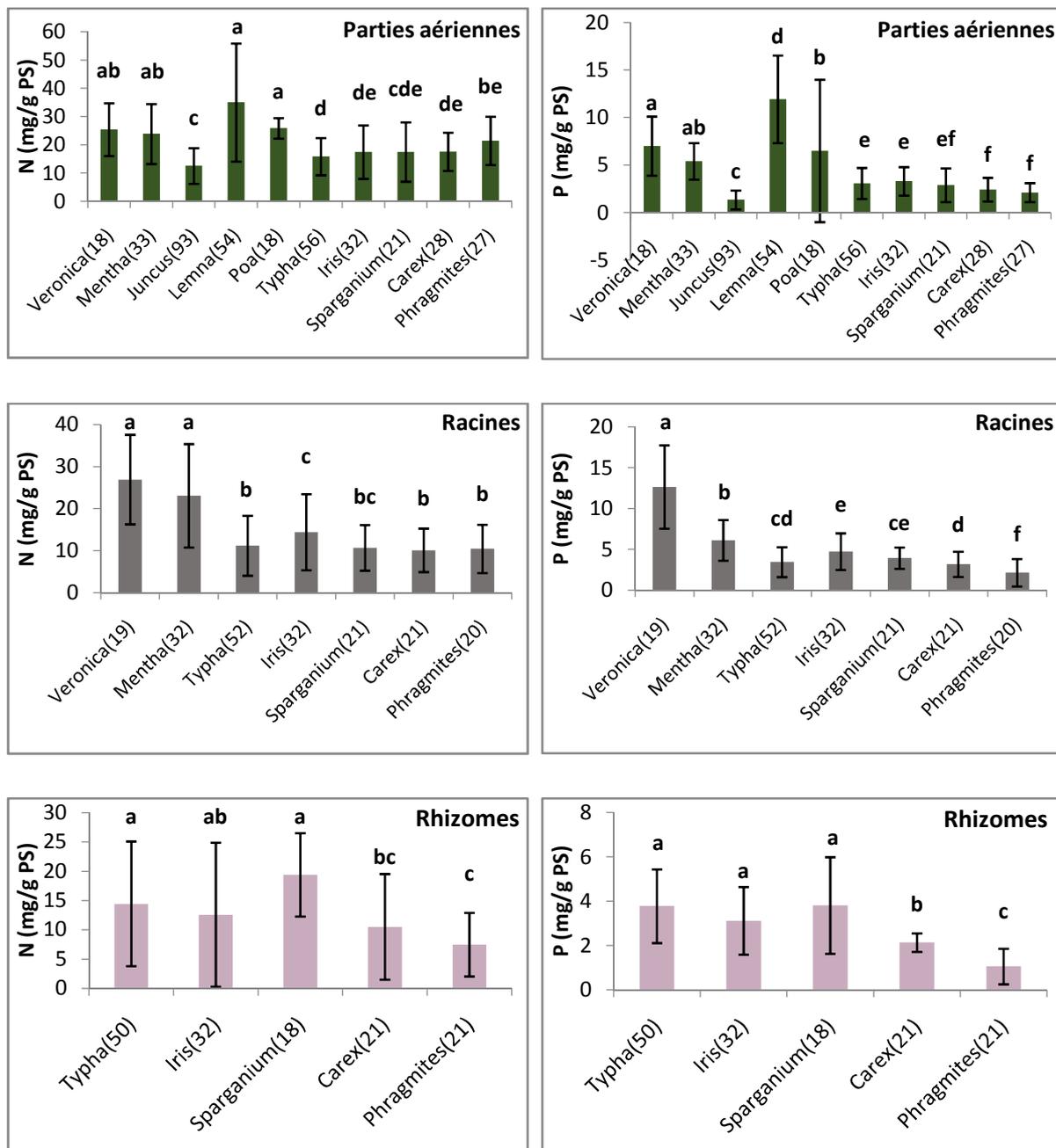


Figure 6-4: Contenu en azote (N) et phosphore (P) en mg/g PS dans les parties aériennes, racines et rhizomes des macrophytes plantés sur le site de Liebsdorf. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). Le nombre entre parenthèses indique la taille de l'échantillon.

Dans notre étude, on note une augmentation moyenne de 33,75% du contenu en azote et de 165% du phosphore par rapport aux milieux « non anthropisés ». Cette augmentation est particulièrement élevée chez *Lemna* et *Veronica* qui sont aussi les espèces qui accumulent le mieux les nutriments.

Dans les racines, les macrophytes retenant le mieux les nutriments, avec un contenu en azote supérieur à 15 mg/g PS et en phosphore supérieur à 5 mg/g PS (**Figure 6-4**), sont *Veronica beccabunga* et *Mentha aquatica* avec un contenu en azote similaire à celui des parties aériennes et un contenu supérieur en phosphore. Pour les autres espèces l'accumulation en nutriments est à peu près équivalente excepté pour *Phragmites* qui a un contenu en phosphore particulièrement bas (2,15 mg/g PS). Dans les rhizomes, les macrophytes retenant le mieux les nutriments, à savoir un contenu en azote supérieur à 12 mg/g PS et en phosphore supérieur à 3 mg/g PS (**Figure 6-4**), sont *Typha latifolia*, *Iris pseudacorus* et *Sparganium erectum* et l'espèce accumulant le moins est *Phragmites australis* (7,5mg N/g et 1,1 mg P/g). Le contenu moyen en nutriments dans l'ensemble rhizomes/racines de *Typha* (1,28%N et 0,36%P), *Sparganium* (1,5%N et 0,39%P) et *Phragmites* (0,89%N et 0,16%P) est largement supérieur dans les ZTVs à celui observé dans le milieu naturel avec 0,67%N et 0,17%P pour *Typha*, 0,83%N et 0,23%P pour *Sparganium* (Puriveth, 1974) et 0,61%N et 0,04%P pour *Phragmites* (Ennabli and Radoux, 2006)

1.3 Ratio N/P (Figure 6-5)

Le ratio N/P est un indicateur de l'élément déterminant et donc du facteur limitant pour leur croissance. Koerselman and Meuleman (1996) rappelle qu'un ratio N/P>16 indique que le phosphore est le facteur limitant alors qu'un ratio N/P<14 indique un manque d'azote et que sur 40 études réalisées, seule une avait démontré un ratio N/P non représentatif des conditions limitantes.

La majorité des espèces ont un ratio N/P moyen inférieur à 10 (3,63<ratio N/P<8,25) excepté pour *Juncus* sp et *phragmites australis* (12,88 et 11,33 respectivement) Le ratio médian est particulièrement bas pour *Veronica* et *Lemna* (4,19 et 3,29 respectivement). On constate de fortes variations pour les espèces *Juncus*, *Iris*, *Phragmites* et *Carex*. Les espèces ayant un rapport N/P inférieur à 14, en prenant en compte l'écart-type, sont *Veronica*, *Mentha*, *Typha*, *Lemna* et *Sparganium*.

Dans notre étude, deux hypothèses pourraient expliquer ce ratio N/P bas: i) l'azote est le facteur limitant notamment à Liebsdorf où l'effluent est faiblement concentré en ammonium, cependant les apports en nitrates sont importants, forme la plus souvent assimilée par les plantes. ii) le phosphore apporté dans les ZTVs est toujours en quantité largement supérieure aux besoins de la plante iii) certains macrophytes sont capables de stocker plus de phosphore qu'ils n'en ont réellement besoin, phénomène connu sous le terme de « luxury uptake » qui a été aussi observé chez les bactéries, certaines espèces d'algues dans des lagunes (Powell et al., 2008) et des espèces de plantes aquatiques telle que *Pistia stratiotes* (Shardendu et al., 2012). Ces espèces seraient de bons candidats à la rétention du P et donc à l'élimination du P de la ZTV sous condition de récolte à la fin du cycle de végétation.

Tableau 6-1: Contenu moyen en azote et phosphore (%PS) dans les parties aériennes d'espèces macrophytes collectées dans la ZTV de Liebsdorf, et dans des zones humides naturelles.

Espèces	Zones Tampon Végétalisées		Zones humides naturelles		
	N (%PS)	P (%PS)	N (%PS)	P (%PS)	Références/type de zone humide
<i>Carex sp</i>	1,8	0,24	1,23	0,09	(Güsewell and Koerselman, 2002)/marais (Pulou, 2011)/ancienne cressonnière
<i>Mentha aquatica</i>	2,4	0,5	1,4	0,14	(Güsewell and Koerselman, 2002)
<i>Veronica anagalis</i> (Meyer)			2,9	0,47	(Meyer, 2012)/ bras restauré du Rhin
<i>Veronica beccabunga</i> (ZTV)	2,5	0,7			
<i>Lemna trisulca</i> (Meyer)			3,2	0,37	(Meyer, 2012)/ bras restauré du Rhin
<i>Lemna minuta</i> (Pulou)			2,1	0,13	(Pulou, 2011)/ ancienne cressonnière
<i>Lemna minor</i> (ZTV)	3,5	1,19			
<i>Typha latifolia</i>	1,6	0,31	1,12	0,12	(Boyd, 1970)/ bassin de rétention d'eau (Pulou, 2011)/ ancienne cressonnière
<i>Iris pseudacorus</i>	1,75	0,33	1,32	0,18	(Ennabili and Radoux, 2006)/ marais
<i>Sparganium erectum</i>	1,75	0,29	1,12	0,15	(Puriveth)/marécage
<i>Phragmites australis</i>	2,15	0,2	1,96	0,12	(Ennabili and Radoux, 2006)/Oued (Pulou, 2011)/ ancienne cressonnière
<i>Juncus sp</i>	1,26	0,13	1,08	0,07	(Ennabili and Radoux, 2006)/ marais et Oued

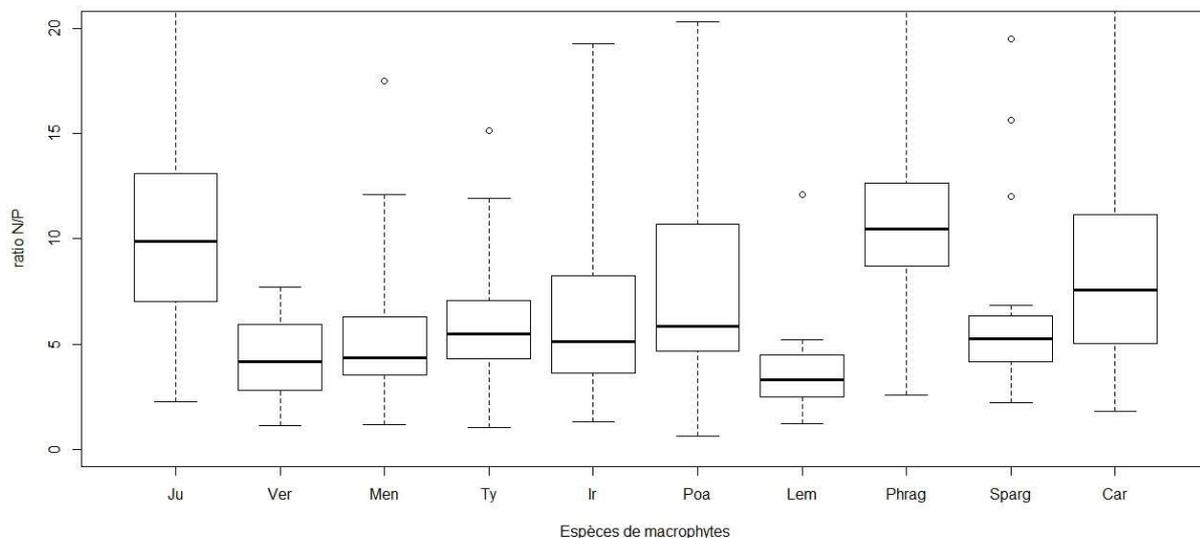


Figure 6-5 : Boîtes à moustache des ratios N/P dans les parties aériennes de *Juncus sp* (Ju, N=95), *Veronica beccabunga* (Ver, N=18), *Mentha aquatica* (Men, N=37), *Typha latifolia* (Ty, N=57), *Iris pseudacorus* (Ir, N=32), *Poa palustris* (Poa, N=21), *Lemna minor* (Lem, N=27), *Phragmites australis* (Phrag, N=28), *Sparganium erectum* (Sparg, N=24) et *Carex acutiformis* (Car, N=29).

1.4 Biomasse aérienne

La biomasse des héliophytes a été déterminée en septembre 2014. Une étude préliminaire de la biomasse avait été effectuée en septembre 2013, ce qui a permis d'avoir des données pour *Veronica beccabunga*, l'espèce ayant totalement disparu en septembre 2014. Pour les autres espèces, nous avons retenu les données de 2014. Cependant les biomasses de *Carex acutiformis* et *Juncus sp* n'ont pas pu être déterminées car les espèces étaient réparties en taches ponctuelles et non en bandes.

Les espèces produisant la biomasse la plus élevée sont *Sparganium erectum*, *Typha latifolia* et *Phragmites australis* et celle en produisant le moins est *Poa palustris*. Le calcul de l'azote accumulé par m² montre que les espèces ayant la plus grande biomasse sont celles qui accumulent le plus d'azote notamment *Phragmites* avec 11,4 g/m². On observe cependant que malgré une biomasse moins importante, *Mentha aquatica* accumule une quantité d'azote au m² de 7,4 g, plus importante que celles de *Typha latifolia* et *Sparganium erectum* qui n'accumule en moyenne que 5 g/m². *Veronica* est aussi une espèce à forte capacité d'accumulation quasi équivalente à celle de *Typha* et *Sparganium*, malgré une biomasse 2 à 3 fois plus faible que celle des deux espèces précitées. *Mentha* et *Veronica* sont les espèces accumulant le plus de phosphore alors qu'*Iris* et *Phragmites* sont celles en accumulant le

moins, *Typha* et *Sparganium* ont un contenu en phosphore, évalué par m², intermédiaire (Tableau 6-2).

Ennabili et al. (1998) ont mesuré une biomasse aérienne d'hélophytes, situés en zone côtière, nettement supérieure à celle relevée dans les ZTVs avec 2296 gPS/m² pour *Phragmites australis*, 1293 gPS/m² pour *Sparganium erectum*, 1031 gPS/m² pour *Juncus* sp, 2158 gPS/m² pour *Typha angustifolia* et 44,5 gPS/m² pour *Lemna minor*. On observe une plus grande biomasse produite par *Typha*, *Sparganium* et *Phragmites* que celle produite par *Lemna* et *Juncus*, plus faible au regard des autres espèces. L'étude de la biomasse couplée à l'étude de la rétention des nutriments nous permet de conclure que les espèces *Mentha aquatica*, *Phragmites australis*, *Typha latifolia* et *Sparganium erectum* sont les plus efficaces pour la rétention de l'azote, alors que pour la rétention du phosphore on choisira *Veronica beccabunga*, *Mentha aquatica*, *Typha latifolia* et *Sparganium erectum*.

Tableau 6-2: Biomasse (PS/m²) et contenu en azote (N) et phosphore (P) des parties aériennes des espèces d'hélophytes estimé en Septembre 2014 (excepté *Veronica* dont les données datent de septembre 2013) dans la ZTV de Liebsdorf. Le détail des calculs se trouve en annexe 5.

	<i>Veronica</i>	<i>Mentha</i>	<i>Poa</i>	<i>Typha</i>	<i>Iris</i>	<i>Sparganium</i>	<i>Phragmites</i>
Biomasse (g PS/m²)	175	303	75	564	148	782	470
N g/m²	4,46	7,42	1,93	5,03	2,19	5,03	11,37
P g/m²	1,23	1,48	0,36	0,9	0,36	0,91	0,44

2 Capacité d'accumulation des saules

2.1 Variations temporelles

A Raon, la concentration en azote dans les feuilles et rameaux de saules ne varie pratiquement pas sur la période de végétation. On observe cependant une concentration dans les feuilles un peu plus élevée en juin et beaucoup plus faible en hiver pour les feuilles résiduelles. A Liebsdorf, la concentration en azote dans les feuilles est plus élevée en avril et en juin, et significativement plus faible et comparable les autres mois. Dans les rameaux, la concentration fluctue : elle est plus élevée aux mois de juin, août, septembre et décembre par rapport aux autres mois. (Figure 6-6).

La concentration en phosphore dans les feuilles et rameaux des saules du site de Raon est plus élevée au printemps (mois de mai et juin), puis diminue sur le reste de la période, notamment dans les rameaux. A Liebsdorf, l'accumulation du phosphore varie peu sur la période excepté dans les feuilles au mois d'avril et dans les feuilles et rameaux au mois de juin où on observe une concentration plus élevée avec une variation intra- et interspécifique particulièrement élevée (**Figure 6-7**).

On observe pour les saules, les mêmes tendances que pour les espèces macrophytes avec deux périodes de consommation de nutriments principales à savoir les débuts de printemps et d'été. Au cours de l'été on observe une accumulation des nutriments dans les rameaux.

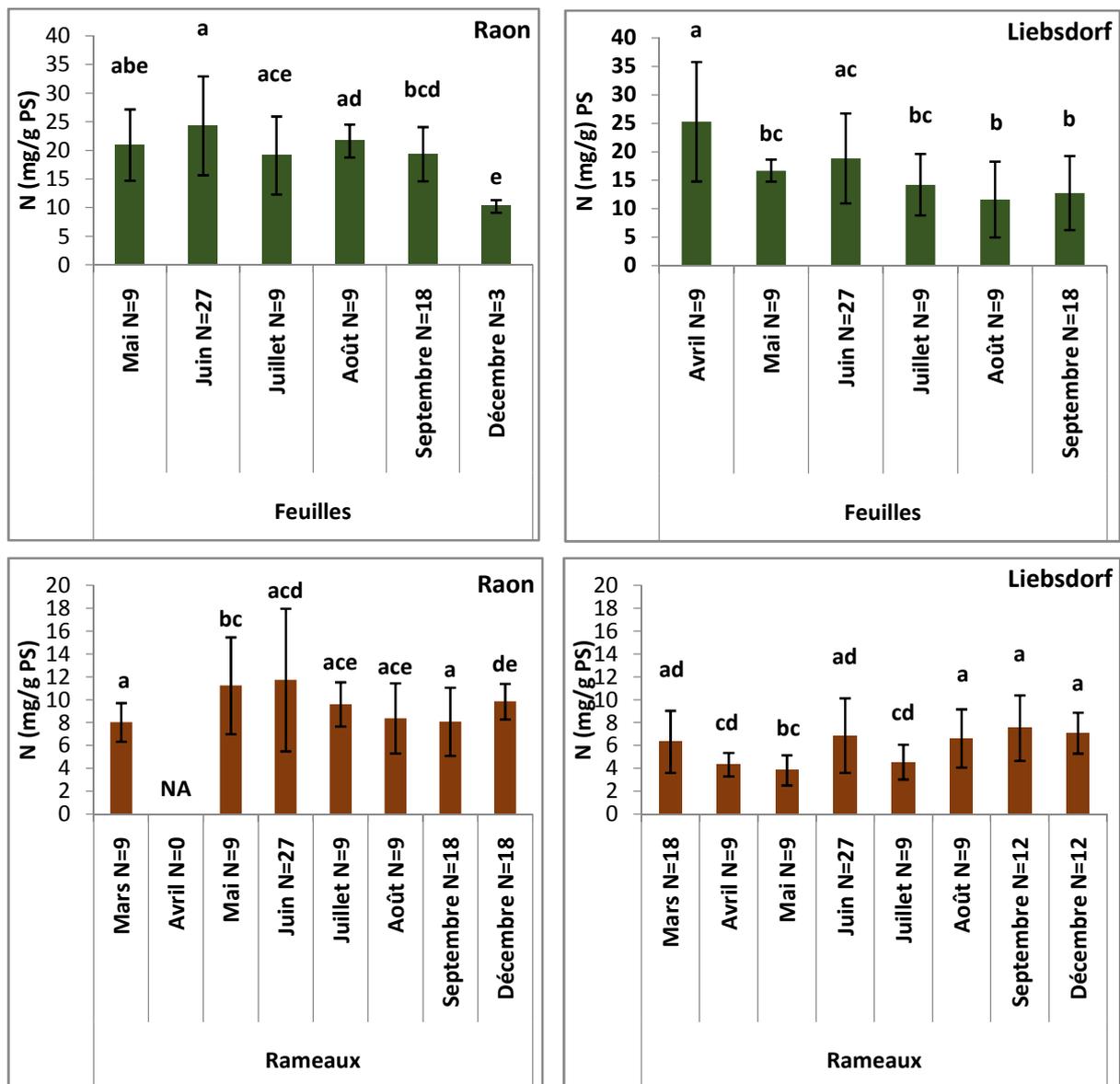


Figure 6-6: Contenu en azote des feuilles et rameaux de saules des sites de Raon et Liebsdorf sur la période de végétation. Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur < 0,05, wilcoxon test). N=Taille de l'échantillon.

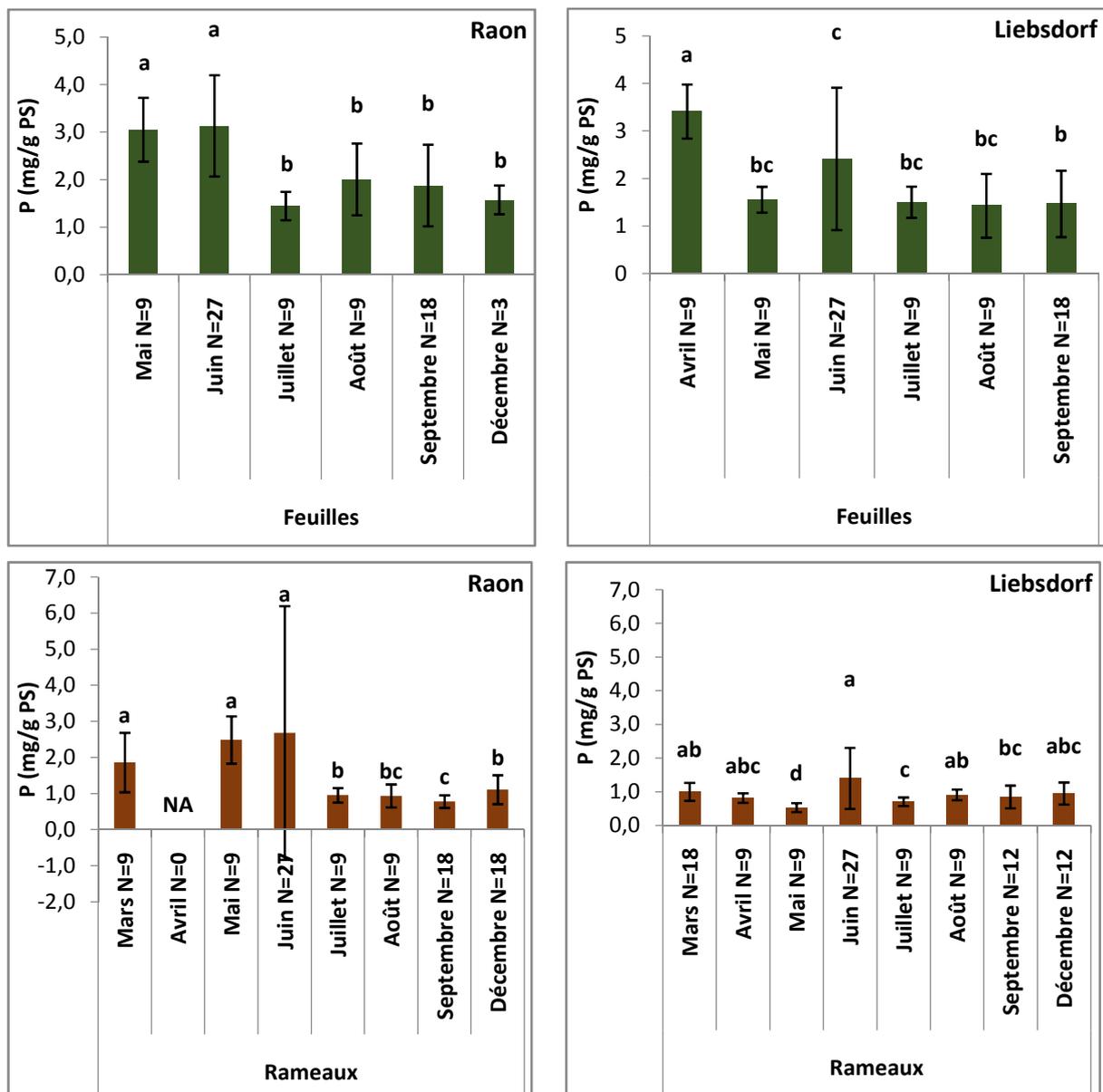


Figure 6-7: Contenu en phosphore des feuilles et rameaux de saules des sites de Raon et Liebsdorf à différents mois. Des lettres différentes marquent une différence significative (p-valeur < 0,05, wilcoxon test). N=Taille de l'échantillon.

2.2 Variations inter-spécifiques et inter-sites (Figure 6-8)

Dans les feuilles de saule, on observe qu'à Raon il n'y a aucune différence significative de rétention de l'azote entre les espèces *Salix viminalis* et *Salix purpurea* avec en moyenne 21 mg/g PS. A Liebsdorf, on note une différence de capacité de rétention de l'azote entre *S. fragilis* (14,1 mg/g PS) et *S. viminalis* (18,7 mg/g PS). Les contenus en azote sont significativement inférieurs à ceux observés à Raon. A Colmar, les trois espèces sont présentes et on n'observe pas de différence significative entre elles ni avec la quatrième espèce présente : *S. triandra*. Le contenu en azote de *S. viminalis* est intermédiaire à Colmar par rapport à Raon et Liebsdorf et celui de *S. fragilis* est bien plus élevé à Colmar qu'à Liebsdorf. En ce qui concerne la capacité de rétention du phosphore dans les feuilles on ne note aucune différence entre *S. viminalis* et *S. purpurea* à Raon et *S. viminalis* et *S. fragilis* à Liebsdorf. Ce contenu est plus faible à Liebsdorf qu'à Raon et intermédiaire à Colmar pour *S. viminalis*. A Colmar, *S. fragilis* est l'espèce qui accumule le plus de phosphore avec 2,96 mg/g PS et *S. triandra* l'espèce accumulant le moins, *S. viminalis* et *S. purpurea* ont des contenus intermédiaires. Comme pour les macrophytes, la capacité de rétention des nutriments des feuilles de saules est supérieure dans les ZTVs avec en moyenne 1,93%N et 0,24%P à celle du milieu naturel avec en moyenne 1,29%N et 0,12%P (Chauvet, 1987; Irons et al., 1988) mais moins élevée que le contenu en azote observé dans d'autres études sous fertirrigation avec 3,29%N et 0,23%P (e.g. Labrecque and Teodorescu, 2001).

Le contenu en azote des rameaux des saules des trois sites est significativement plus bas que dans les feuilles. On ne note à Liebsdorf et à Raon aucune différence de contenu entre les espèces de saules d'un même site. Cependant, comme dans les feuilles le contenu en azote des rameaux est plus faible à Liebsdorf qu'à Raon. A Colmar, les rameaux de *S. fragilis* (9,9 mg/g PS) accumulent plus d'azote que les trois autres espèces présentes avec une moyenne de 7,4 mg/g PS. Le contenu en phosphore des rameaux des trois saules est significativement plus bas que dans les feuilles excepté à Colmar pour *S. triandra* où ce contenu est comparable à celui des feuilles. On ne note à Liebsdorf et à Raon aucune différence de contenu entre les espèces de saules d'un même site. A Colmar, le contenu en phosphore dans les rameaux des quatre espèces de saules est comparable.

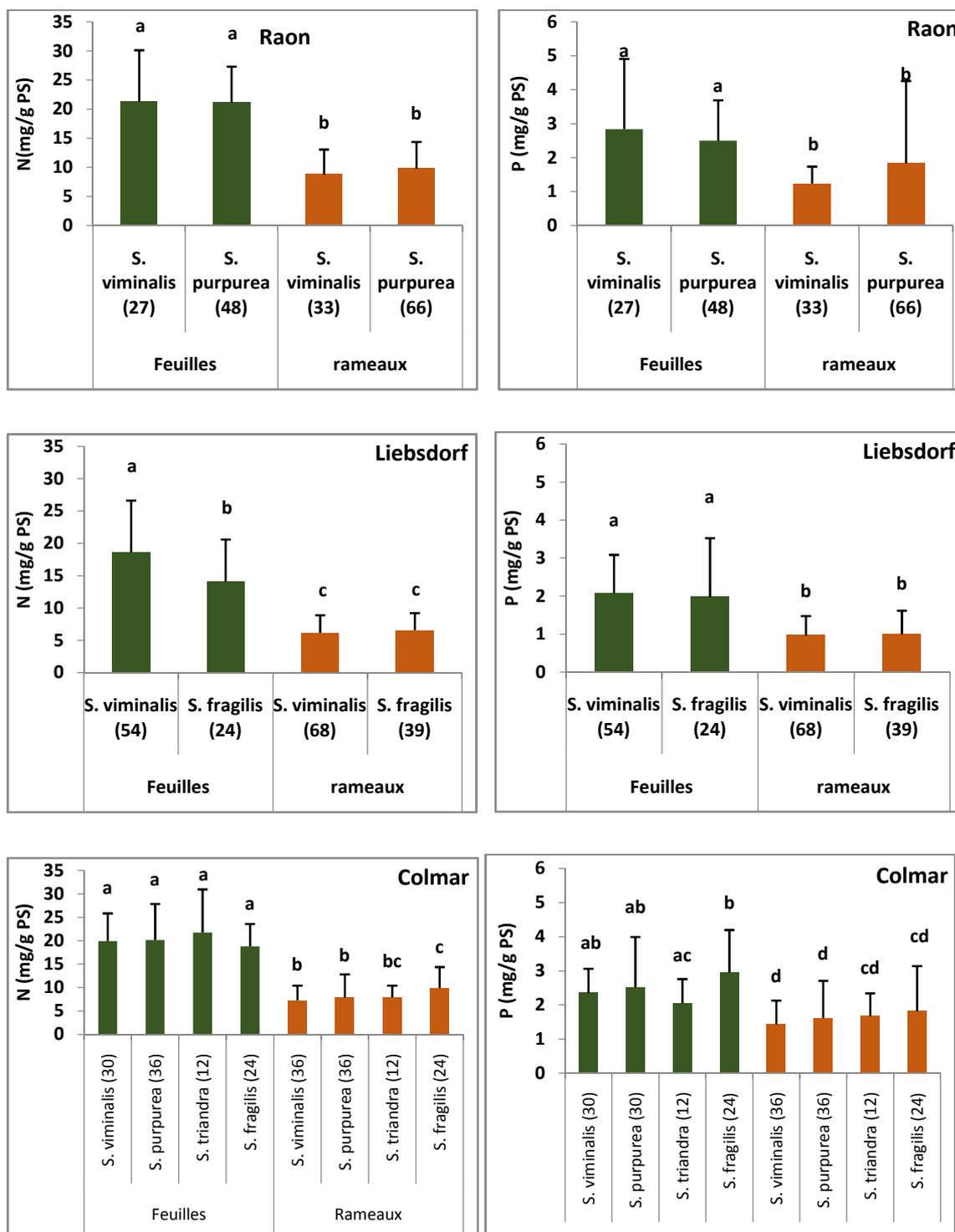


Figure 6-8: Contenu en azote (N) et phosphore (P) en mg/g PS des feuilles et rameaux des espèces de saules plantées sur les sites de Raon, Liebsdorf et Colmar. Des lettres différentes marquent une différence significative (p valeur < 0,05, wilcoxon test). Le nombre entre parenthèses indique la taille de l'échantillon.

La plus forte rétention dans les feuilles et rameaux de saules à Raon par rapport à Liebsdorf, peut être expliquée par le recépage annuel des saules. En effet, après un recépage, le saule doit accumuler une quantité importante de nutriments afin de constituer une nouvelle biomasse aérienne. La comparaison de la capacité de rétention des nutriments des différentes espèces de saules ne montre que peu de différence, à l'exception de *Salix fragilis* qui semblerait être l'espèce la moins efficace dans la rétention des nutriments dans les feuilles mais la plus efficace dans la rétention du phosphore dans les rameaux, Cependant les rameaux accumulant beaucoup moins de nutriments que les feuilles, cette capacité ne semble pas d'une grande influence sur la rétention totale si l'on compare à des espèces comme *Salix viminalis* à plus forte biomasse.

On constate également une capacité de rétention des parties aériennes de saules moins importante que celles des espèces herbacées (macrophytes-hélophytes)

2.3 Ratio N/P

Les espèces de saules de Liebsdorf et Raon ont un ratio N/P moyen aux alentours de 10 marquant une nutrition plutôt optimale des saules dans ces deux ZTVs au regard des apports de N et P. A Colmar, le ratio N/P moyen est un peu plus bas (7,4), démontrant un apport de phosphore trop important au regard de l'apport d'azote d'où un déséquilibre nutritionnel (Rapport Azote nitrique/Phosphore soluble=3). De plus, à Colmar la fertirrigation a été réalisée avec du nitrate qui n'est pas la forme de nutrition préférentielle des végétaux, cependant cette hypothèse est peu concluante puisque les plantes dans des conditions physico-chimiques optimales de croissance, consomment sans problème la forme nitrate (**Figure 6-9**).

2.4 Biomasse aérienne

La biomasse aérienne des saules a été évaluée en Septembre 2014 sur le site de Raon. La biomasse des saules est beaucoup plus importante que celle de l'ensemble des macrophytes. Il existe des différences de biomasse entre les espèces de saules étudiées. *S. viminalis* est l'espèce ayant la biomasse la plus importante, notamment au niveau des branches. Les autres espèces (*S. fragilis*, *S. caprea* et *S.purpurea*) ont une biomasse comparable, excepté *S. purpurea* dont la biomasse des feuilles est plus faible (**Tableau 6-3**). Malgré une capacité d'accumulation plus faible ils seront plus efficaces dans la rétention des nutriments par rapport aux espèces macrophytes du fait d'une biomasse aérienne produite plus grande, avec une efficacité accrue si un recépage est effectué chaque année (**Cf. tableau 6-2 et 6-3**)

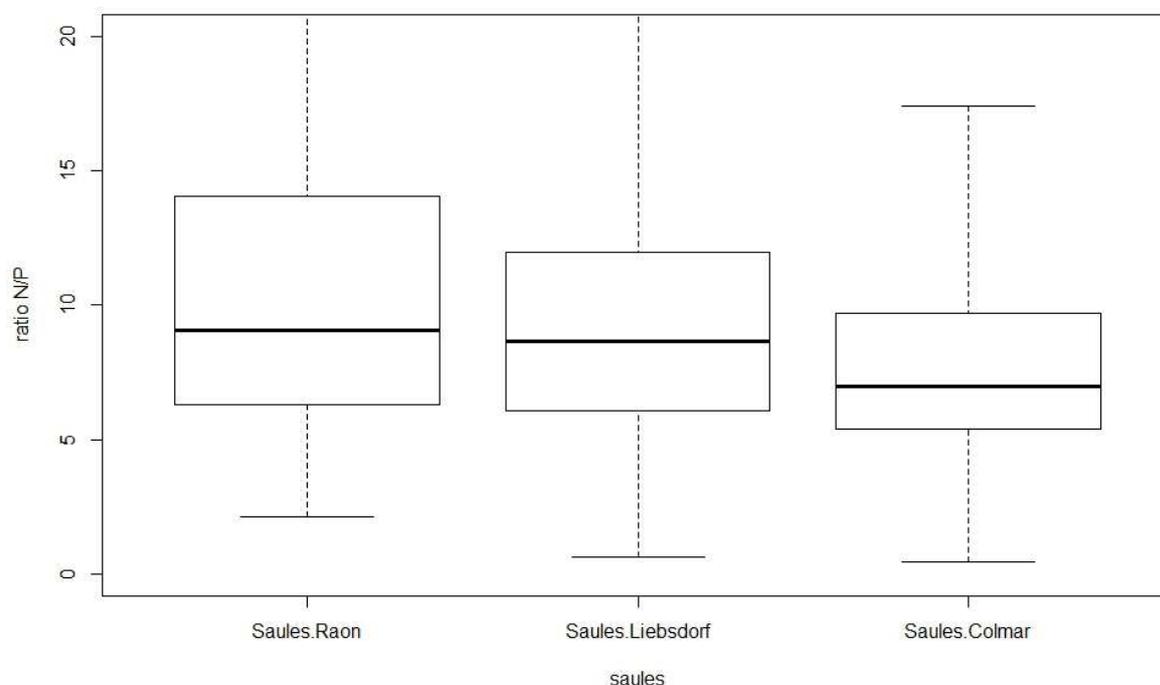


Figure 6-9 : Boîtes à moustache des ratios N/P dans les feuilles de saules de Raon (N=80), Liebsdorf (N=75) et Colmar (N=142).

Tableau 6-3: Biomasse moyenne mesurée en Septembre 2014, et contenu moyen en azote et phosphore d'un individu de saule planté sur le site de Raon. Le détail des calculs se trouve en annexe 6.

	<i>S. purpurea</i>	<i>S. viminalis</i>	<i>S. fragilis</i>	<i>S. caprea</i>
pois feuilles/individu (g)	452	1078	812	899
pois branches/individu (g)	1975	4193	2430	2065
N feuilles (g/individu)	7,3	17,4	13,1	14,5
P feuilles (g/individu)	1,02	2,4	1,8	2
N rameaux (g/individu)	12,5	26,6	15,4	13,1
P rameaux (g/individu)	1,6	3,4	1,9	1,7

2.4.1 Nécromasse (apport de litière) (Tableau 1-4)

Afin d'étudier la part d'azote et phosphore pouvant être réintroduite dans la ZTV par les saules lors de la sénescence, 4 bacs à litière ont été disposés à plusieurs emplacements des ZTVs de Liebsdorf et Raon de Septembre à Janvier 2015. La litière a été ensuite récoltée, séchée et pesée pour obtenir le poids sec. Après broyage, le contenu en azote et phosphore a été déterminé dans les différents échantillons. On rappelle que les saules de la ZTV de Raon ont été recépés tous les ans et alors qu'à Liebsdorf les saules n'ont jamais été recépés. Le premier recépage des saules à Liebsdorf et celui des saules de Raon ont été effectués après la récolte de la litière. La quantité de litière au m² à Liebsdorf est plus importante, malgré une densité plus faible de saules, qu'à Raon démontrant que le recépage annuel des saules même tardif donne une production moins importante de litière. La concentration d'azote dans la litière varie de manière importante (entre 13 et 90 mg/g PS à Liebsdorf et 12 et 66 mg/g PS à Raon) selon l'échantillon alors que la concentration de phosphore reste plutôt stable, aux alentours de 1 mg/g PS dans les deux sites.

Dans le chapitre 3, on a estimé qu'à Raon les saules renaient annuellement 2311 et 326 g d'azote et phosphore respectivement dans la biomasse aérienne (Cf. chapitre 3). Sans recépage avant la période de sénescence, 24% de l'azote et 7,4% du phosphore retenu par les saules retournent à la ZTV. A Liebsdorf, le calcul n'a pas été possible car les quantités d'azote et de phosphore retenues annuellement n'ont pas pu être déterminées.

Tableau 6-4 : Quantité de litière (nécromasse), d'azote et de phosphore contenus dans cette litière au m² dans les zones tampon végétalisées de Liebsdorf et Raon (mesurée en 2015).

	Liebsdorf			Raon		
	Nécromasse (litière)	Quantité d'azote	Quantité de Phosphore	Nécromasse (litière)	Quantité d'azote	Quantité de Phosphore
g/m²	207	11,5	0,22	81,37	2,34	0,10
g/ZTV	29 808	1656	31,7	19 529	561,6	24

3 Protocole non destructif de détermination de la biomasse aérienne des saules

3.1 Méthode

Le but de ce protocole est de pouvoir estimer la biomasse produite par les saules coupés en têtard de manière non destructive. Nous avons retenu comme critères le diamètre basal des tiges, la longueur et le poids de la tige.

Quatre individus de 4 espèces ont été choisis dans la zone tampon végétalisée de Raon (excepté pour *S. viminalis* et *S. purpurea* dont un des individus a été retiré du test en raison de sa non représentativité). Dix tiges (issues du recépage) de tailles représentatives de chacun des saules ont été coupées et séchées. Le poids, la longueur et le diamètre de base de chaque tige ont été déterminés. Le poids moyen d'une tige a été multiplié par le nombre de tiges du saule pour obtenir le poids des 4 saules. Le poids moyen d'un individu de chaque espèce de saule a ensuite été multiplié par le nombre d'individus de l'espèce présent dans la zone tampon végétalisée. Ceci a permis d'estimer une biomasse aérienne (hormis le tronc) totale produite par les saules de la ZTV. En parallèle tous les saules ont été coupés à 50-75 cm du sol, afin d'obtenir la biomasse réelle (uniquement les tiges recépées) produite par les saules du site.

Des résultats concluants sur cette méthode devraient permettre via une estimation représentative du poids sec d'une tige et par extension du poids sec moyen d'un individu d'estimer la biomasse aérienne sèche produite. (Une erreur $\leq 10\%$ sera considérée comme acceptable).

3.2 Résultats et discussion

La **Figure 6-10** montre la corrélation entre le poids sec des tiges et leur longueur. On observe que le coefficient de détermination, représentant le pourcentage des points expliqué par la fonction $y = ax+b$, est inférieur à 50% pour *S. caprea* et *S. viminalis* montrant une corrélation faible entre les deux paramètres. Pour *S. purpurea* le R^2 de 0,76 montre une bonne corrélation des deux paramètres.

La **figure 6-11** donne la corrélation entre le poids sec des tiges et le diamètre de base de tige. Pour toutes les espèces on observe un coefficient de détermination supérieur à 0,80. Il y a donc une bonne corrélation pour ces deux paramètres quelle que soit l'espèce étudiée avec un R^2 maximum de 0,94 pour *S. purpurea*.

Les résultats de ces deux corrélations montrent une corrélation plus forte du poids sec d'une tige avec son diamètre basal qu'avec sa longueur.

Le **Tableau 6-5** donne la biomasse obtenue après coupe des saules de la ZTV de Raon et la biomasse estimée par le protocole étudié. On observe une différence de 5,57% entre les méthodes ce qui est très faible.

De nombreuses études ont proposé des solutions pour déterminer la biomasse des saules de manière non destructive. Ens et al. (2009) ont notamment proposé une analyse optique de photos permettant d'établir la densité des tiges et d'estimer la biomasse, cependant cette technique demande l'obtention d'un matériel précis et coûteux.

D'autres études ont proposé une estimation de la biomasse aérienne des saules à partir du diamètre notamment à 55 cm (Nordh and Verwijst, 2004; Heinsoo et al., 2002; Arevalo et al., 2007), mais ces équations prennent en compte des paramètres tels que l'âge du saule ou le type de clone, paramètres qui ne sont pas toujours connus dans les ZTVs, notamment le type de clone. Notre étude permet donc une estimation plutôt fiable de la biomasse de *S. viminalis*, *S. caprea*, *S. fragilis* et *S. purpurea* coupés en têtards et soumis à une fertirrigation, en s'appuyant sur la relation linéaire forte entre le poids sec d'une tige et son diamètre basal.

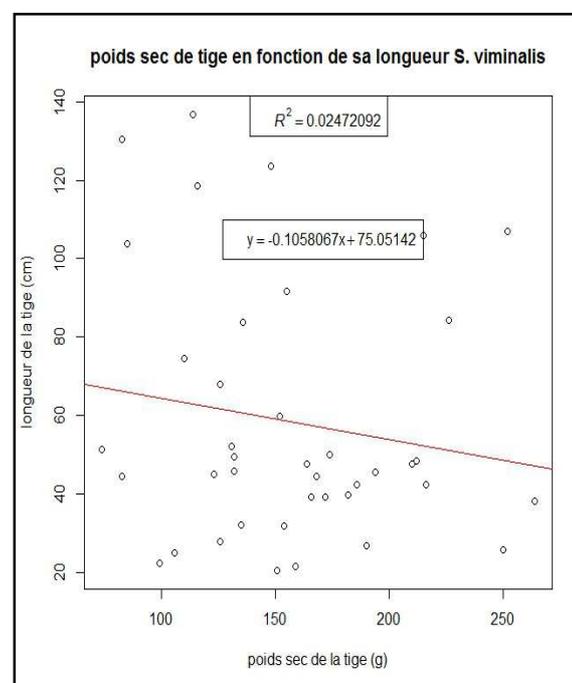
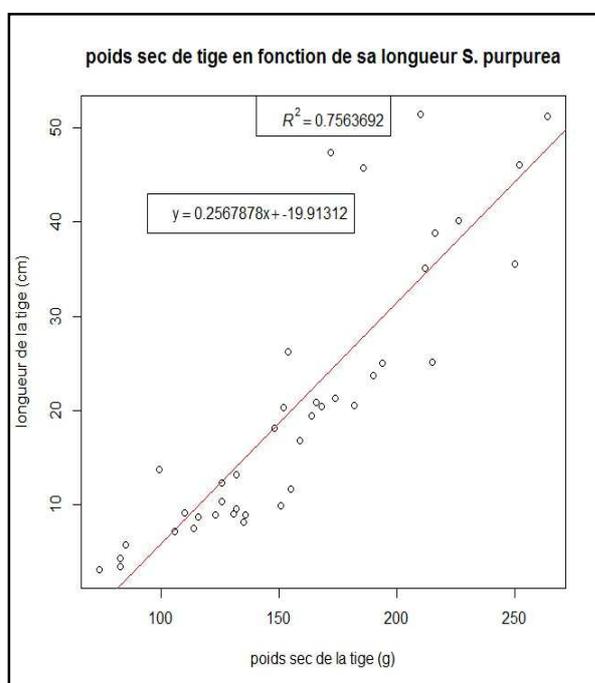
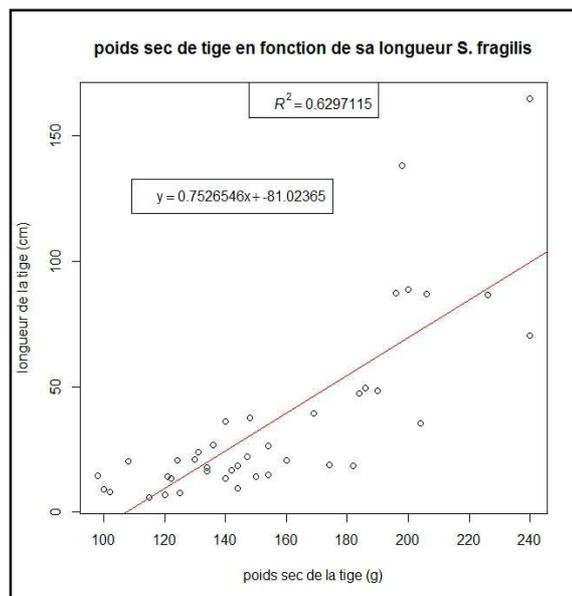
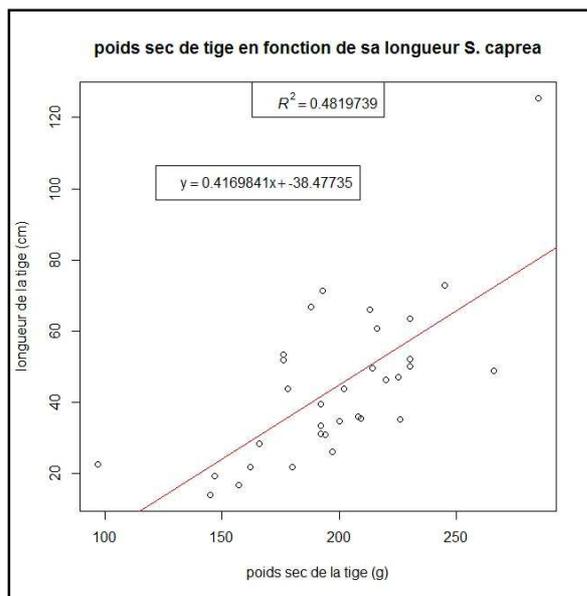


Figure 6-10: Relation linéaire des poids sec des tiges (g) en fonction de leur longueur (cm) pour les quatre espèces de saules présents dans la ZTV de Raon. R^2 = coefficient de détermination. $Y=ax+b$ est la formule expliquant le maximum des points.

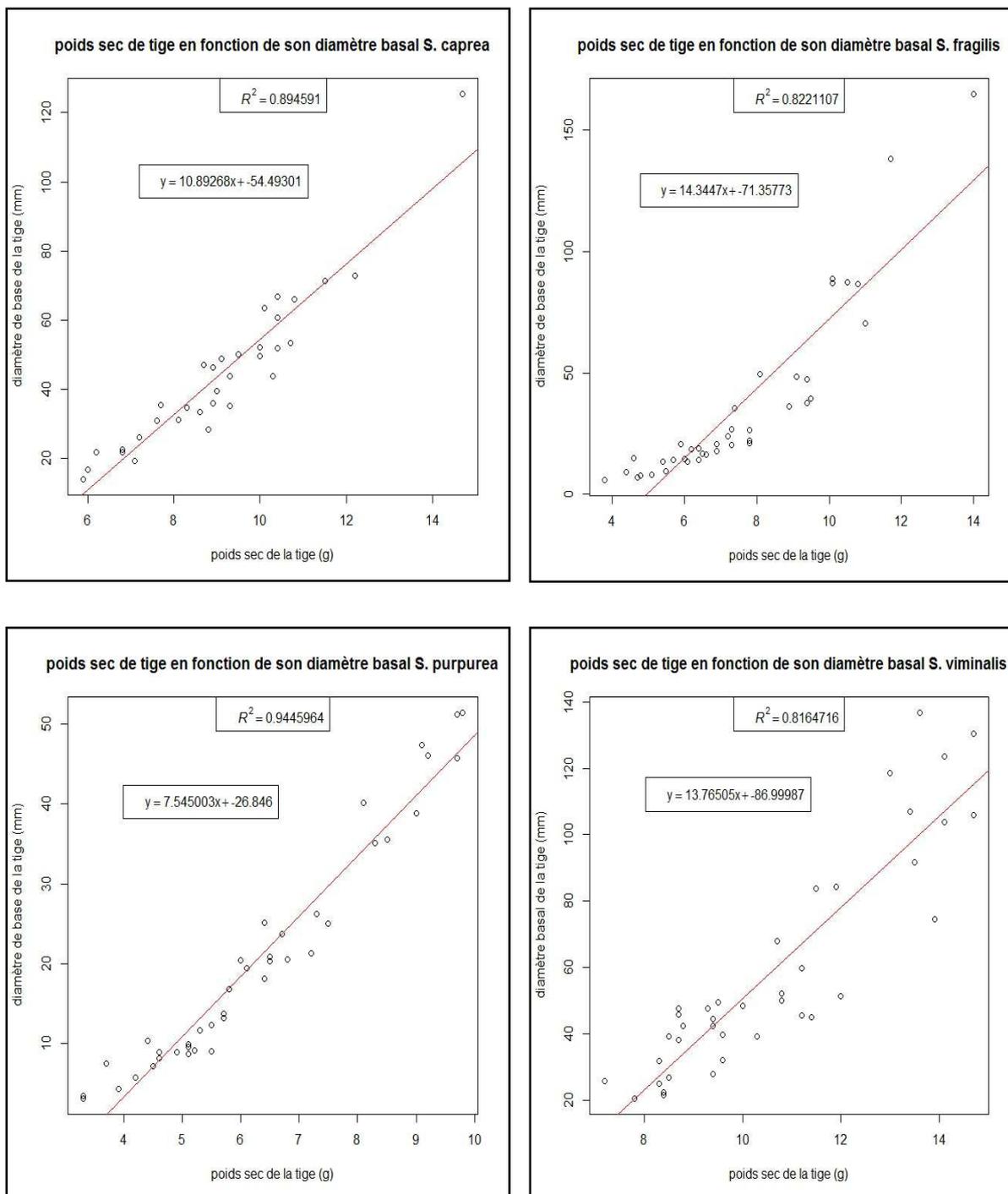


Figure 6-11: Relation linéaire des poids sec des tiges (g) en fonction de leur diamètre basal (mm) pour les quatre espèces de saules présents dans la ZTV de Raon. R^2 = coefficient de détermination. $Y=ax+b$ est la formule expliquant le maximum des points.

Tableau 6-5 : Comparaison entre la biomasse de saule estimée via le protocole testé et la biomasse obtenue après la coupe des saules de la ZTV de Raon pour une surface de ZTV de 240 m².

	Biomasse estimée par le protocole	Biomasse après récolte des saules
Poids sec (g)	283,90	300,61

4 Conclusion

Notre étude a démontré qu'il existait des différences de concentration des nutriments entre les différentes espèces de macrophytes. Les espèces *Mentha aquatica*, *Veronica beccabunga*, *Lemna minor* et *Poa palustris* ont la meilleure capacité de rétention des nutriments et notamment du phosphore sous fertirrigation. La capacité de rétention des herbacées est plus importante que celle des ligneux. Les différentes espèces de saules étudiées ne présentent que très peu de différence de capacité de rétention, excepté pour *S. fragilis* à la capacité plus faible dans les feuilles. Le recépage des saules semble augmenter cette capacité de rétention. La mesure de la biomasse aérienne a permis de déterminer les espèces capables d'assimiler le plus de nutriments. Malgré une concentration en nutriments moins élevée dans les saules au regard de certaines espèces macrophytes, leur importante biomasse, notamment pour *Salix viminalis*, en font les meilleurs acteurs de la rétention des nutriments. Cependant les saules étant plantées en bordure de noues, la plantation d'espèces herbacées à l'intérieur de ces dernières semblent un bon complément de rétention. Dans cette optique, les espèces les plus efficaces de par leur concentration élevée en nutriments et leur forte production de biomasse sont *Mentha aquatica*, *Veronica beccabunga*, *Typha latifolia* et *Sparganium erectum*. La période de forte assimilation des nutriments semble être en début de développement allant de l'hiver (Janvier) pour les espèces les plus précoces au début du printemps (Mars voire Avril) et le milieu du cycle de développement correspondant au début de l'été (Juin). L'étude de la litière a démontré que sans recépage des saules, une quantité non négligeable de nutriments était réintroduite dans la zone tampon végétalisée, ce qui indique que la meilleure période de récolte des plantes est la fin de l'été jusqu'au début de l'automne avant la période de senescence.

Chapitre 7

Bilan des transferts de nutriments au sein des ZTVs et perspectives

1 Bilan des transferts d'azote et phosphore dans les ZTV

Avec l'augmentation de la population humaine non seulement les besoins en eau ont augmenté mais aussi la pollution de cette dernière. La préservation de l'eau est donc un enjeu majeur de notre époque. La pollution azotée et phosphorée de l'eau peut avoir des conséquences sur la santé humaine et sur l'environnement avec notamment le phénomène d'eutrophisation des eaux. L'une des sources possible d'azote et phosphore est le rejet des effluents de sortie de STEP dans le milieu récepteur. Les zones humides, longtemps ignorées voire éliminées, ont démontré des capacités de rétention des nutriments et de protection des eaux de surface et souterraines, menant au développement de zones humides construites, utilisées en traitement primaire, secondaire et tertiaire des eaux usées. C'est dans ce contexte qu'ont été créées les zones tampons végétalisées, zones d'infiltration plantées d'espèces végétales où la rétention de l'eau et des nutriments est attendue afin de protéger le milieu récepteur. Malgré un engouement de ce type de traitement depuis le début des années 2000, très peu d'études ont permis de vérifier le fonctionnement de ces ZTVs du point de vue des transferts de l'azote et du phosphore. C'est dans l'optique de mieux comprendre ces transferts qu'a été initiée cette étude qui a permis de répondre aux différentes questions posées lors du début du projet.

La zone tampon végétalisées a-t-elle un impact réel sur les concentrations et les flux d'eau et de nutriments en provenance d'une STEP végétalisée?

La zone tampon végétalisée a démontré un impact réel sur le flux des effluents venant de la STEP, que ce soit par une baisse des flux comme observé à Raon/Plaine où l'entièreté de l'effluent est infiltrée, alors qu'il y a une augmentation de ces derniers à Liebsdorf. Plusieurs paramètres sont impliqués dans la variation des flux d'eau au sein des ZTVs. Le premier est la texture et la perméabilité du sol. Un sol sableux comme celui de la ZTV de Raon avec une perméabilité importante d'en moyenne 1500 cm/jour a un impact sur la réduction des flux hydriques bien plus important qu'un sol argileux comme celui de Liebsdorf avec une perméabilité d'en moyenne 30 cm/jour (Chapitre 3). Bien que la réduction des volumes d'eau rejetés

dans le milieu récepteur soit l'un des objectifs des ZTVs, une perméabilité trop importante ne doit pas être un critère de choix. En effet, l'étude menée à Colmar sur un sol limoneux de perméabilité moyenne de 150 cm/jour, a montré la présence de quantités de nitrate importantes encore à 1 mètre de profondeur, démontrant un lessivage des nitrates (Chapitre 4). Si à Colmar, une rétention des nitrates dans le sol a pu être observée, celle-ci est due au caractère sec du sol renforcé par la présence des saules et leur forte capacité d'évapotranspiration, avec des irrigations faibles, ce qui n'est pas le cas dans une ZTV en activité placée à la suite d'une STEP toujours en eau. Un autre paramètre est la surface de la ZTV souvent insuffisante par rapport aux volumes apportés. Ce n'est pas le cas à Raon avec une surface de 170 m² (0,65 m²/EH) et une charge hydraulique de 50m³/j: au regard de la perméabilité du sol à Raon la ZTV peut infiltrer jusqu'à 2550 m³/jour. Une ZTV comme à Liebsdorf, où le sol argileux limite le lessivage des nitrates, serait sous dimensionnée avec une surface de 152 m² (0,43 m²/EH), une charge hydraulique moyenne de 83 m³/jour et une capacité d'infiltration de seulement 51 m³/jour en moyenne. Un dimensionnement de 1,66 m²/EH apparait être un minimum pour une rétention totale de l'effluent sur un sol argileux (Chapitre 2 et 3). Enfin, un dernier paramètre à prendre en compte est l'hydraulique du site: Par exemple la localisation de la nappe qui si elle est proche de la surface du sol peut être polluée par les nitrates, mais aussi remonter et empêcher l'infiltration de l'eau et même induire un flux hydrique supplémentaire. A Liebsdorf, le débit plus important à l'aval qu'à l'amont de la ZTV, démontre un apport supplémentaire d'eau non identifié (nappe, ruissellement,...).

Les paramètres ci-dessus ont un impact direct sur la baisse de la concentration des nutriments, azote et phosphore, dans les noues, notamment en agissant sur le temps de rétention hydraulique, paramètre majeur dans la rétention des nutriments (Chapitre 3). La baisse de la concentration en nitrate à Raon démontre une possible dénitrification avec absence de nitrification voire même une production d'ammonium par réduction dissimilative du nitrate en ammonium. Ainsi, l'élimination des nutriments est due majoritairement à l'infiltration de l'eau, protégeant le milieu récepteur de surface, qui est de bonne qualité en sortie de la station. Dans les conditions particulières de cette ZTV on ne peut cependant pas conclure qu'une pollution des eaux souterraines et par extension du cours d'eau n'apparait pas plus en aval du point de prélèvement. A Liebsdorf, la baisse des concentrations en nitrate et en ammonium dans une des noues, induite par une nitrification et dénitrification partielle, pourrait être augmentée avec un flux d'eau plus adapté à la surface de la station et donc un temps de rétention plus long et un volume rejeté plus faible. Cependant, les conditions optimales d'une noue par rap-

port à l'autre dans une ZTV ne mènent pas forcément à une meilleure qualité de l'eau en sortie de la zone, comme cela a été montré à Liebsdorf où la qualité du cours d'eau est nettement impactée par des apports de phosphate, entraînant un risque d'eutrophisation (chapitre 1 et 3).

Quel est le rôle du compartiment microbien (nitrification-dénitrification)?

La biomasse bactérienne totale dans les ZTV est importante avec une variation spatiale entre une biomasse nitrifiante abondante en surface (0-5 cm) et une biomasse dénitrifiante plus importante en profondeur (20-30 cm), même si elle l'est moins que celles relevées dans d'autres types de zones humides plus ou moins artificialisées. Une dénitrification potentielle a bien été mise en évidence dans les ZTVs et s'explique par la saturation en eau de ce type de système provoquant une anaérobiose, par des quantités de carbone organique importantes apportées par les végétaux et par l'effluent : ce processus est particulièrement marqué à Raon où la STEP végétalisée est encore chargée de matière organique et d'azote ammoniacal (ammonium). L'observation d'une nitrification potentielle dans ce type de milieu semble plus aléatoire de par les conditions aérobies indispensables à ce processus notamment en subsurface. En effet, l'oxygène est le facteur majeur limitant le développement de la biomasse bactérienne totale et des processus de nitrification-dénitrification : i) Ainsi la décomposition de la matière organique qui fournit le C organique aux bactéries est favorisée dans des conditions aérobie, ii) la saturation en eau du sol sur un substrat imperméable induit des conditions anaérobies. Dans les ZTV où les contacts directs sédiment/atmosphère sont rares et plutôt dus à des dysfonctionnements comme dans une des noues de Raon, le taux d'oxygène dissous dans l'effluent joue un rôle majeur. Ainsi, un sol argileux avec un effluent bien oxygéné aura un taux de nitrification plus élevé qu'un sol sableux avec un effluent anoxique. Les taux de nitrification et dénitrification potentielles (chapitre 6) expliquent les variations de concentrations observées dans les ZTV de Raon et Liebsdorf (chapitre 3), prouvant que ces deux phénomènes ont un impact majeur dans les transferts de nutriments des ZTV, et démontrant le rôle primordial du compartiment microbien. En effet, lorsque les conditions sont favorables au processus de nitrification, ce dernier est susceptible de transformer en nitrate la totalité de l'ammonium apporté, alors que le processus de dénitrification dans les conditions observées dans les ZTVs étudiées a un impact plus faible sur les transferts azotés et ne permet pas une élimination de plus de 20% des quantités d'azote nitrique apportées. Cependant, les autres processus tels que la volatilisation de l'ammoniac, l'Anammox et la RDNA ont souvent été observés dans les zones humides mais en moindre proportion (Fernandes et al., 2016; Zhou et

al., 2016; Sgouridis et al., 2009; Sgouridis et al., 2011). Mais elles n'ont pas été étudiées dans les ZTVs.

Quel est l'impact des végétaux sur les transferts de nutriments des ZTVs? La densité et le recépage des saules modifient-ils l'efficacité des végétaux ? Y a-t-il un compartiment plus efficace entre le sol et la végétation dans la rétention des nutriments?

La végétation a un impact sur les processus microbiologiques en augmentant la quantité de matière organique, indispensable au développement de la biomasse bactérienne. Elle permet aussi la formation de zones aérobies au niveau de la rhizosphère dans des sols anaérobies, assurant la possibilité d'une nitrification dans ce type de sol, et produisant au contact de la racine, du nitrate qui va pouvoir être dénitrifié dans le même espace. La rhizosphère est aussi connue pour être une zone privilégiée pour la fixation et la croissance des microorganismes (Brix, 1997). La plantation des saules permet une réduction des flux d'eau de par leur capacité forte d'évapotranspiration et favorise la rétention des nutriments dans le sol en limitant le lessivage soit par blocage au niveau microbien soit par absorption. La rétention des nutriments dans les macrophytes et les saules des ZTVs est supérieure à celle observée dans des zones humides plus ou moins soumises aux interventions humaines, notamment pour le phosphore qui semble être assimilé au-delà des quantités dont la plante a réellement besoin. Cette consommation de luxe explique les ratios N/P faibles (<14) notamment dans les espèces retenant le mieux les nutriments telles que *Mentha aquatica*, *Veronica beccabunga*, *Poa palustris* et *Lemna minor*. Ce ratio est utilisé pour mettre en évidence le facteur limitant de la croissance végétale et l'existence ou le maintien d'un équilibre nutritionnel. En fonction des apports. Ici se pose la question d'une transposition du ratio de Redfield (N/P=16 dans une relation stœchiométrique) étudié dans les eaux océaniques et marines aux milieux aquatiques terrestres. La capacité de rétention des nutriments des différentes espèces est à mettre en lien avec leur production de biomasse pour déterminer les espèces les plus efficaces dans la rétention – stockage- des nutriments. Les espèces les plus efficaces sont *Typha latifolia*, *Sparganium erectum* et *Mentha aquatica* pour l'azote et *Mentha aquatica* et *Veronica beccabunga* pour le phosphore. Cependant pour que cette capacité de rétention soit efficace pour l'élimination des nutriments il faut exporter les parties aériennes des macrophytes avant la sénescence. La récolte régulière des parties aériennes d'espèces comme *Mentha aquatica* peut entraîner une disparition de l'espèce, *Typha latifolia* et *Sparganium erectum* seront alors préférés (Chapitre 5). Cependant, on a observé qu'*Iris pseudacorus* commençait déjà sa croissance en hiver, cette espèce pourrait être choisie pour pallier à l'absence de végétation et la réduction de

l'activité microbiologique pendant les périodes les plus froides. Pour les saules, il n'y a pas de différence de concentration en nutriments entre les différentes espèces excepté pour *S. fragilis* qui accumulerait moins d'azote dans les feuilles. L'espèce *S. viminalis* est celle produisant la plus grande biomasse (Chapitre 5), ce qui explique la biomasse particulièrement importante dans la noue A témoin non fertirriguée à Colmar, où *S. viminalis* domine (Chapitre 4). Même si toutes les espèces de saules ont une capacité de rétention plus importante que les macrophytes, on préférera la plantation de *S. viminalis* à la biomasse double par rapport aux autres espèces de saule étudiées et donc à l'efficacité d'élimination des nutriments (si recépés) double.

L'hypothèse que la densité doublée des saules (noue D) augmenterait la production de biomasse et donc la part d'azote et phosphore éliminée n'a pas été validée. En effet on n'a pas constaté d'augmentation marquée de biomasse dans la noue D de Colmar probablement à cause de la différence d'âge des saules (jeunes plants mis en place en début de l'étude à côté d'individus de plus de 6 ans d'âge et d'une proportion élevée de *Salix purpurea* à la biomasse plus faible que les autres espèces. Le recépage a un rôle primordial puisqu'il empêche le relargage dans le sol des nutriments stockés dans les parties aériennes pendant la période de végétation. En effet, l'étude de la litière a montré que sans recépage des saules avant la sénescence, une part importante d'azote et phosphore prélevée par les plantes pouvait être réintroduite dans la ZTV, amoindrissant ainsi le rôle des saules dans la rétention des nutriments. De plus, on a montré une capacité de rétention des nutriments supérieure dans les saules recépés notamment dans les rameaux, et une production de biomasse annuelle supérieure par rapport aux saules non recépés (chapitres 3 et 5).

L'étude phénologique des espèces macrophytes et ligneuses a démontré plusieurs phases de nutrition des végétaux. Ainsi le début de printemps (voire même l'hiver pour les espèces persistantes) et le début d'été correspondraient aux périodes de consommation majoritaire des nutriments du sol par les plantes, avec une forte variation intra-spécifique à ces périodes, menant à des concentrations élevées en nutriments dans les différents organes de la plante. Ces périodes seraient ensuite suivies d'une période de croissance, à faible variabilité intraspécifique, pendant laquelle la concentration en nutriments baisse par un effet de dilution des nutriments prélevés. Une tendance à la translocation des nutriments des feuilles vers les organes pérennes en septembre, avant la sénescence, a aussi été plusieurs fois observée.

Dans le chapitre 3, on a montré le rôle mineur des végétaux dans l'élimination des nutriments au regard des quantités importantes apportées. Et dans le chapitre 4, on a constaté que l'irrigation des saules avec l'eau du réseau faiblement chargée en azote et phosphore suffisait à la nutrition des saules, et qu'à cette condition le saule avait un rôle significatif dans la rétention des nutriments, or les quantités apportées dans les ZTVs en activité sont bien plus élevées (environ 1500 fois plus pour l'azote et 2500 fois plus pour le phosphore). Dans les ZTVs, les apports en nutriments sont donc trop élevés pour que les plantes aient un impact significatif sur la rétention des nutriments. Au contraire, on observe un rôle important du sol dans la rétention des nutriments notamment du phosphore qui se lie aux particules du sol dès la surface évitant ainsi un lessivage vers les eaux souterraines (Chapitres 3 et 4). Cette capacité de rétention dépend du contenu en carbonate, calcium, manganèse, oxydes et hydroxydes de fer et aluminium (Reddy et al., 1999), mais reste limitée pouvant conduire en cas de saturation à un relargage du phosphore.

2 Proposition de mesures de construction et de gestion pour une amélioration du fonctionnement d'une ZTV

Avant l'implantation d'une zone tampon végétalisée, il paraît impératif de réaliser une étude de la texture et de la structure du sol, ainsi que de l'hydraulique de la parcelle voire des alentours pour éviter des apports hydriques supplémentaires dans la zone. Si la nappe est trop proche, une autre solution de traitement tertiaire devrait être envisagée. Une texture argileuse du sol sera préférée à un sol sableux et trop filtrant. En cas de sol sableux, l'ajout d'une couche plus argileuse, dont l'épaisseur reste encore à étudier, pourrait être apportée pour réduire les risques de lessivage. L'étude a démontré l'importance de la surface sur l'efficacité des ZTVs dans la réduction des nutriments, notamment pour augmenter le temps de rétention de l'effluent. L'utilisation d'une pente moins importante pourrait avoir un effet positif sur le temps de rétention ainsi que la mise en place d'un dispositif de mise en eau avec un système comparable aux filtres plantés de roseaux à écoulement horizontal plutôt que d'installer le tuyau de sortie en fond de noue (cas de Liebsdorf). Une végétation de type héliophytes rhizomateux (*Typha*, *Sparganium*, *Iris*,...) doit être plantée à l'intérieur des noues pour améliorer les conditions microbiologiques, freiner le flux d'eau et retenir une part de nutriments. Pour les saules, l'espèce *Salix viminalis* à croissance rapide et forte production de biomasse doit être préférée. Dans tous les cas un faucardage des héliophytes et un recépage des saules devraient être effectués tous les ans avant la période de sénescence (octobre). Enfin un contrôle du taux d'oxygène dissous dans l'effluent devrait être réalisé, et en cas d'anoxie, un système

d'oxygénation de l'effluent pourrait être mis en place comme cela a été développé pour les lagunes.

3 Perspectives

Cette étude a permis de répondre aux questions posées en début de projet, mais pourrait être améliorée et enrichie pour une meilleure compréhension du fonctionnement des ZTVs

3.1 Amélioration des protocoles

L'étude du site expérimental de Colmar a apporté des informations complémentaires au regard des deux autres stations en activité dans les conditions expérimentales définies au début du projet tels que la rétention des nutriments dans le sol, l'effet de la fertirrigation, de la densité et du recépage des saules. Cependant certains aspects techniques pourraient être améliorés ou modifiés. Le type d'effluent pourrait être modifié avec un enrichissement en ammonium plutôt qu'en nitrate pour vérifier notamment l'effet sur la végétation (l'ammonium étant la forme la plus facilement assimilée) et le sol qui a une capacité de rétention de l'ammonium même si cela est difficile à réaliser par un manque de contrôle des variations de son contenu). Une noue Témoin sans irrigation et ne recevant que de l'eau de pluie pourrait être ajoutée pour vérifier les effets de l'irrigation sans apports en nutriments. L'irrigation pourrait être effectuée sur un mois en continu plutôt qu'une fois par mois pour observer les effets d'une saturation en eau prolongée par rapport à une alternance période d'irrigation/période de ressuage. Ces deux propositions permettraient de se rapprocher du fonctionnement d'une ZTV alimenté en continu par les effluents de STEP. La récupération des eaux à une certaine profondeur pourraient être envisagée pour vérifier le taux d'infiltration et la présence ou non de nutriments en quantités significatives. D'autres espèces ligneuses des zones humides pourraient être comparées comme l'aulne et le peuplier. Enfin, un jeu d'au moins deux bougies et deux tensiomètres contre 1 dans notre étude pourrait être installé pour pallier à des défauts expérimentaux ou à des dégradations.

3.2 Analyse de fonctionnement de ZTV: mise en évidence des processus et facteurs de contrôle

L'étude n'a été menée que sur des ZTVs de type fosses représentant 36% des ZTVs totales, or 34% d'entre elles sont de type bassin, il serait donc utile de transposer cette étude à ce type de ZTV afin d'avoir une connaissance des transferts de nutriments dans tous les types de ZTV et vérifier si l'un de ces types fonctionne mieux que l'autre. On remarque aussi que

les deux stations étudiées, de même type, présentent des caractéristiques différentes de sol, de végétation, de composition physico-chimique de l'effluent, ce qui a permis de mettre en évidence des processus différents (nitrification /dénitrification) et pourtant des paramètres de contrôle similaires (texture du sol, oxygénation...). L'étude d'un nombre plus large de stations pourrait confirmer nos conclusions ou encore révéler des processus de transferts non observés dans les zones étudiées.

Des analyses complémentaires pourraient permettre une meilleure compréhension des processus de réduction des transferts de nutriments dans ces zones humides. Ainsi la dénitrification a été évaluée au travers de la quantification du gène *nirK*: Le gène *nosZ* codant pour l'oxyde nitreux réductase est unique contrairement à *nirK* et *nirS* qui codent tous les deux pour la nitrite réductase: il pourrait être utilisé pour la détermination de la biomasse dénitrifiante réelle plutôt que le gène *nirK*. L'analyse des autres processus microbiologiques de transfert de l'azote tels que la volatilisation de l'ammoniac, l'Anammox et la réduction dissimilative du nitrate en ammonium pourrait être réalisée sur les ZTVs étudiées afin de renforcer les connaissances sur le cycle de l'azote dans les ZTVs type « noues ». Une étude de la composition en carbone organique et minéral du sol permettrait sûrement une meilleure compréhension des variations de biomasse et d'activité microbienne dans les ZTVs. Enfin une étude précise des flux hydrauliques dans la parcelle, dans les eaux souterraines, dans les cours d'eau et aux alentours des deux ZTVs étudiées permettrait de comprendre d'où proviennent les apports supplémentaires en eau à Liebsdorf et d'évaluer le risque de pollution de l'eau souterraine à Raon.

Conclusion

L'objectif principal de ce projet était d'étudier et de déterminer les processus impliqués dans les transferts de nutriments dans des zones tampon végétalisées de types « noues » et d'en préciser les facteurs de contrôle. Les ZTVs ont un impact variable sur la réduction des flux hydriques et des nutriments ; celle-ci dépend de plusieurs paramètres associés : La perméabilité du sol liée à sa texture peut induire une infiltration rapide et totale mais avec des risques de lessivage des nutriments vers la nappe ou au contraire une infiltration lente et faible. Lorsque le sol a une faible perméabilité, la surface de la ZTV joue un rôle primordial sur le temps de rétention hydraulique dont dépendra en partie, la baisse des concentrations en nutriments de l'effluent. L'étude de l'hydraulique et l'hydrologie du site est primordiale pour déterminer la présence ou non d'une nappe, sa position par rapport à la surface des noues et ainsi éviter sa pollution, mais aussi pour préciser les apports externes à la ZTVs et l'écoulement d'eau non apporté par l'effluent. Le compartiment microbien joue un rôle important en réduisant les concentrations en ammonium et nitrate à travers les processus de nitrification et dénitrification. Or ces sites ont une potentialité importante pour ces processus de par un contenu de carbone organique suffisant, mais cette potentialité dépend en grande partie du taux d'oxygénation de l'effluent. La végétation modifie les conditions physico-chimiques du sol au niveau de la rhizosphère (oxygénation, réduction de la teneur en eau par évapotranspiration, baisse de la vitesse d'écoulement de l'effluent), et favorise l'activité microbienne. Son rôle dans la rétention voire l'élimination des nutriments est faible au regard des contenus en azote et phosphore apportés, même si certaines espèces, *Typha latifolia*, *Sparganium erectum* et *Mentha aquatica* pour les macrophytes et *Salix viminalis* pour les saules, ont une meilleure efficacité de rétention des nutriments notamment grâce à leur importante production de biomasse aérienne. Cette efficacité n'est effective que si le matériel aérien est éliminé chaque automne et exporté, induisant une consommation plus importante de nutriments l'année qui suit, chez les saules. Le sol joue un rôle important dans la rétention du phosphore par adsorption sur les particules du sol, cependant une interrogation demeure sur une saturation possible de ce dernier. La meilleure compréhension de ces transferts permet de donner les premières pistes pour une amélioration de l'aménagement et de la gestion des ZTVs.

Références

A

Abou-Hamdan, H., Haury, J., Hebrard, J.-P., Dandelot, S., and Cazaubon, A. Macrophytic Communities Inhabiting the Huveaune (South-East France), a River Subject to Natural and Anthropic Disturbances. *Hydrobiologia* 551, 161–170.

Aleem, M.I.H., and Alexander, M. (1960). Nutrition and Physiology of *Nitrobacter agilis*. *Appl. Microbiol.* 8, 80–84.

Allègre, C., Manhès, G., and Lewin, É. (2001). Chemical composition of the Earth and the volatility control on planetary genetics. *Earth Planet. Sci. Lett.* 185, 49–69.

Anderson, L.D., Delaney, M.L., and Faul, K.L. (2001). Carbon to phosphorus ratios in sediments: Implications for nutrient cycling. *Glob. Biogeochem. Cycles* 15, 65–79.

Andrieux-Loyer, F. (1997). Les formes de phosphore particulaire et sédimentaire en environnement côtier. Méthodes d'analyse, biodisponibilité, échange. Université de Bretagne Occidentale.

Angeloni, N.L., Jankowski, K.J., Tuchman, N.C., and Kelly, J.J. (2006). Effects of an invasive cattail species (*Typha × glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland. *FEMS Microbiol. Lett.* 263, 86–92.

ApSimon, H.M., Kruse, M., and Bell, J.N.B. (1987). Ammonia emissions and their role in acid deposition. *Atmospheric Environ.* 1967 21, 1939–1946.

Arevalo, C.B.M., Volk, T.A., Bevilacqua, E., and Abrahamson, L. (2007). Development and validation of aboveground biomass estimations for four *Salix* clones in central New York. *Biomass Bioenergy* 31, 1–12.

Armstrong, J., and Armstrong, W. (1988). *Phragmites australis*— A preliminary study of soil-oxidizing sites and internal gas transport pathways. *New Phytol.* 108, 373–382.

Aronsson, P.G. (2001). Dynamics of nitrate leaching and ¹⁵N turnover in intensively fertilized and irrigated basket willow grown in lysimeters. *Biomass Bioenergy* 21, 143–154.

B

Bacon, P.E., (1995). Nitrogen fertilization in the environment. *In: Marcel Dekker, Inc.* ISBN: 0-8247-8994-6

Ball, D.F. (1964). Loss-on-Ignition as an Estimate of Organic Matter and Organic Carbon in Non-Calcareous Soils. *J. Soil Sci.* 15, 84–92.

Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., and Azcón, R. (1987). Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Improve Both Symbiotic N₂ Fixation and N Uptake from Soil as Assessed with a ¹⁵n Technique Under Field Conditions. *New Phytol.* 106, 717–725.

- Bendschneider, K., and Robinson, R.J. (1952). A New Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite in Sea Water.
- Bennett, E.M., Carpenter, S.R., and Caraco, N.F. (2001). Human Impact on Erodable Phosphorus and Eutrophication: A Global Perspective Increasing accumulation of phosphorus in soil threatens rivers, lakes, and coastal oceans with eutrophication. *BioScience* 51, 227–234.
- Biao, X., Zhuhong, D., and Xiaorong, W. (2004). Impact of the intensive shrimp farming on the water quality of the adjacent coastal creeks from Eastern China. *Mar. Pollut. Bull.* 48, 543–553.
- B.-M. Vought, L., Pinay, G., Fuglsang, A., and Ruffinoni, C. (1995). Structure and function of buffer strips from a water quality perspective in agricultural landscapes. *Landsc. Urban Plan.* 31, 323–331.
- Bollmark, L., Sennerby-Forsse, L., and Ericsson, T. (1999). Seasonal dynamics and effects of nitrogen supply rate on nitrogen and carbohydrate reserves in cutting-derived *Salix viminalis* plants. *Can. J. For. Res.* 29, 85–94.
- Börjesson, P., and Berndes, G. (2006). The prospects for willow plantations for wastewater treatment in Sweden. *Biomass Bioenergy* 30, 428–438.
- Bot, A. and Benites J., (2005). The importance of soil organic matter: key to drought-resistant soil and sustained food production. *In: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome (Eds.). ISBN: 92-5-105366-9*
- Bouraoui, F., and Grizzetti, B. (2011). Long term change of nutrient concentrations of rivers discharging in European seas. *Sci. Total Environ.* 409, 4899–4916.
- Boutin, C., and Prost-Boucle, S. (2012). Les zones de rejet végétalisées Planted Discharge Area. *Sci. Eau Territ. Rev. IRSTEA* 2012, 36–43.
- Bouwman, A.F., Boumans, L.J.M., and Batjes, N.H. (2002). Estimation of global NH₃ volatilization loss from synthetic fertilizers and animal manure applied to arable lands and grasslands. *Glob. Biogeochem. Cycles* 16, 8–1.
- Boyd, C.E. (1970). Production, Mineral Accumulation and Pigment Concentrations in *Typha Latifolia* and *Scirpus Americanus*. *Ecology* 51, 285–290.
- Bratli, J.L., Skiple, A., and Mjelde, M. (1999). Restoration of Lake Borrevannet — Self-purification of nutrients and suspended matter through natural reed-belts. *Water Sci. Technol.* 40, 325–332.
- Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Sci. Technol.* 35, 11–17.
- Brodrick, S.J., Cullen, P., and Maher, W. (1988). Denitrification in a natural wetland receiving secondary treated effluent. *Water Res.* 22, 431–439.
- Brunet, R.C., Pinay, G., Gazelle, F., and Roques, L. (1994). Role of the floodplain and riparian zone in suspended matter and nitrogen retention in the adour river, south-west France. *Regul. Rivers Res. Manag.* 9, 55–63.

Buijsman, E., Maas, H.F.M., and Asman, W.A.H. (1987). Anthropogenic NH₃ emissions in Europe. *Atmospheric Environ.* 1967 21, 1009–1022.

C

Cardot, C., (2010). Les traitements de l'eau pour l'ingénieur. Procédés physicochimiques et biologiques. *In: Editions Ellipses (Eds.)*. ISBN: 978-2-7298-6187-2

Carlton, R.G., and Wetzel, R.G. (1988). Phosphorus flux from lake sediments: Effect of epilimnetic algal oxygen production. *Limnol. Oceanogr.* 33, 562–570.

Carlyle, G.C., and Hill, A.R. (2001). Groundwater phosphate dynamics in a river riparian zone: effects of hydrologic flowpaths, lithology and redox chemistry. *J. Hydrol.* 247, 151–168.

Carpenter, S.R., Caraco, N.F., Correll, D.L., Howarth, R.W., Sharpley, A.N., and Smith, V.H. (1998). Nonpoint Pollution of Surface Waters with Phosphorus and Nitrogen. *Ecol. Appl.* 8, 559–568.

Chamchoi, N., Nitorisavut, S., and Schmidt, J.E. (2008). Inactivation of ANAMMOX communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) and denitrification. *Bioresour. Technol.* 99, 3331–3336.

Chauvet, E. Changes in the chemical composition of alder, poplar and willow leaves during decomposition in a river. *Hydrobiologia* 148, 35–44.

Christianson, C.B., and Cho, C.M. (1983). Chemical Denitrification of Nitrite in Frozen Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 38–42.

Cole, J. (1996). Nitrate reduction to ammonia by enteric bacteria: redundancy, or a strategy for survival during oxygen starvation? *FEMS Microbiol. Lett.* 136, 1–11.

Cole, A.C., Semmens, M.J., and LaPara, T.M. (2004). Stratification of Activity and Bacterial Community Structure in Biofilms Grown on Membranes Transferring Oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 1982–1989.

Collins, S.D., Shukla, S., and Shrestha, N.K. (2016). Drainage ditches have sufficient adsorption capacity but inadequate residence time for phosphorus retention in the Everglades. *Ecol. Eng.* 92, 218–228.

Comin, F.A., Sánchez-Pérez, J.M., Español, C., Carranza, F., Sauvage, S., Antigüedad, I., Zabaleta, A., Martínez-Santos, M., Gerino, M., Yao, J.M., et al. (2016). Floodplain capacity to depollute water in relation to the structure of biological communities. *ResearchGate*.

Conreux, J.; Trémolières, M. (2015). Evaluation de l'épuration des eaux usées par des canaux plantés de macrophytes. *Laboratoire Image Ville Environnement*.

Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., et al. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecol. Lett.* 11, 1065–1071.

Cummins D. (2009) Peak Phosphorus: A more important 'peak' than oil?
URL: http://phosphorusfutures.net/files/Landmark_2009_Peak%20Phosphorus.pdf

D

Daniel, H., Bernez, I., Haury, J., and Coeur, D.L. The Ability of Aquatic Macrophytes to Assess Fish Farm Pollution in Two Salmon Rivers. *Hydrobiologia* 551, 183–191.

Diaz, O.A., Reddy, K.R., and Moore, P.A. (1994). Solubility of inorganic phosphorus in stream water as influenced by pH and calcium concentration. *Water Res.* 28, 1755–1763.

Dimitriou, I., and Aronsson, P. (2011). Wastewater and sewage sludge application to willows and poplars grown in lysimeters—Plant response and treatment efficiency. *Biomass Bioenergy* 35, 161–170.

Dollhopf, S.L., Hyun, J.-H., Smith, A.C., Adams, H.J., O'Brien, S., and Kostka, J.E. (2005). Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria and Factors Controlling Nitrification in Salt Marsh Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 240–246.

Domange, N. (2005). Etude des transferts de produits phytosanitaires à l'échelle de la parcelle et du bassin versant viticole (Rouffach, Haut-Rhin). Université Louis Pasteur.

Dongen, L. van, Jetten, M.S.M., and Loosdrecht, M. van (2007). The Combined Sharon/Anammox Process - A Sustainable Method for N-removal from Sludge Water. *Water Intell. Online* 6, 9781780402178.

DoussetA, S., ThévenotB, M., GouyC, V., and CarlierC, N. (2010). Effect of grass cover on pesticides transport through soil: Undisturbed column studies and field experiments in the Morcille watershed (Beaujolais). In *Proceedings of the 19th World Congress of Soil Science: Soil Solutions for a Changing World, Brisbane, Australia, 1-6 August 2010. Symposium 3.2. 2 Improved Water and Soil Management Using Lysimeters*, (International Union of Soil Sciences (IUSS), c/o Institut für Bodenforschung, Universität für Bodenkultur), pp. 5–8.

Duchaufour, P., (2001). Introduction à la science du sol –sol, végétation, environnement- 6^{ème} édition. *In: Dunod (Eds.)*. ISBN : 2-10-005440-6

Dunne, E.J., Smith, J., Perkins, D.B., Clark, M.W., Jawitz, J.W., and Reddy, K.R. (2007). Phosphorus storages in historically isolated wetland ecosystems and surrounding pasture uplands. *Ecol. Eng.* 31, 16–28.

Dupas, R., Delmas, M., Dorioz, J.-M., Garnier, J., Moatar, F., and Gascuel-Oudou, C. (2015). Assessing the impact of agricultural pressures on N and P loads and eutrophication risk. *Ecol. Indic.* 48, 396–407.

E

Eck, G.T.M. van (1982). Forms of phosphorus in particulate matter from the Hollands Diep/Haringvliet, The Netherlands. 665–681.

Elowson, S. (1999). Willow as a vegetation filter for cleaning of polluted drainage water from agricultural land. *Biomass Bioenergy* 16, 281–290.

Ennabili, A., and Radoux, M. (2006). Teneurs en azote, phosphore et potassium (NPK) d'hygrophytes au Maroc méditerranéen. NPK-contents of macrophytes from the Mediterranean Morocco. *Acta Bot. Barcinonensia* 50, 459–464.

Ennabili, A., Ater, M., and Radoux, M. (1998). Biomass production and NPK retention in macrophytes from wetlands of the Tingitan Peninsula. *Aquat. Bot.* 62, 45–56.

Ens, J.A., Farrell, R.E., and Bélanger, N. (2009). Rapid biomass estimation using optical stem density of willow (*Salix* spp.) grown in short rotation. *Biomass Bioenergy* 33, 174–179.

Erh, K.T., Elrick, D.E., Thomas, R.L., and Corke, C.T. Dynamics of nitrification in soils using a miscible displacement technique. p.

Espinoza-Quiñones, F.R., Módenes, A.N., de Oliveira, A.P., and Goes Trigueros, D.E. (2013). Influence of lead-doped hydroponic medium on the adsorption/bioaccumulation processes of lead and phosphorus in roots and leaves of the aquatic macrophyte *Eichhornia crassipes*. *J. Environ. Manage.* 130, 199–206.

Esrey, S.A., and Habicht, J.P. (1986). Epidemiologic evidence for health benefits from improved water and sanitation in developing countries. *Epidemiol. Rev.* 8, 117–128.

F

Falkowski, P.G. (2000). Rationalizing elemental ratios in unicellular algae. *J. Phycol.* 36, 3–6.

Fernandes, S.O., Javanaud, C., Michotey, V.D., Guasco, S., Anschutz, P., and Bonin, P. (2016). Coupling of bacterial nitrification with denitrification and anammox supports N removal in intertidal sediments (Arcachon Bay, France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 179, 39–50.

Filip, Z., Kanazawa, S., and Berthelin, J. (2000). Distribution of Microorganisms, Biomass ATP, and Enzyme Activities in Organic and Mineral Particles of a Long-Term Wastewater Irrigated Soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, 143–150.

Filippelli, G.M. (2008). The Global Phosphorus Cycle: Past, Present, and Future. *Elements* 4, 89–95.

Fillion, M., Brisson, J., Teodorescu, T.I., Sauv e, S., and Labrecque, M. (2009). Performance of *Salix viminalis* and *Populus nigra* × *Populus maximowiczii* in short rotation intensive culture under high irrigation. *Biomass Bioenergy* 33, 1271–1277.

Fink, D.F., and Mitsch, W.J. (2007). Hydrology and nutrient biogeochemistry in a created river diversion oxbow wetland. *Ecol. Eng.* 30, 93–102.

Fisher, J., and Acreman, M.C. (2004). Wetland nutrient removal: a review of the evidence. *Hydrol. Earth Syst. Sci. Discuss.* 8, 673–685.

Flora, C., and Kröger, R. (2014). Use of vegetated drainage ditches and low-grade weirs for aquaculture effluent mitigation: I. Nutrients. *Aquac. Eng.* 60, 56–62.

Friedel, J.K., Langer, T., Siebe, C., and Stahr, K. (2000). Effects of Long-term Waste Water Irrigation on Soil Organic Matter, Soil Microbial Biomass and Its Activities in Central Mexico. *ResearchGate* 31, 414–421.

G

Gächter, R., and Meyer, J.S. (1993). The Role of Micro-Organisms in Mobilization and Fixation of Phosphorus in Sediments. *ResearchGate* 253, 103–121.

Gaines, T.P., and Gaines, S.T. (1994). Soil texture effect on nitrate leaching in soil percolates. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25, 2561–2570.

Gibbs, J.P. (2000). Wetland Loss and Biodiversity Conservation. *Conserv. Biol.* 14, 314–317.

Girard, M.C.; Walter, C.; Rémy, J.C.; Berthelin, J.; Morel J.L. (2007). *Sols et Environnement. In: Dunod (Eds.). ISBN: 978-2-10-051695-7*

Gould, W.D., Anderson, R.V., McCLELLAN, J.F., Coleman, D.C., and Gurnsey, J.L. (1979). Characterization of A Paleosol: Its Biological Properties and Effect on Overlying Soil Horizons. *ResearchGate* 128.

Greenberg, D.M. (1955). [49] Arginase: B.-M. in *Enzymology*, ed. (Academic Press), pp. 368–374.

Groot, C.J.D., and Golterman, H.L. (1993). On the presence of organic phosphate in some Camargue sediments: evidence for the importance of phytate. *ResearchGate* 252, 117–126.

Guidi, W., Piccioni, E., and Bonari, E. (2008). Evapotranspiration and crop coefficient of poplar and willow short-rotation coppice used as vegetation filter. *Bioresour. Technol.* 99, 4832–4840.

Guidi Nissim, W., Jerbi, A., Lafleur, B., Fluet, R., and Labrecque, M. (2015). Willows for the treatment of municipal wastewater: Performance under different irrigation rates. *Ecol. Eng.* 81, 395–404.

Guittouy-Philippe, A., Petit, M.-E., Masotti, V., Monnier, Y., Malleret, L., Coulomb, B., Combroux, I., Baumberger, T., Viglione, J., and Laffont-Schwob, I. (2015). Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminant mixtures. *J. Environ. Manage.* 147, 108–123.

Güsewell, S., and Koerselman, W. (2002). Variation in nitrogen and phosphorus concentrations of wetland plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 5, 37–61.

Güven, D., Dapena, A., Kartal, B., Schmid, M.C., Maas, B., van de Pas-Schoonen, K., Sozen, S., Mendez, R., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., et al. (2005). Propionate oxidation by

and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* *71*, 1066–1071.

H

Hall, R.L., Allen, S.J., Rosier, P.T.W., and Hopkins, R. (1998). Transpiration from coppiced poplar and willow measured using sap-flow methods. *Agric. For. Meteorol.* *90*, 275–290.

Harrison, P.G., and Mann, K.H. (1975). Detritus formation from eelgrass (*Zostera marina* L.): The relative effects of fragmentation, leaching, and decay. *Limnol. Oceanogr.* *20*, 924–934.

Hassink, J. (1994). Effect of soil texture on the size of the microbial biomass and on the amount of c and n mineralized per unit of microbial biomass in dutch grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* *26*, 1573–1581.

Haury, J., Peltre, M.-C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaud, G., Bernez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., et al. (2006). A new method to assess water trophy and organic pollution — the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. 153–158.

Haury, J., Thiébaud, G., Coudreuse, J. et Muller, S. (2008a). Les lichens, bryophytes, ptéridophytes et phanérogames aquatiques. *Ingénieries n°spécial*, 23-36.

Haury, J., Muller, S. (2008b). Les communautés de macrophytes : typologie, dynamique et production. *Ingénieries n°spécial*, 37-50.

Haycock, N.E., and Muscutt, A.D. (1995). Landscape management strategies for the control of diffuse pollution. *Landsc. Urban Plan.* *31*, 313–321.

Haynes, R.J., and Swift, R.S. (1985). Effects of air-drying on the adsorption and desorption of phosphate and levels of extractable phosphate in a group of acid soils, New Zealand. *Geoderma* *35*, 145–157.

Hecky, R.E., and Kilham, P. (1988). Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.* *33*, 796–822.

Hedges, J.I. (1992). Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Mar. Chem.* *39*, 67–93.

Heinsoo, K., Sild, E., and Koppel, A. (2002). Estimation of shoot biomass productivity in Estonian *Salix* plantations. *For. Ecol. Manag.* *170*, 67–74.

Hoffmann, C.C., Heiberg, L., Audet, J., Schønfeldt, B., Fuglsang, A., Kronvang, B., Ovesen, N.B., Kjaergaard, C., Hansen, H.C.B., and Jensen, H.S. (2012). Low phosphorus release but high nitrogen removal in two restored riparian wetlands inundated with agricultural drainage water. *Ecol. Eng.* *46*, 75–87.

Holloway, J.M., and Dahlgren, R.A. (2002). Nitrogen in rock: Occurrences and biogeochemical implications. *Glob. Biogeochem. Cycles* *16*, 1118.

Holloway, J.M., Dahlgren, R.A., Hansen, B., and Casey, W.H. (1998). Contribution of bedrock nitrogen to high nitrate concentrations in stream water. *Nature* 395, 785–788.

Hooda, P.S., Truesdale, V.W., Edwards, A.C., Withers, P.J.A., Aitken, M.N., Miller, A., and Rendell, A.R. (2001). Manuring and fertilization effects on phosphorus accumulation in soils and potential environmental implications. *Adv. Environ. Res.* 5, 13–21.

Hood-Nowotny, R., Umana, N.H.-N., Inselbacher, E., Oswald-Lachouani, P., and Wanek, W. (2010). Alternative Methods for Measuring Inorganic, Organic, and Total Dissolved Nitrogen in Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 74, 1018–1027.

Hopkinson, C.S., Cai, W.-J., and Hu, X. (2012). Carbon sequestration in wetland dominated coastal systems — a global sink of rapidly diminishing magnitude. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 4, 186–194.

House, W.A. (1990). The prediction of phosphate coprecipitation with calcite in freshwaters. *Water Res.* 24, 1017–1023.

Hu, Y., He, F., Ma, L., Zhang, Y., and Wu, Z. (2016). Microbial nitrogen removal pathways in integrated vertical-flow constructed wetland systems. *Bioresour. Technol.* 207, 339–345.

Hulle, S.W.H.V., Vandeweyer, H.J.P., Meesschaert, B.D., Vanrolleghem, P.A., Dejans, P., and Dumoulin, A. (2010). Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *ResearchGate* 162, 1–20.

I

Iatrou, E.I., Stasinakis, A.S., and Aloupi, M. (2015). Cultivating duckweed *Lemna minor* in urine and treated domestic wastewater for simultaneous biomass production and removal of nutrients and antimicrobials. *Ecol. Eng.* 84, 632–639.

Iman Shayan, S., Agblevor, F.A., Bertin, L., and Sims, R.C. (2016). Hydraulic retention time effects on wastewater nutrient removal and bioproduct production via rotating algal biofilm reactor. *Bioresour. Technol.* 211, 527–533.

Iribar, A., Hallin, S., Pérez, J.M.S., Enwall, K., Poulet, N., and Garabétian, F. (2015). Potential denitrification rates are spatially linked to colonization patterns of *nosZ* genotypes in an alluvial wetland. *Ecol. Eng.* 80, 191–197.

Irons, J.G., Oswood, M.W., and Bryant, J.P. Consumption of leaf detritus by a stream shredder: Influence of tree species and nutrient status. *Hydrobiologia* 160, 53–61.

J

Jalali, M., and Jalali, M. (2016). Relation between various soil phosphorus extraction methods and sorption parameters in calcareous soils with different texture. *Sci. Total Environ.* 566–567, 1080–1093.

Jarvie, H.P., Neal, C., and Withers, P.J.A. (2006). Sewage-effluent phosphorus: A greater risk to river eutrophication than agricultural phosphorus? *Sci. Total Environ.* 360, 246–253.

Jenkinson, D.S., and Ayanaba, A. (1977). Decomposition of Carbon-14 Labeled Plant Material Under Tropical Conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 912–915.

Jin, R.-C., Zheng, P., Mahmood, Q., and Hu, B.-L. (2007). Osmotic stress on nitrification in an airlift bioreactor. *J. Hazard. Mater.* 146, 148–154.

Jin, R.-C., Yang, G.-F., Yu, J.-J., and Zheng, P. (2012). The inhibition of the Anammox process: A review. *Chem. Eng. J.* 197, 67–79.

Joret, G., and Hébert, J. (1955). Contribution à la détermination du besoin des sols en acide phosphorique. *Ann Agron* 2, 233–299.

Justin, M.Z., Pajk, N., Zupanc, V., and Zupančič, M. (2010). Phytoremediation of landfill leachate and compost wastewater by irrigation of *Populus* and *Salix*: Biomass and growth response. *Waste Manag.* 30, 1032–1042.

K

Kadlec, R. and Knight, R., (1996). *Treatment wetlands*. In: Lewis Publishers, Chelsea. ISBN: 978-0-87-371930-8

Kaiser, E.A., Mueller, T., Joergensen, R.G., Insam, H., and Heinemeyer, O. (1992). Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 24, 675–683.

Kartal, B., Rattray, J., van Niftrik, L.A., van de Vossenberg, J., Schmid, M.C., Webb, R.I., Schouten, S., Fuerst, J.A., Damsté, J.S., Jetten, M.S.M., et al. (2007). Candidatus “*Anammoxoglobus propionicus*” a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 30, 39–49.

Khalid, R.A., Patrick, W.H., and DeLaune, R.D. (1977). Phosphorus Sorption Characteristics of Flooded Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 305–310.

Koenig, S. (2010). Etude de l’efficacité des Zones Tampon Boisées dans la rétention des nutriments en sortie de stations d’épuration végétalisées. Université de Strasbourg.

Koerselman, W., and Meuleman, A.F.M. (1996). The Vegetation N:P Ratio: a New Tool to Detect the Nature of Nutrient Limitation. *J. Appl. Ecol.* 33, 1441–1450.

Koike, I., and Hattori, A. (1978). Denitrification and Ammonia Formation in Anaerobic Coastal Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 278–282.

Kolowith, L.C., Ingall, E.D., and Benner, R. (2001). Composition and cycling of marine organic phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 46, 309–320.

Kononova, S.V., and Nesmeyanova, M.A. (2002). Phosphonates and their degradation by microorganisms. *Biochem. Biokhimiia* 67, 184–195.

Kopp, R.F., Abrahamson, L.P., White, E.H., Burns, K.F., and Nowak, C.A. (1997). Cutting cycle and spacing effects on biomass production by a willow clone in New York. *Biomass Bioenergy* 12, 313–319.

Kuzyakov, Y., and Cheng, W. (2001). Photosynthesis controls of rhizosphere respiration and organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1915–1925.

L

Labrecque, M., and Teodorescu, T.I. (2001). Influence of plantation site and wastewater sludge fertilization on the performance and foliar nutrient status of two willow species grown under SRIC in southern Quebec (Canada). *For. Ecol. Manag.* 150, 223–239.

Labrecque, M., Teodorescu, T.I., and Daigle, S. (1998). Early performance and nutrition of two willow species in short-rotation intensive culture fertilized with wastewater sludge and impact on the soil characteristics. *Can. J. For. Res.* 28, 1621–1635.

Lapointe, B.E., Herren, L.W., Debortoli, D.D., and Vogel, M.A. (2015). Evidence of sewage-driven eutrophication and harmful algal blooms in Florida's Indian River Lagoon. *Harmful Algae* 43, 82–102.

Laurent, J., Bois, P., Nuel, M., and Wanko, A. (2015). Systemic models of full-scale Surface Flow Treatment Wetlands: Determination by application of fluorescent tracers. *Chem. Eng. J.* 264, 389–398.

Lavahun, M.F.E., Joergensen, R.G., and Meyer, B. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. *Biol. Fertil. Soils* 23, 38–42.

Lee, K.H., Isenhardt, T.M., and Schultz, R.C. (2003). Sediment and nutrient removal in an established multi-species riparian buffer. *J. Soil Water Conserv.* 58, 1–8.

Lemaire, G.; Nicolardot, B. (1997). Maitrise de l'azote dans les agrosystèmes. *In*: INRA. ISBN: 978-2-7380-0764-3

Licht, L.A., and Isebrands, J.G. (2005). Linking phytoremediated pollutant removal to biomass economic opportunities. *Biomass Bioenergy* 28, 203–218.

Ligi, T., Truu, M., Truu, J., Nõlvak, H., Kaasik, A., Mitsch, W.J., and Mander, Ü. (2014). Effects of soil chemical characteristics and water regime on denitrification genes (*nirS*, *nirK*, and *nosZ*) abundances in a created riverine wetland complex. *Ecol. Eng.* 72, 47–55.

Lin, Y.-F., Jing, S.-R., Wang, T.-W., and Lee, D.-Y. (2002). Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 119, 413–420.

Linn, D.M., and Doran, J.W. (1984). Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1267–1272.

Logan, T.J. (1982). Mechanisms for release of sediment-bound phosphate to water and the effects of agricultural land management on fluvial transport of particulate and dissolved phosphate. *Hydrobiologia* 91–92, 519–530.

M

Mañas Llamas, A. (2011). Immobilisation du phosphore par précipitation induite dans un procédé aérobie à biomasse granulaire. Université de Toulouse.

Madsen, E.L. (2016). Environmental microbiology: from genomes to biogeochemistry. *In*: John Wiley and sons, Hoboken (Eds.). ISBN: 978-1-118-43963-0

Marschner, H. (1986). Mineral nutrition of higher plants. *In*: Academic Press, Londres (Eds.). ISBN: 0-12-473540-1

Marron, N. (2015). Agronomic and environmental effects of land application of residues in short-rotation tree plantations: A literature review. *Biomass Bioenergy* 81, 378–400.

Martín, I., and Fernández, J. (1992). Nutrient dynamics and growth of a cattail crop (*Typha latifolia* L.) Developed in an effluent with high eutrophic potential — application to wastewater purification systems. *Bioresour. Technol.* 42, 7–12.

Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., and Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Ann. Bot.* 105, 1141–1157.

Maynard, H.E., Ouki, S.K., and Williams, S.C. (1999). Tertiary lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *ResearchGate* 33, 1–13.

McLatchey, G.P., and Reddy, K.R. (1998). Regulation of Organic Matter Decomposition and Nutrient Release in a Wetland Soil. *J. Environ. Qual.* 27, 1268–1274.

Melillo, J.M., Aber, J.D., and Muratore, J.F. (1982). Nitrogen and Lignin Control of Hardwood Leaf Litter Decomposition Dynamics. *Ecology* 63, 621–626.

Meyer, A. (2012). Processus et dynamique de la recolonisation et de la biodiversité dans les bras du Rhin et autres cours d'eau restaurés dans la Plaine d'Alsace après reconnexion. Université de Strasbourg.

Meyer, A., Combroux, I., and Trémolières, M. (2013). Dynamics of Nutrient Contents (Phosphorus, Nitrogen) in Water, Sediment and Plants After Restoration of Connectivity in Side-Channels of the River Rhine. *Restor. Ecol.* 21, 232–241.

Migon, C., and Sandroni, V. (1999). Phosphorus in rainwater: Partitioning inputs and impact on the surface coastal ocean. *Limnol. Oceanogr.* 44, 1160–1165.

Mikkelsen et al. (1995). Nitrogen fertilization of lowland rice, In Bacon P.E. Nitrogen fertilization in the environment. *In*: Marcel Dekker, New-York (Eds.). ISBN: 0-8247-8994-6

Mirck, J., Isebrands, J.G., Verwijst, T., and Ledin, S. (2005). Development of short-rotation willow coppice systems for environmental purposes in Sweden. *Biomass Bioenergy* 28, 219–228.

Mitsch, W.J., Dorage, C.L., and Wiemhoff, J.R. (1979). Ecosystem Dynamics and a Phosphorus Budget of an Alluvial Cypress Swamp in Southern Illinois. *Ecology* 60, 1116–1124.

Mitsch, W.J., Cronk, J.K., Wu, X., Nairn, R.W., and Hey, D.L. (1995). Phosphorus Retention in Constructed Freshwater Riparian Marshes. *Ecol. Appl.* 5, 830–845.

Moffat, A.J., and Houston, T.J. (1991). Tree establishment and growth at Pitsea landfill site, Essex, U.K. *Waste Manag. Res.* 9, 35–46.

Moore, M.T., Kröger, R., Locke, M.A., Cullum, R.F., Steinriede Jr., R.W., Testa III, S., Lizotte Jr., R.E., Bryant, C.T., and Cooper, C.M. (2010). Nutrient mitigation capacity in Mississippi Delta, USA drainage ditches. *Environ. Pollut.* 158, 175–184.

Murai, T., and Tomizawa, C. (1976). Chemical transformation of S-benzyl O-ethyl phenylphosphonothiolate (Inezin®) by ultraviolet light. *J. Environ. Sci. Health Part B* 11, 185–197.

Myers, R.J.K. (1975). Temperature effects on ammonification and nitrification in a tropical soil. *Soil Biol. Biochem.* 7, 83–86.

N

National Research Council, (1989). Recommended dietary allowances, 10th ed., National academy press, washington.

Newman, E.I. (1995). Phosphorus Inputs to Terrestrial Ecosystems. *J. Ecol.* 83, 713–726.

Nicol, G.W., Leininger, S., Schleper, C., and Prosser, J.I. (2008). The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environ. Microbiol.* 10, 2966–2978.

Nieder, R., Benbi, D.K., and Scherer, H.W. (2010). Fixation and defixation of ammonium in soils: a review. *Biol. Fertil. Soils* 47, 1–14.

Nordh, N.-E., and Verwijst, T. (2004). Above-ground biomass assessments and first cutting cycle production in willow (*Salix* sp.) coppice—a comparison between destructive and non-destructive methods. *Biomass Bioenergy* 27, 1–8.

O

Ohkouchi, N., and Takano, Y. (2014). Organic nitrogen: sources, fates, and chemistry. *Treatise Geochem.* 2, 251–289.

Oldham, W.K., and Stevens, G.M. (1984). Initial operating experiences of a nutrient removal process (Modified Bardenpho) at Kelowna, British Columbia. *Can. J. Civ. Eng.* 11, 474–479.

Osborne, L.L., and Kovacic, D.A. (1993). Riparian vegetated buffer strips in water-quality restoration and stream management. *Freshw. Biol.* 29, 243–258.

P

Paul, E.A., Clark, F.E., (1996). Soil microbiology and biochemistry. *In: Academic Press.* ISBN: 0-12-546806-7.

Paulus, A. (2011). Le filtre planté de roseaux « le versant vert de l'épuration des eaux usées ». *In: Editions du Rouergue, Rouen (Eds.).* ISBN: 978-2-8126-0219-1

Payment, P., and Hartemann, P. (1998). Les contaminants de l'eau et leurs effets sur la santé. *ResearchGate* 11, 199.

Paytan, A., and McLaughlin, K. (2007). The Oceanic Phosphorus Cycle. *Chem. Rev.* 107, 563–576.

Pearson, J., and Stewart, G.R. (1993). The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. *New Phytol.* 125, 283–305.

Penton, C.R., Deenik, J.L., Popp, B.N., Bruland, G.L., Engstrom, P., St. Louis, D., and Tiedje, J. (2013). Importance of sub-surface rhizosphere-mediated coupled nitrification–denitrification in a flooded agroecosystem in Hawaii. *Soil Biol. Biochem.* 57, 362–373.

Picard, C.R., Fraser, L.H., and Steer, D. (2005). The interacting effects of temperature and plant community type on nutrient removal in wetland microcosms. *Bioresour. Technol.* 96, 1039–1047.

Postgate, J. (1998). Nitrogen fixation –third edition-. *In: Cambridge University Press.* ISBN: 0-521-64047-4

Powell, N., Shilton, A.N., Pratt, S., and Chisti, Y. (2008). Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5958–5962.

Prost-Boucle, S. et Boutin, C. (2013). Etat des lieux national des Zones de Rejet Végétalisées. Rapport ONEMA. URL : www.onema.fr/IMG/pdf/2013_003.pdf

Pulou, J. (2011). Les anciennes cressonnières de l'Essonne : Effets de la recolonisation des zones humides artificielles sur la dynamique de l'azote. *AgroParisTech.*

Pulou, J., Tournebize, J., Chaumont, C., Haury, J., and Laverman, A.M. (2012). Carbon availability limits potential denitrification in watercress farm sediment. *Ecol. Eng.* 49, 212–220.

Puriveth, P. Decomposition of emergent macrophytes in a Wisconsin marsh. *Hydrobiologia* 72, 231–242.

R

- Racault, Y., Boutin C. (2004). Le lagunage naturel en France –Etat de l’art et tendances-. *Ingenieries* n° spécial, 77-86.
- Rasmussen, B. (1996). Early-diagenetic REE-phosphate minerals (florencite, gorceixite, crandallite, and xenotime) in marine sandstones; a major sink for oceanic phosphorus. *Am. J. Sci.* 296, 601–632.
- Reddy, K.R., and Graetz, D.A. (1981). Use of Shallow Reservoir and Flooded Organic Soil Systems for Waste Water Treatment: Nitrogen and Phosphorus Transformations1. *J. Environ. Qual.* 10, 113.
- Reddy, K.R., Patrick, W.H., and Broadbent, F.E. (1984). Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *C R C Crit. Rev. Environ. Control* 13, 273–309.
- Reddy, K.R., Kadlec, R.H., Flaig, E., and Gale, P.M. (1999). Phosphorus Retention in Streams and Wetlands: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 29, 83–146.
- Reddy KR, D'Angelo EM., (1994). Soil processes regulating water quality in wetlands. In: Mitsch WJ, editor. *Global wetlands: old world and new.* In: Elsevier. ISBN: 978044481478
- Redfield, A.C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *Am. Sci.* 64, 205–221.
- Reed, R.C., Brady, S.R., and Muday, G.K. (1998). Inhibition of Auxin Movement from the Shoot into the Root Inhibits Lateral Root Development in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 118, 1369–1378.
- ROLLAND, T., and TRÉMOLIÈRES, M. (1995). The role of ammonium nitrogen in the distribution of two species of Elodea. *Acta Bot. Gallica* 142, 733–739.
- Rose, A.H. (1976). *Chemical Microbiology: An introduction to microbial physiology* (3rd edition). In: Elsevier. ISBN: 978-0-408-70683-4
- Rosenkranz, S., Wilcke, W., Eisenhauer, N., and Oelmann, Y. (2012). Net ammonification as influenced by plant diversity in experimental grasslands. *Soil Biol. Biochem.* 48, 78–87.
- Rousk, J., Brookes, P.C., and Bååth, E. (2009). Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 1589–1596.
- Ruffinoni C., Sanchez-Perez J.M. & Trémolières M. (2003) Végétation alluviale et flux de nutriments: des liens interactifs, In Piegay et al. *Les forêts riveraines des cours d’eau : écologie, fonction et gestion.* Institut pour le Développement Forestier, Paris (Eds.), pp 134-154. ISBN 2-904740-88-0.
- Russell, M.J., Weller, D.E., Jordan, T.E., Sigwart, K.J., and Sullivan, K.J. (2008). Net anthropogenic phosphorus inputs: spatial and temporal variability in the Chesapeake Bay region. *Biogeochemistry* 88, 285–304.

S

- Saeed, T., and Sun, G. (2012). A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *J. Environ. Manage.* *112*, 429–448.
- Sanchezperez, J., Antiguedad, I., Arrate, I., Garcialinares, C., and Morell, I. (2003). The influence of nitrate leaching through unsaturated soil on groundwater pollution in an agricultural area of the Basque country: a case study. *Sci. Total Environ.* *317*, 173–187.
- Sanchez-Perez, J.M., Tremolieres, M., Schnitzler, A., and Carbiener, R. (1991). Evolution de la qualité physico-chimique des eaux de la frange superficielle de la nappe phréatique en fonction du cycle saisonnier et des stades de succession des forêts alluviales rhénanes (*Quercus-Ulmetum minoris* Issl. 24). *Acta Oecologica* 1990 *12*, 581–601.
- Sanchez-Pérez, J.-M., Trémolières, M., Takatert, N., Ackerer, P., Eichhorn, A., and Maire, G. (1999). Quantification of nitrate removal by a flooded alluvial zone in the Ill floodplain (Eastern France). *Hydrobiologia* *4*, 185–193.
- Sanchez-Pérez, J.-M., Vervier, P., Garabétian, F., Sauvage, S., Loubet, M., Rols, J.-L., Bariac, T., and Weng, P. (2003). Nitrogen dynamics in the shallow groundwater of a riparian wetland zone of the Garonne, SW France: nitrate inputs, bacterial densities, organic matter supply and denitrification measurements. *Hydrol. Earth Syst. Sci. Discuss.* *7*, 97–107.
- Savant, N.K., and De Datta, S.K. (1982). Nitrogen Transformations in Wetland Rice Soils. In *Advances in Agronomy*, N.C. Brady, ed. (Academic Press), pp. 241–302.
- Schilling, K.E., and Jacobson, P. (2014). Effectiveness of natural riparian buffers to reduce subsurface nutrient losses to incised streams. *CATENA* *114*, 140–148.
- Schindler, D.W. (2012). The dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* rspb20121032.
- Schindler, D.W., Hecky, R.E., Findlay, D.L., Stainton, M.P., Parker, B.R., Paterson, M.J., Beaty, K.G., Lyng, M., and Kasian, S.E.M. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *105*, 11254–11258.
- Schmitt, L., Lebeau, M., Tremolieres, M., Defraeye, S., Coli, C., Denny, E., Dillinger, M., Beck, T., Dor, J.C., Gombert, P., Gueidan, A., Manne, S., Party, J.P., Perrotey, P., Piquette, M., Roeck, U., Schnitzler, A., Sonnet, O., Vacher, J.P., Vauclin, V., Weiss, M., Zacher, J.N. and Wilms, P. (2008). Le « polder » d'Erstein : objectifs, aménagements et retour d'expérience sur cinq ans de fonctionnement et de suivi scientifique environnemental (Rhin, France). *Ingenieries n° spécial*, 67-84.
- Schnitzer, M. (1986). The synthesis, chemical structure, reactions and functions of humic substances. *Humic Subst. Eff. Soil Plants* 26–28.

- Schönbrunner, I.M., Preiner, S., and Hein, T. (2012). Impact of drying and re-flooding of sediment on phosphorus dynamics of river-floodplain systems. *Sci. Total Environ.* *432*, 329–337.
- Sgouridis, F., Heppell, C.M., Trimmer, M., and Wharton, G. (2009). Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium (DNRA) potential in the re-connected floodplain of the River Cole (Oxfordshire, UK). p. 12000.
- Sgouridis, F., Heppell, C.M., Wharton, G., Lansdown, K., and Trimmer, M. (2011). Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in a temperate re-connected floodplain. *Water Res.* *45*, 4909–4922.
- Shardendu, S., Sayantan, D., Sharma, D., and Irfan, S. (2012). Luxury Uptake and Removal of Phosphorus from Water Column by Representative Aquatic Plants and Its Implication for Wetland Management. *Int. Sch. Res. Not.* *2012*, e516947.
- Sharpley, A.N., Menzel, R.G., Smith, S.J., Rhoades, E.D., and Olness, A.E. (1981). The Sorption of Soluble Phosphorus by Soil Material during Transport in Runoff from Cropped and Grassed Watersheds. *J. Environ. Qual.* *10*, 211–215.
- Sonzogni, W.C., Chapra, S.C., Armstrong, D.E., and Logan, T.J. (1982). Bioavailability of Phosphorus Inputs to Lakes. *J. Environ. Qual.* *11*, 555–563.
- Stakman, W.P., Valk, G.A., and Horst, G.G. (1969). Determination of soil moisture retention, I Sandbox apparatus range pF 0–pF 2.7. *ICW Wagening.* *20*.
- Stewart W.D.P. (1975). Nitrogen fixation by free-living micro-organisms. Cambridge University Press. ISBN:0-521-20708-8
- Strous, M., Gerven, E.V., Kuenen, J.G., and Jetten, M. (1997). Effects of aerobic and micro-aerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* *63*, 2446–2448.
- Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G., and Jetten, M.S.M. (1999a). Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* *400*, 446–449.
- Strous, M., Kuenen, J.G., and Jetten, M.S.M. (1999b). Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* *65*, 3248–3250.

Tanner, C.C., Clayton, J.S., and Upsdell, M.P. (1995). Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands—II. Removal of nitrogen and phosphorus. *Water Res.* 29, 27–34.

Tanner, C.C., Kadlec, R.H., Gibbs, M.M., Sukias, J.P.S., and Nguyen, M.L. (2002). Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands—influence of wastewater characteristics. *Ecol. Eng.* 18, 499–520.

Tao, W., and Wang, J. (2009). Effects of vegetation, limestone and aeration on nitrification, anammox and denitrification in wetland treatment systems. *Ecol. Eng.* 35, 836–842.

Tiedje, J.M. (1988). Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *ResearchGate* 717, 179–244.

Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., and Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671–677.

Toet, S., Logtestijn, R.S.P.V., Kampf, R., Schreijer, M., and Verhoeven, J.T.A. (2005). The effect of hydraulic retention time on the removal of pollutants from sewage treatment plant effluent in a surface-flow wetland system. *Wetlands* 25, 375–391.

Trémolières, M., Combroux, I., Thiébaud, G. et Haury, J. (2008). Réponse des communautés végétales aux conditions environnementales : perturbations ou contraintes. *Ingénieries n° spécial*, 63-77.

Triska, F.J., Jackman, A.P., Duff, J.H., and Avanzino, R.J. Ammonium sorption to channel and riparian sediments: A transient storage pool for dissolved inorganic nitrogen. *Biogeochemistry* 26, 67–83.

Tsiknia, M., Tzanakakis, V.A., and Paranychianakis, N.V. (2013). Insights on the role of vegetation on nitrogen cycling in effluent irrigated lands. *Appl. Soil Ecol.* 64, 104–111.

U

Ulén, B., Bechmann, M., Fölster, J., Jarvie, H.P., and Tunney, H. (2007). Agriculture as a phosphorus source for eutrophication in the north-west European countries, Norway, Sweden, United Kingdom and Ireland: a review. *Soil Use Manag.* 23, 5–15.

Unger, I.M., Kennedy, A.C., and Muzika, R.-M. (2009). Flooding effects on soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 42, 1–8.

V

Van Cleemput, O., Patrick, W.H., and McIlhenny, R.C. (1976). Nitrite Decomposition in Flooded Soil Under Different pH and Redox Potential Conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40, 55–60.

Van Dijk, P.M., Kwaad, F., and Klapwijk, M. (1996). Retention of water and sediment by grass strips. *Hydrol. Process.* 10, 1069–1080.

Várallyay, G. (1973). A new apparatus for the determination of soil moisture potential in the low suction range. *Agrokém. És Talajt.* 22, 1–22.

Veen, J.A.V., and Kuikman, P.J. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeochemistry* 11, 213–233.

Vermeer, J.G., and Berendse, F. (1983). The Relationship between Nutrient Availability, Shoot Biomass and Species Richness in Grassland and Wetland Communities. *Vegetatio* 53, 121–126.

Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H., and Tilman, D.G. (1997). Human Alteration of the Global Nitrogen Cycle: Sources and Consequences. *Ecol. Appl.* 7, 737–750.

Vörösmarty, C.J., and Sahagian, D. (2000). Anthropogenic Disturbance of the Terrestrial Water Cycle. *BioScience* 50, 753–765.

Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380, 48–65.

W

Wang, S., Wang, Y., Feng, X., Zhai, L., and Zhu, G. (2011). Quantitative analyses of ammonia-oxidizing Archaea and bacteria in the sediments of four nitrogen-rich wetlands in China. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90, 779–787.

Weiss, R.F., and Price, B.A. (1980). Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Mar. Chem.* 8, 347–359.

Weiss, D., Carbiener, R., and Tremolieres, M. (1991). Biodisponibilité comparée du phosphore en fonction des substrats et de la fréquence des inondations dans trois forêts alluviales rhénanes de la plaine d'Alsace. *Comptes Rendus Académie Sci. Sér. 3 Sci. Vie* 313, 245–251.

Wetzel, R.G. (1990). Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Int. Ver. Fuer Theor. Angew. Limnol. Verhandlungen IVTLAP* 24.

Willems, H.P.L., Rotelli, M.D., Berry, D.F., Smith, E.P., Reneau, R.B., and Mostaghimi, S. (1997). Nitrate removal in riparian wetland soils: Effects of flow rate, temperature, nitrate concentration and soil depth. *Water Res.* 31, 841–849.

William L. Magette, Russell B. Brinsfield, Robert E. Palmer, and James D. Wood (1989). Nutrient and Sediment Removal by Vegetated Filter Strips. *Trans. ASAE* 32, 0663–0667.

World Health Organization, (1987). The international drinking water supply and sanitation decade. A review of mid-decade progress. Geneva.

Wu, J., Zhang, Q., Yang, F., lei, Y., Zhang, Q., and Cheng, X. (2016). Afforestation impacts microbial biomass and its natural ^{13}C and ^{15}N abundance in soil aggregates in central China. *Sci. Total Environ.* 568, 52–56.

X

Xu, J., and Shen, G. (2011). Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. *Bioresour. Technol.* 102, 848–853.

Y

Yang, Z., Chen, B., Xinshan, S., Qin, L., and Denghua, Y. (2010). International Conference on Ecological Informatics and Ecosystem Conservation (ISEIS 2010) Nutrient Removal by Hybrid Subsurface Flow Constructed Wetlands for High Concentration Ammonia Nitrogen Wastewater. *Procedia Environ. Sci.* 2, 1461–1468.

Yao, J., Sánchez-Pérez, J.M., Sauvage, S., Teissier, S., Attard, E., Lauga, B., Duran, R., Julien, F., Bernard-Jannin, L., Ramburn, H., et al. (2016). Biodiversity and ecosystem purification service in an alluvial wetland. *ResearchGate*.

Ye, R., and Horwath, W.R. (2016). Nitrous oxide uptake in rewetted wetlands with contrasting soil organic carbon contents. *Soil Biol. Biochem.* 100, 110–117.

Yeomans, J.C., Bremner, J.M., and McCarty, G.W. (1992). Denitrification capacity and denitrification potential of subsurface soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 23, 919–927.

Z

Zak, D., and Gelbrecht, J. (2007). The mobilisation of phosphorus, organic carbon and ammonium in the initial stage of fen rewetting (a case study from NE Germany). *Biogeochemistry* 85, 141–151.

Zhang, L., Zhang, L., Liu, Y., Shen, Y., Liu, H., and Xiong, Y. (2010). Effect of limited artificial aeration on constructed wetland treatment of domestic wastewater. *Desalination* 250, 915–920.

Zhang, L., Xia, X., Zhao, Y., Xi, B., Yan, Y., Guo, X., Xiong, Y., and Zhan, J. (2011). The ammonium nitrogen oxidation process in horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 1614–1619.

Zhang, Z., Craft, C.B., Xue, Z., Tong, S., and Lu, X. (2016). Regulating effects of climate, net primary productivity, and nitrogen on carbon sequestration rates in temperate wetlands, Northeast China. *Ecol. Indic.* 70, 114–124.

Zhou, S., Borjigin, S., Riya, S., and Hosomi, M. (2016). Denitrification-dependent anammox activity in a permanently flooded fallow ravine paddy field. *Ecol. Eng.* 95, 452–456.

Sites internet

- **Assainissement ooreka.** Image système lagunaire.
URL : <https://assainissement.ooreka.fr/comprendre/lagunage-eaux-usees>
- **Atelierpeche.free.fr.** Plantes des zones humides.
URL : http://atelierpeche.free.fr/3-Habitants/plantes_etang.html
- **Département Loire.**
URL : <http://www.loire.fr/upload/docs/application/pdf/stations-lb2.pdf>
- **Besoins et ressources en eau. Les agences de l'eau.**
URL: http://www.lesagencesdeleau.fr/wp-content/uploads/2012/07/7-Fiche-besoins-et-ressources_web.pdf
- **Epnac.** Schémas filtres plantés de macrophytes.
URL: epnac.irstea.fr/wp-content/uploads/2012/08/Guide-Macrophytes.pdf
- **Les agences de l'eau.** URL: <http://www.lesagencesdeleau.fr/>
- **MamétéoColmar.** URL: <http://www.mameteocolmar.fr/>
- **Météo France.** URL: <http://www.meteofrance.com/climat/comparateur>
- **Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie.**
URL: <http://www.statistiques.developpementdurable.gouv.fr/essentiel/ar/306/1168/assainissement-traitement-collectif-eaux-usees.html>
- **SDEC France.** URL: <http://agronomie.sdec-france.com>
- **Seillero :** Del Seille Roccio del Obispo : URL : <http://seillero.fr/2015/04/19/>
- **Site association AILE**
URL: www.aile.asso.fr/wp-content/uploads/2008/01/wilwater-guidetechnique.pdf
- **Site Astrosurf.** URL : <http://www.astrosurf.com/luxorion/eau-ecosysteme3.html>
- **Site Charles Lebbe.** URL : <http://www.charleslebbe.be/fr/taillis-a-courte-rotation/>
- **Site mille Isles.**
URL: http://www.mille-isles.ca/database/Image_usager/2/Environnement/fiche_eutro.pdf
- **SOTT: Signs Of The Times.** URL : <https://fr.sott.net/article/13362-Le-phosphore-la-crise-invisible>

- **zones-humides.eaufrance.fr.** Définition espèces hygrophytes.
URL : <http://www.zones-humides.eaufrance.fr/identifier/identifier-2/delimiter-pour-la-reglementation-2/critere-relatif-aux-plantes-hygrophie>

Annexes

- **Annexe 1:** Tableau des dates et types de prélèvement sur le terrain
- **Annexe 2 :** Protocole de détermination de la granulométrie
- **Annexe 3 :** Méthode de calcul du contenu en nutriments du sol de la ZTV de Colmar
- **Annexe 4 :** Méthode de calcul du contenu retenu par le sol dans les noues de la ZTV de Colmar entre 0 et 105 cm
- **Annexe 5 :** Détermination de la biomasse des macrophytes
- **Annexe 6 :** Détermination de la biomasse des saules

Annexe 1

Date, lieu et type de prélèvement effectué sur le terrain

Raon sur Plaine		Liebsdorf	
Date	Type de prélèvement	Date	Type de prélèvement
11/03/2013	Eau-Sol-Végétaux	27/03/2013	Eau-Sol-Végétaux
20/06/2013	Eau-Végétaux	19/06/2013	Eau-Végétaux
24/09/2013	Eau-Sol-Végétaux-Biomasse	27/09/2013	Eau-Sol-Végétaux
14/01/2014	Eau-Végétaux	15/01/2014	Eau-Végétaux
20/03/2014	Eau-Sol-Végétaux	18/03/2014	Eau-Sol-Végétaux
14/04/2014	Eau-Végétaux	11/04/2014	Eau-Végétaux
19/05/2014	Eau-Végétaux	15/05/2014	Eau-Végétaux
18/06/2014	Eau-Végétaux	16/06/2014	Eau-Végétaux
11/07/2014	Eau-Végétaux	10/07/2014	Eau-Végétaux
12/08/2014	Eau-Végétaux	11/08/2014	Eau-Végétaux
12/09/2014	Eau-Sol-Végétaux-Biomasse	11/09/2014	Eau-Sol-Végétaux-Biomasse
09/12/2014	Eau-Végétaux	08/12/2014	Eau-Végétaux-Biomasse
16/03/2015	Eau-Sol-Végétaux	13/03/2015	Eau-Sol-Végétaux
05/06/2015	Eau-Végétaux	04/06/2015	Eau-Végétaux

Date	Type de prélèvement
7/03/2013	Plantation des saules
18/03/2013	Pose des tuyaux incendies et test
24/06/2013	Fosse en vue des analyses physiques du sol
11/07/2013	Mise en place tensiomètres et céramiques poreuses
23/07/2013	Premier essai hydrique
7,8 et 12/08/2013	Irrigation simple , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau et Sol
12 et 13/11/2013	Mise en dépression des céramiques sans irrigation , prélèvement Eau
18,19 et 21/11/2013	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau , recépage noue B
17 et 20/01/2014	Fertirrigation -> Casse du poteau incendie réparé en Avril 2014
6,7 et 9/05/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau
9,10 et 12/06/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau , Sol et Végétaux
Juillet 2014	Terrain annulé pour raisons météorologiques
11,12 et 14/08/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau
6,7 et 9/10/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau
27,28 et 30/10/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau et Végétaux
24,25 et 27/11/2014	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau , Sol . Recépage noue B , détermination de la biomasse de la noue B
12/2014,01-02/2015	Interruption du terrain dû au gel des tuyaux
16, 17 et 19/03 2015	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau
26 et 30/03/2015	Mise en dépression des céramiques sans irrigation , prélèvement Eau et Sol
30-31/03/15 et 2/4/15	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau et Sol
27, 28 et 30/04/2015	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau et Végétaux
18,19 et 21/05/2015	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau
15, 16 et 18/06/2015	Fertirrigation , mise en dépression des céramiques, prélèvement Eau et Végétaux
Octobre 2015	Recépage des 4 noues et étude de la biomasse

Annexe 2

Protocole de détermination de la granulométrie

1° Descriptif

La granulométrie laser par diffraction et diffusion est la technique la plus récente et la plus pratique. Elle vient en remplacement des techniques telles que la microscopie et la sédimentation. C'est actuellement la plus rapide et dont les résultats sont les plus simples à interpréter.

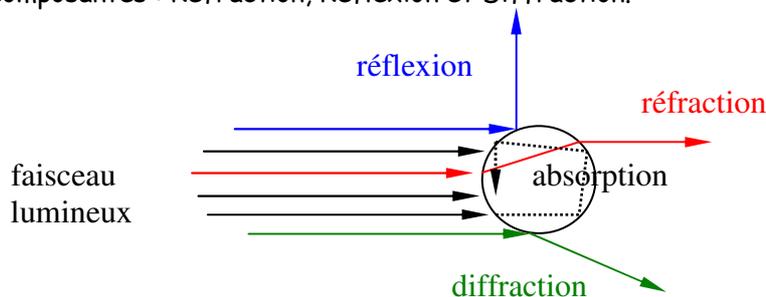
La grande quantité d'échantillon analysée lui assure une excellente reproductibilité. C'est également la technique la plus respectueuse de l'échantillon et de son milieu environnant, puisque la mesure peut être faite dans l'eau ou tout autre liquide, ou dans l'air.

Le modèle LS230 utilisé au laboratoire est le plus complet de la gamme COULTER BECKMANN pour l'analyse des sols et des formations superficielles. Il consiste en un banc optique laser et deux modules d'échantillonnage interchangeables suivant le type d'échantillon permettant la mesure en voie aqueuse - module fluide pour les suspensions - et en voie sèche - sables meubles et propres) Il possède en plus, le dispositif optique breveté du PIDS (Polarization Intensity Differential Scattering) pour l'analyse submicronique.

Sa gamme d'analyse va de $0.04\mu\text{m}$ à 2 mm ; il possède 132 détecteurs et peut déterminer 116 classes de particules.

2° Principe de mesure : montage optique

Un faisceau laser à l'arséniure de gallium (longueur d'onde 750nm) émet une lumière rouge de faible puissance. Les particules qui doivent être mesurées sont d'abord mises en suspension puis mis en circulation dans une cellule appropriée. Les particules éclairées par la lumière laser dévient la lumière de son axe principale - par exemple, lorsque la lumière éclaire une particule, dont la constante diélectrique diffère de 1, elle est absorbée, ou diffusée, ou les deux à la fois, selon sa longueur d'onde et les propriétés optiques de la particule. Cette lumière diffusée est la somme de trois composantes : Réfraction, Réflexion et Diffraction.

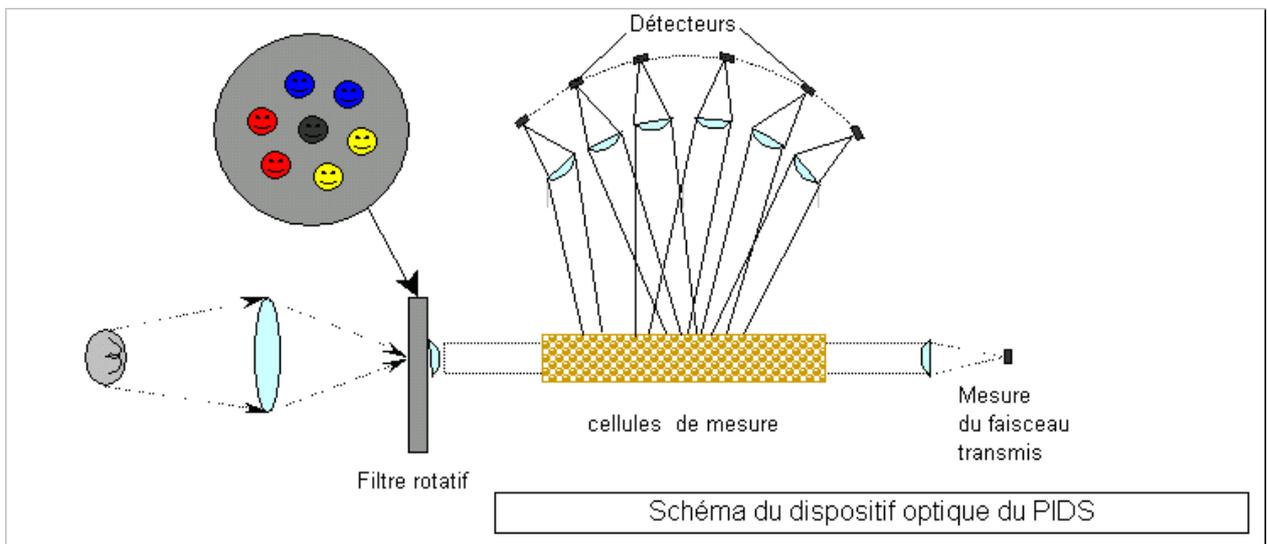
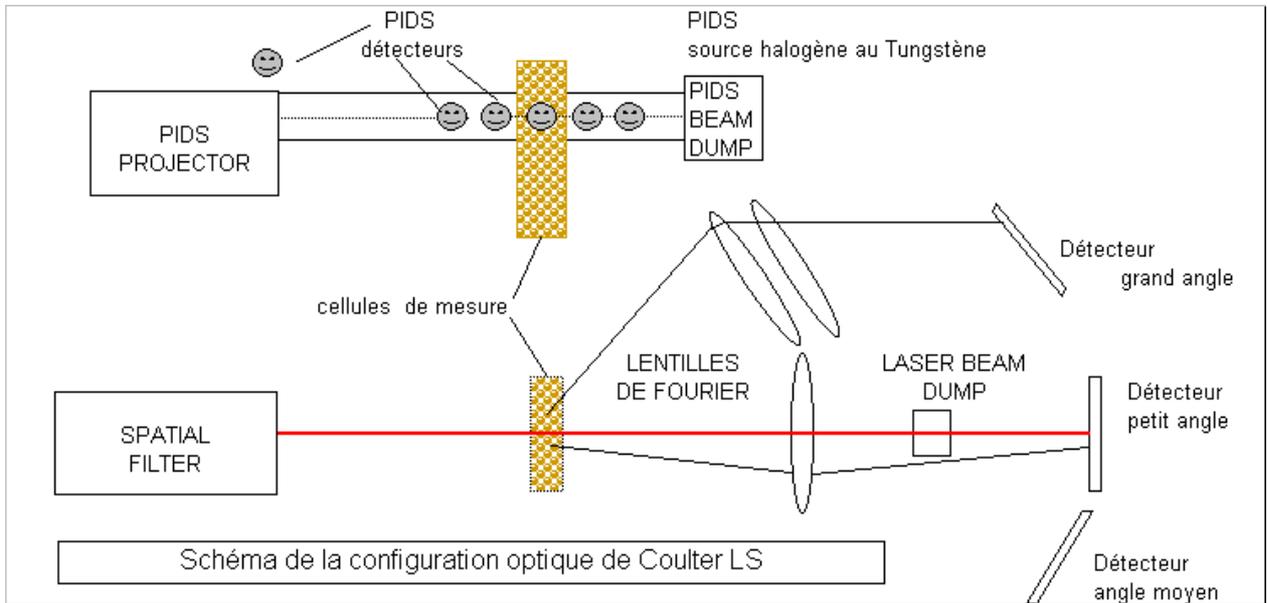


la quantité de lumière déviée et l'importance de l'angle de déviation permettent de mesurer avec précision la taille des particules. Ainsi les particules de grosse taille dévient des quantités importantes de lumière sur des angles faibles par rapport à l'axe de propagation et les petites particules au contraire dévient des quantités infimes de lumière mais sur des angles beaucoup plus larges jusqu'à former des « halos » homogènes autour d'elles.

La gamme des diamètres mesurables s'étend de $0.04\mu\text{m}$ à 2 mm ; l'analyse s'effectue donc sur une plage unique grâce au dispositif optique de double lentille de FOURIER qui permet de capter en une seule mesure les intensités lumineuses diffusées sur une zone angulaire de 0 à 35° sans aucun changement de lentille ni recoupement hasardeux d'analyses.

Outre l'obligation de faire appel à la théorie de Mie pour le traitement mathématique, l'analyse des particules submicroniques par diffusion se heurte à la difficulté de détection en limite des petits angles (cad de 35°), aux très faibles valeurs d'intensités diffusées et à la quasi-linéarité des courbes de flux générées par les petites particules. Pour pallier ces limites physiques connues et admises, le granulomètre laser LS230, est équipé d'un second dispositif optique connu sous le nom de PIDS (Polarization Intensity Differential Scattering = différence de diffusion

des intensités polarisées). Ce procédé permet de descendre jusqu'à 40 nm avec exactitude, en travaillant en diffusion latérale et en rétrodiffusion, sous lumière polarisée et sous différentes longueurs d'onde, simultanément à l'analyse par diffraction et sur le même circuit d'échantillon.



Les intensités reçues aux différents angles par les 116 détecteurs (photodiodes) sont numérisées puis analysées par calcul sur des matrices inverses. Les nouveaux points de mesure obtenus avec le PIDS sont intégrés au calcul matriciel pour fournir une distribution granulométrique sur une plage unique de $0.04 \mu\text{m}$ à $2000 \mu\text{m}$.

On obtient donc une bien meilleure précision sur la granularité réelle d'un ensemble de particules si l'on est capable de mesurer la courbe de flux en de nombreux points.

4° Résultat

Le résultat du calcul est représenté sous forme d'histogramme ou de courbe cumulative. L'analyse est faite simultanément sur l'ensemble des particules circulant devant le faisceau laser. Elle est instantanée. Basée sur un principe physique incontesté, elle ne nécessite aucune calibration avant mesure.

5° Reproductibilité

Une fonction d'alignement automatique du faisceau laser, couplée à une disposition très étudiée des détecteurs, garantit la fidélité de l'instrument à lui-même dans le temps, et une excellente reproductibilité inter-instruments.

6° Echantillonnage

On ne surestimera cependant jamais l'importance de l'échantillonnage en caractérisation des particules. Aussi juste et reproductible que soit la technique de mesure, les résultats n'auront aucun sens si l'échantillon analysé n'est pas parfaitement représentatif de l'ensemble du système particulaire dont il est extrait. Pour les analyses de sols et de formations superficielles, c'est d'autant plus important. Cela va de la prise de l'échantillon sur le terrain, à la fraction obtenue par quartage au laboratoire jusqu'à la suspension obtenue pour l'analyse. Tout au long de la chaîne de traitement, il faut être attentif aux procédures d'échantillonnages pour que l'aliquote obtenu soit bien représentatif du stock de départ.

7° Préparation des échantillons

La préparation de l'échantillon avant son passage au granulomètre laser demande beaucoup de temps et nécessite une grande attention. Selon le type d'échantillon et la volonté du chercheur, elle sera très différente. Le protocole de préparation ci-joint est le plus utilisé, le but de la manœuvre étant de défloculer au maximum l'échantillon afin qu'il n'y ait plus d'agrégats. Le seul moyen pour en être absolument certain étant d'effectuer une vérification au MEB (microscope électronique à balayage).

Annexe 3

Méthode de calcul du contenu en nutriments du sol de la ZTV de Colmar

Densité du sol : 1,35 g/cm³

Aire noue : 25 m²

Volume noue entre 0-5 cm : 0,125 m³=125 000 cm³

Volume noue entre 20-30 cm, 45-55cm, 70-80 cm et 95-105 cm : 0,25 m³= 250000 cm³

Poids Frais 0-5 cm : densité x volume= 1,35x125000=168750g=168,75Kg

Poids Frais 20-30 cm, 45-55cm, 70-80 cm et 95-105 cm : 1,35x250000=337,5Kg

Exemple pour Azote minéral NA (0-5 cm) du 7 août 2013 :

Pourcentage eau : 17,8%

Azote ammoniacal : 0,87 mg/kg

Azote nitrique : 2,5 mg/kg

% Eau= ((Poids Frais – Poids sec)/Poids sec) x 100

Poids sec = Poids frais/(1 + %eau/100) = 168,75/(1+17,8/100)=143,25 Kg dans la noue A de 0 à 5 cm

Azote minéral = Azote ammoniacal + Azote nitrique = 2,5 + 0,87 = 3,37 mg/kg

Contenu en azote minéral= concentration massique azote organique x Poids sec
= 3,37 x 143,25
= **482,75 mg**

Le calcul est le même pour les autres nutriments et les autres noues.

Azote total = Azote organique total + Azote minéral

Le pourcentage de baisse ou de diminution est calculée ensuite entre les contenus du 7 août 2013 et ceux du 2 Avril 2015

Annexe 4

**Méthode de calcul du contenu retenu par le sol dans les noues de la
ZTV de Colmar entre 0 et 105 cm**

Le contenu en nutriments de 0 à 5 cm, 20 à 30 cm, 45 à 55 cm, 70 à 80 cm et 95 à 105 cm est calculé à partir du calcul décrit en annexe 3.

Exemple noue A de 0 à 105 cm au mois d'Aout 2013

Tableau de données

Noüe	profondeur (Eau (%))	pH	N-NO3 (mg/Kg)	N-NH4 (mg/Kg)	N minéral Total (mg/kg)	N organique total (mg/g)	Phosphore assimilable (mg/g)	Phosphore total (mg/g)	
A	0-5	17,8	8,4	2,5	0,87	3,37	1,15	0,16	0,53
A	20-30	12,7	8,4	2,4	0,66	3,06	0,86	0,22	0,49
A	45-55	14,8	8,6	0,67	0,85	1,52	0,55	0,061	0,51
A	70-80	16,5	8,7	0,47	0,41	0,88	0,38	0,034	0,47
A	95-105	15,7	8,8	0,18	0,26	0,44	<0,35	0,016	0,43

Densité du sol : 1,35 g/cm³

Aire noue : 25 m²

Volume noue entre 0-5 cm : 0,125 m³=125 000 cm³

Volume noue entre 20-30 cm, 45-55cm, 70-80 cm et 95-105 cm : 0,25 m³= 250000 cm³

Volume noue entre 5-20 cm, 30-45cm, 55-70 cm et 80-95cm : 0,375 m³= 375000 cm³

Poids Frais 0-5 cm : densité x volume= 1,35x125000=168750g=168,75 kg

Poids Frais 20-30 cm, 45-55cm, 70-80 cm et 95-105 cm : 1,35x250000=337,5 kg

Poids Frais 5-20 cm, 30-45cm, 55-70 cm et 80-95cm : 1,35x375000=506,25 kg

Exemple : Calcul azote total Noue A entre 5 et 20 cm

%Eau entre 5 et 20 cm = moyenne (% Eau 0-5cm/% Eau 20-30cm)= (17,8+12,7)/2=15,25%

Nmin entre 5 et 20 cm = moyenne (Nmin 0-5 cm/Nmin 20-30cm)= (3,37+3,06)/2=3,22 mg/kg

Norg entre 5 et 20 cm = moyenne (Norg 0-5 cm/Norg 20-30cm)= (1,15+0,86)/2=1 mg/g

Poids sec = Poids frais/(1 + %eau/100) = 506,25/(1/1,1525)=439,26 Kg dans la noue A de 5 à 20 cm

Contenu en azote minéral= concentration massique azote minéral x Poids sec
 = 3,22 x 439,26
 = **1,414 g**

Contenu en azote organique= concentration massique azote organique x Poids sec
 = 1 x 439,26
 = **439,26 g**

Azote total= azote minéral + azote organique
 = 1,414 + 439,26
 = **440,674 g**

On fait ce même calcul pour toutes les profondeurs intermédiaires puis on additionne les valeurs réelles (annexe 3) aux valeurs intermédiaires pour chaque noue pour l'azote total et le phosphore total

Même calcul pour Avril 2015

Azote total (ou PT) retenu = Azote total (ou PT) avril 2015 – Azote total (ou PT) aout 2013

Annexe 5

Détermination de la biomasse des macrophytes

Noüe 1 (2x38 m)

Mentha aquatica

Zone Mentha= $2 \times 7,5 = 15 \text{ m}^2$

Quadrat=0,1936 m^2

Poids sec moyen quadrat = 58,6 g

Poids sec moyen zone Mentha= $(58,6 \times 15)/0,1936=4540\text{g}$ pour 15 m^2

Biomasse=303 g/m^2

Poa palustris

Zone Poa= $2 \times 13 = 26 \text{ m}^2$

Quadrat=0,1936 m^2

Poids sec moyen quadrat = 14,46g

Poids sec moyen zone Poa= $(14,46 \times 26)/0,1936=1942,38\text{g}$

Biomasse= 74,71 g/m^2

Typha latifolia

Zone Typha= $2 \times 17,5 = 35 \text{ m}^2$

Nombre moyen de Typha dans $1\text{m}^2=12$

Nombre moyen de Typha dans zone Typha= 420

Poids sec moyen de un plant de Typha (PA) = 59,09g

Poids sec moyen Typha dans zone Typha= 24818g

Biomasse = 709 g/m^2

Noe 2 (2x38 m)

Iris pseudacorus

Zone Iris= $2 \times 2,5 = 5 \text{ m}^2$

Nombre moyen d'Iris dans $1\text{m}^2=8$

Nombre moyen d'Iris dans zone Iris= 40

Poids sec moyen de un plant d'Iris (PA) = 18,54g

Poids sec moyen Iris dans zone Iris= 742g

Biomasse = 148 g/m^2

Sparganium erectum

Zone Sparganium= $2 \times 8,5 = 17\text{m}^2$

Nombre moyen Sparganium dans $0,1936 \text{ m}^2=15$

Nombre moyen Sparganium dans zone Sparganium = 1317

Poids sec moyen de un plant Sparganium (PA) = 10,09g

Poids sec moyen Sparganium dans zone Sparganium = 13288g

Biomasse = 782 g/m^2

Phragmites australis

Zone Phragmites= $2 \times 17,5 = 35\text{m}^2$

Nombre moyen Phragmites dans $1\text{ m}^2=17$

Nombre moyen Phragmites dans zone Phragmites = 595

Poids sec moyen de un plant Phragmites (PA) = 27,66g

Poids sec moyen Phragmites dans zone Phragmites = 16457,7g

Biomasse = 470 g/m²

Typha latifolia

Zone Typha= $2 \times 9,5 = 19\text{ m}^2$

Nombre moyen de Typha dans $1\text{m}^2=11$

Nombre moyen de Typha dans zone Typha= 209

Poids sec moyen de un plant de Typha (PA) = 38,15g

Poids sec moyen Typha dans zone Typha= 7975g

Biomasse = 420 g/m²

Annexe 6

Détermination de la biomasse des saules

Salix viminalis

	Salix viminalis 1		Salix viminalis 2		Salix viminalis 3	
N° Tige	poids tiges (g)	poids feuilles(g)	poids tiges (g)	poids feuilles(g)	poids tiges (g)	poids feuilles(g)
1	50,22	10,84	136,76	36,35	26,85	9,1
2	39,89	10,69	107,07	26,93	42,39	11,15
3	21,68	4,3	84,45	18,55	31,98	11,06
4	45,72	9,98	105,82	27,78	25,85	8,53
5	42,45	10,15	45,96	15,04	38,34	11,81
6	22,57	6,33	44,65	13,5	47,68	12,71
7	48,53	12,02	39,19	4,43	39,39	14,04
8	45,22	13,1	27,89	9,79	123,69	22,34
9	67,89	18,5	83,77	25,83	47,79	15,76
10	51,46	9,28	118,66	27,17	59,95	13,09
Total poids 10 branches	435,63	105,19	794,22	205,37	483,91	129,59
Nombre de branche du saule	78		62		88	
Biomasse totale saule	3398	820,48	4924	1273	4258	1140
Poids moyen feuilles tige par saule (g)	4193					
Poids moyen feuilles par saule (g)	1078					

Salix purpurea

Salix purpurea 1	Salix purpurea 2	Salix purpurea 3
------------------	------------------	------------------

N° Tige	poids		poids		poids	
	tiges (g)	feuilles(g)	tiges (g)	feuilles(g)	tiges (g)	feuilles(g)
1	21,26	3,68	9,85	2,86	7,52	2,95
2	20,49	3,96	8,97	3,05	46,03	8,57
3	16,79	3,56	7,17	1,78	40,17	8,07
4	25,07	4,72	9,12	3,15	25,13	5,86
5	45,8	9,16	5,75	1,54	9,55	3,65
6	13,73	3,97	11,65	3,75	20,46	5,21
7	35,11	3,42	8,17	2,28	20,82	5,68
8	8,9	2,75	13,15	2,92	12,34	3,74
9	10,31	3,49	3,37	1,6	8,85	3,11
10	3,09	1,83	4,31	1,66	8,68	2,76
Total poids 10 branches	200,55	40,54	81,51	24,59	199,55	49,6
Nombre de branche du saule	156		64		114	
Biomasse totale saule	3129	632	521,66	157,4	2275	565
Poids moyen feuilles tige par saule (g)	1975					
Poids moyen feuilles par saule (g)	452					

Salix caprea

N° Tige	Salix caprea 1		Salix caprea 2		Salix caprea 3		Salix caprea 4	
	poids tiges (g)	poids feuilles(g)						
1	63,53	19,28	26,1	10,17	31,11	12,13	51,87	27,64
2	72,75	27,23	21,84	13,48	53,56	25,54	35,42	16,59
3	36,14	17,52	66,03	33,93	71,31	36,1	66,83	35,78
4	125,4	47,91	43,96	19,97	28,53	11,13	22,69	12,86
5	35,17	12,3	47,2	17,44	Na	Na	39,56	20,09
6	46,3	20,73	43,74	21,79	Na	Na	50,08	18,89
7	49,55	18,14	33,38	13,55	Na	Na	60,66	24,12
8	14,08	7,54	34,71	16,28	Na	Na	16,96	9,23
9	31,02	12,88	21,96	12,34	Na	Na	52,15	18,54
10	Na	Na	48,87	15,24	Na	Na	19,45	13,29
Total poids 10 branches	410,41	164,25	387,79	174,19	184,51	84,9	415,67	197,03
Nombre de branche du saule	52		83		4		51	
Biomasse totale saule	2738	1060	3219	1446	184,5	85	2120	1005
Poids moyen feuilles tige par saule (g)	2065							
Poids moyen feuilles par saule (g)	899							

Salix fragilis

N° Tige	Salix fragilis 1		Salix fragilis 2		Salix fragilis 3		Salix fragilis 4	
	poids tiges (g)	poids feuilles(g)						
1	18,41	5,77	14,31	6,9	48,32	16,96	16,23	4,18
2	70,43	19,58	26,49	9,69	88,79	32,88	14,88	6,1
3	26,8	9,88	23,81	10,32	138,35	56,43	5,96	2,31
4	47,51	14,41	14,41	7,58	86,87	39,53	9,72	3,28
5	35,45	10,91	9,36	1,94	17,8	6,9	14,21	5,92
6	87,58	30,47	13,56	4,9	20,66	7,52	18,7	4,37
7	164,95	53,95	20,62	11,34	39,54	13,53	6,91	2,78
8	86,59	26	22,16	8,93	13,39	4,39	18,76	6,32
9	36,32	9,72	20,29	8,96	16,92	3,7	7,66	2,86
10	8,17	0,98	37,5	13,12	49,66	20,87	21,01	8,02
Total poids 10 branches	582,21	181,67	202,51	83,68	520,3	202,71	134,04	46,14
Nombre de branche du saule	116		46		24		98	
Biomasse totale saule	6762	2107	932	385	1249	487	777	268
Poids moyen feuilles tige par saule (g)	2430							
Poids moyen feuilles par saule (g)	812							

Rôle des Zones Tampon Végétalisées sur les transferts d'azote et phosphore vers les milieux aquatiques

Résumé

La préservation de la qualité de l'eau est un enjeu majeur du 21^{ème} siècle notamment avec l'augmentation de la population humaine. Or les rejets de stations d'épuration représentent un risque de pollution du milieu récepteur, notamment en azote et phosphore, aux effets néfastes pour la santé et l'environnement. C'est pour limiter cette pollution que les zones tampon végétalisées (ZTV), systèmes d'infiltration ou d'écoulement des effluents, plantés d'espèces végétales, ont été développées. Cette étude a pour objectif principal de mieux comprendre les transferts de nutriments dans ce type de système. L'impact des différents compartiments –Sol, végétation, microflore- a été étudié dans deux ZTVs de type « noues » situées en aval de stations d'épuration végétalisées en activité et dans une zone expérimentale aux modalités contrôlées. Cette étude a démontré l'importance de l'hydraulique du site, de la texture du sol et de la surface de la zone dans l'efficacité de rétention des flux d'eau et nutriments. L'impact du compartiment microbien dépend en grande partie du temps de rétention hydraulique lié à la surface de la ZTV, et du taux d'oxygénation de l'effluent. La végétation permet une amélioration de l'activité microbienne mais son rôle dans la rétention et l'élimination des nutriments s'avère mineur au regard des quantités en nutriments apportés. Le sol est le compartiment majeur de rétention du phosphore, même si une saturation rapide du sol en phosphore pourrait limiter cette potentialité. Ces observations ont permis de mettre en évidence une variabilité de l'efficacité des ZTVs dans la rétention de l'eau et des nutriments. Cette variabilité peut d'ores et déjà être minimisée par des mesures d'aménagement et de gestion. L'étude des transferts de nutriments mérite d'être approfondie et étendue à tous les types de ZTV.

Mots clés : Zone Tampon Végétalisée, azote, phosphore, sol, végétation, activité microbienne

Abstract

The conservation of water quality is a major issue in the 21th century in particular with the increase in the human population. Water-treatment plants rejections represent a risk of pollution of the receiving environment, in particular in nitrogen and phosphorus, with fatal effects for the health and the environment. It is to limit this pollution that the vegetated buffer zones (VBZs), systems of infiltration, where water and nutrients retention are expected, were developed. This study has for main objective to better understand the transfers of nutrients in this type of system. The impact of the various compartments - soil, vegetation, microflora- was studied in two VBZs ditches type, situated downstream to vegetated water-treatment plants in service and in an experimental zone with controlled modalities. This study demonstrated the importance of site hydraulic, soil texture and VBZ surface in effectiveness of water and nutrients retention. The impact of microbial compartment depends largely on the hydraulic retention time bonds to VBZ surface and oxygenation rate of the effluent. Vegetation allows microbial activity improvement but its role in nutrients retention and removal is minor because of high quantities brought by effluents. The soil is the major compartment in phosphorus retention, although a rapid saturation of soil phosphorus could limit this potential. These observations demonstrate variability in the effectiveness of VBZ in water and nutrients retention. This variability could be minimized by planning and management measures. The study of nutrients transfers deserve to be further study and extended to all types of VBZ.

Key words: Vegetated buffer zone, nitrogen, phosphorus, soil, vegetation, microbial activity