

Aix-Marseille Université

Ecole Doctorale 251 « Sciences de l'Environnement »

THESE

Présentée pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université d'Aix-Marseille

**Pérennité, fonctionnalité, efficacité
d'une Zone Humide Artificielle (ZHA) en milieu méditerranéen :
un nouvel écosystème au service du traitement secondaire
des effluents industriels**

Marie-Éléonore Petit

Soutenance prévue le 21 novembre 2017 devant le jury composé de :

Marie-Noëlle PONS	Directeur de Recherche LRGP – Université de Lorraine	Rapporteur
Michel CHALOT	Professeur des Universités Chrono-environnement Université de Franche-Comté	Rapporteur
Patrick HÖHENER	Professeur des Universités LCE, Aix-Marseille Université	Examineur
Isabelle COMBROUX	Maître de Conférences LIVE, Université de Strasbourg	Examineur
Isabelle LAFFONT-SCHWOB	Professeur des Universités LPED, Aix-Marseille Université	Directeur
Véronique MASOTTI	Maître de Conférences IMBE, Aix-Marseille Université	Co-directeur
Julien VIGLIONE	Gérant du bureau d'études ECO-MED	Invité

Thèse préparée au sein de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale UMR 7263 IRD 237 et du bureau d'études ECO-MED

CIFRE n°2014/0208

Remerciements :

Au regard des années passées sur cette thématique, je crois qu'il n'y a rien de plus dur que d'écrire des remerciements. Quand j'ai commencé mes études, je n'aurai jamais espéré faire une thèse et encore moins la faire à Marseille. Au-delà de l'aspect scientifique, cette thèse m'a beaucoup apporté même si parfois j'avais l'impression que cette évidence ne me sautait pas aux yeux après avoir fait une allergie au clavier (oui c'est possible), vécu le saccage de mes petites plantes par un ragondin affamé (qui ne connaît visiblement pas la notion de suivi scientifique), et bien d'autres événements. Mais sans quoi, je crois qu'à l'heure actuelle, je n'aurai pas pris ce recul. Alors merci !!

Je tiens particulièrement à remercier *Isabelle Laffont-Schwob* et *Véronique Masotti* mes deux directrices de thèse. Vous avez été des piliers pour moi et vous avez réussi à me faire grandir autant du point de vue scientifique qu'humain (maintenant je suis une experte en café). Sachez que vous n'avez pas juste été de simples encadrantes et j'espère garder ce lien un peu spécial pendant encore de longues années.

Isabelle, un merci tout particulier pour tout le temps passé sur les relectures et les corrections (^) que tu as effectué sur ma thèse, les abstracts, les poster, les présentations, ... Malgré les coups durs (et il y en a eu !!), tu as toujours trouvé les mots pour me remotiver à ta façon. J'ai beaucoup appris à tes côtés et tu m'as notamment appris à me dépasser.

Véronique, je crois que je peux reprendre les mots d'Anna, merci pour ta capacité à faciliter les choses et désamorcer les situations compliquées. Un jour tu m'apprendras ? Merci également pour toutes les fois où tu as interrompu ton travail pour répondre à mes questions et ce toujours avec le sourire et ta bonne humeur. Merci pour ton soutien indéfectible, dans les meilleurs moments comme dans les pires, dans toutes les situations tu as fait preuve de gentillesse et d'une grande patience. J'espère que je n'étais pas trop envahissante dans ton bureau merci de l'avoir partagé et de m'avoir fait une petite place à tes côtés.

Je remercie également *Julien Viglione* d'avoir toujours cru en moi et de s'être battu (et je crois que les mots ne sont pas faibles) pour notre travail. Tu m'as fait une confiance aveugle durant toute ma thèse en gardant toujours un œil bienveillant sur mes travaux. Merci à toi de m'avoir accueilli dans ton entreprise !

Je suis honorée que *Marie-Noelle Pons* et *Michel Chalot* aient accepté d'être rapporteurs de ma thèse et je les en remercie. Je remercie également *Patrick Höhener* d'avoir accepté d'être examinateur de ma thèse, merci également de m'avoir apporté une aide précieuse pour ma dernière expérimentation riche en rebondissement. Enfin je remercie également *Isabelle Combroux* d'avoir accepté ce rôle dans mon jury, après m'avoir suivie du début à la fin de mon parcours universitaire.

Merci aussi aux membres de mon comité de pilotage de thèse : *Cristian Barca* pour le soutien et le temps passé sur l'expérimentation du suivi de temps de rétention et je te remercie pour ta disponibilité à chacune de mes interrogations ; *Bruno Coulomb* pour son aide en chimie analytique, ses conseils et son accompagnement de mon stage de master 2 à ma thèse ; *Juliette Rouchier* pour son regard extérieur indispensable pour prendre du recul.

Je tenais à remercier particulièrement *Julien Delabrosse* de la société STOGAZ S.A.S. de nous avoir permis de réaliser nos travaux de recherche sur son site malgré les contraintes SEVESO. Je voulais aussi vous remercier pour avoir amélioré nos conditions de travail lors de nos campagnes expérimentales et de toujours vous être rendu disponible lorsque nous avions des problèmes techniques. Et puis je remercie également chaleureusement *Jean-Alain Holdrinet*, *Bastien Richard*, *Pascalou*, *Jean-Claude* et *Thierry* pour l'aide apportée sur mon terrain, leur disponibilité et leur gentillesse. À chaque fois vous avez été présents. Mais que serait ces hommes sans les petites fées *Martine* et *Stéphanie* ! Merci d'avoir pris de votre temps et ce toujours avec le sourire pour m'aider à travailler confortablement.

Merci à *Arnaud Alary* pour son aide précieuse et son expertise en phytoépuration. Merci à l'équipe de Blue-SET, *Océane*, *Edwin* pour leurs aides sur le terrain et d'avoir répondu à toutes mes questions même si elles vous semblaient parfois complètement absurdes. Oui une plante peut être stressée je vous l'assure !

Un immense merci à l'équipe « Développement Métrologiques et Chimie des Milieux » du Laboratoire Chimie de l'Environnement (LCE). Merci *Laurent Vassalo* et *Carine Demelas* qui m'ont apporté un énorme soutien et d'avoir toujours fait preuves de curiosité envers mes travaux de recherches. On peut compter sur vous et croyez moi c'est une qualité bien rare ! Merci à *Laure Malleret*, *Laurence Asia* et *Stéphanie Lebarillier* de m'avoir fait partager vos analyses et vos réflexions en matière de chimie des polluants organiques.

Merci à *Stéphanie Fayolle* pour tout le temps passé sur l'identification du phytoplancton et d'avoir pris le temps pour me faire découvrir sa discipline, merci également à *Benjamin Oursel* pour l'investissement sur le terrain et dans le laboratoire. Merci à *Maxime Logez* pour son aide précieuse en statistiques, tu m'as fait avancer.

Je tenais à remercier *Hélène Folzer* d'avoir été mon soutien alsacien, parce qu'on est d'accord ils sont complètement fada ici. Tu es une personne exceptionnelle, d'une gentillesse et d'une bienveillance incroyable. Tu m'as appris à prendre du recul, être patiente et mesurée. Merci pour les pauses déjeuner chez toi qui m'ont permis de décompresser. Merci à *Marie-Dominique Salducci* pour tout ce que tu as fait pour moi, et de ton temps passé sur le terrain (malgré les tiques). Je n'ai peut-être pas eu de stagiaire mais j'ai eu une Doumé qui envoie du bois (et je crois que je suis bien chanceuse de t'avoir eu). On ne comptera pas toutes les fois où tu m'as boostée, bousculée, fait rigoler (des magnifiques fou-rires), où je t'ai fait rire à mon tour (heureusement pour moi tu riais tellement qu'aucune preuve n'a été cristallisée). Tu as réellement été une partenaire de choc ! Et oui je sais la Corse c'est pas l'Alsace mais un jour je te ferai visiter mon chez moi et promis ça vaut le coup. Merci à ta maman pour l'œil même si ça n'a pas complètement fonctionné j'ai peut-être évité des situations plus catastrophiques. Merci à *Jacques Rabier* pour l'aide précieuse que tu m'as apporté tout au long de ma thèse.

Et voilà *Fanny* à ton tour, on en avait longuement parlé de ces remerciements ! Maintenant par où commencer ? Merci d'avoir illuminé mes journées avec tes Snapchats (merci aussi de m'avoir fait découvrir tes trucs de djeuns), tu as aussi enrichi mon vocabulaire fleuri, domaine que tu maîtrises tant ! J'ai eu la chance de faire mon doctorat au même moment que toi, j'ai donc eu un acolyte du tonnerre, tu es passée d'une simple collègue à une véritable amie (j'te kiffée). Merci de m'avoir fait rire aux éclats, je tenais aussi à te remercier pour ta bienveillance presque quotidienne, elle m'a fait avancer. Merci à toi *Anna* d'avoir ouvert la voie et je pense que sincèrement c'est grâce à toi que j'ai accepté de faire cette thèse, bon faut dire tu me l'as sacrément bien vendu, voire un peu trop j'aurai dû me méfier ... Mais je n'ai rien vu venir. Merci pour toutes ces heures passées ensemble autour de sujets scientifiques quel bonheur d'avoir travaillé avec toi. Merci à *Nicolas Flutet* d'avoir fait la transition entre la thèse d'Anna et la mienne ce qui n'était pas chose aisée. Tu es très professionnel car tu veilles toujours, même après 4 années, au bon état des Eco-filtres. Merci également à *Benoit Lubrano*

pour ton aide lors mes expérimentations, j'espère qu'à travers celles-ci tu as pu découvrir le monde de la recherche.

Et finalement merci à *Julie* et *Alma*, nos doctorats se sont peut-être croisés mais vous avez apporté votre pierre à l'édifice à votre façon. Merci de m'avoir fait découvrir Marseille à mon arrivée ici, vous avez été formidables. Merci aussi à toutes les deux pour toutes nos discussions !! *Alma* tu m'as tellement fait gagner en tolérance et en ouverture d'esprit.

Merci à tous les anciens et actuels collaborateurs d'ECO-MED, j'ai pu découvrir ce monde complexe qu'est le bureau d'étude mais aussi des passionnés de nature, je crois que vous m'avez transmis le virus. Merci à *Jean-Christophe De Massiac* et *Aloux* pour leur appui scientifique et leur bienveillance. J'y ai aussi fait des magnifiques rencontres notamment *Noëlito* je n'oublierai jamais ces quelques mois de pacs où nous avons été liés par des légumes et plus et affinités. Promis je viendrai régulièrement te voir au bureau pour te faire ton petit thé à la berga, ton préféré ^^.

Merci aussi pour tes conseils d'expert des zones humides et de m'avoir accompagné sur le terrain. Merci à *Caro* pour ton recul, ton flow (ou tes punchlines) et tes conseils avisés.

Merci à tous mes ami(e)s de Marseille-City, si on m'avait dit il y a cinq ans que j'allais me lier d'amitié avec des sudistes je n'y aurai jamais cru. Cette thèse sans vous n'aurait certainement pas été simple à réaliser (d'ailleurs elle n'a jamais été simple, mais beaucoup plus difficile sans vous), vous avez tous été là à votre façon pour me réconforter et me motiver. Et surtout vous avez toujours été intéressés par mes travaux même si je pense que certains d'entre vous n'étaient pas forcément passionnés... Un grand merci à ma *lulu*, tu es une de mes plus belles découvertes marseillaises, tu m'as permis d'explorer un peu ton monde qui est à 20000 lieues du mien. Tu es un petit bout de femme très inspirante et d'une énergie fantastique, merci pour ton soutien et ta bienveillance. Merci aussi pour toutes ces soirées où tu as été mon acolyte et il va en avoir d'autres crois-moi ! Merci à *Carole* pour son bel accent et qui à chaque fois à travers sa personnalité me rappelle pourquoi j'aime tant cette ville.

Merci à mes ami(e)s alsaciens *Jeannot*, *David*, *Anne-Laure*, *Quentin*, *Pitounet*, *Val*, *Guillaume*, etc Merci à toi *Gaëlle* mon amie de longue date ! Tu te rends compte du chemin que nous avons parcouru toutes les deux docteurs (enfin presque) toi bien évidemment tu as voulu faire ton originale et travailler sur les babouins. Merci pour ton magnifique et formidable mariage qui a été ma pause estivale, je crois que c'est le plus beau cadeau que tu m'as fait ! Et maintenant impossible pour toi de t'échapper nous sommes liées à

jamais. Merci à toi ma *dédé* ma sœur de cœur après six ans de colocation lors de notre parcours universitaire (malgré tes tentatives de meurtres, trois je crois, j'ai survécu !) je suis encore là et je te ne lâcherai pas.

Merci à mon *pierrot* pour ta patience sachant que ce n'est pas ta qualité première ! Merci d'avoir été là, surtout pendant ces derniers mois où je pense t'en avoir fait baver. Merci également de m'avoir soutenu à ta façon (j'entends encore les « tactacs » de tes combats de titans, et les jolis noms qui suivaient les défaites). Tu m'as fait rentrer dans ta vie, tes ami(e)s sont devenus mes ami(e)s, ton chat est devenu mon chat, cette thèse est aussi un peu ta thèse. Et puis « ton » ou « ta » a fait place à notre.

Merci à mes parents qui ont toujours été là pour moi, je crois que j'ai une chance folle d'avoir des parents aussi attentifs et généreux. Merci à vous de m'avoir permis de faire des études ce qui vous a certainement demandé beaucoup de sacrifice après toutes ces années. Vous m'avez toujours encouragé et poussé à faire des études. Merci à mon père qui je pense est le plus fier de ce travail, tu as toujours voulu faire des études sans pouvoir, je crois que j'ai pris ta revanche. Mais c'est fini hein je révise plus maintenant.

Sommaire

Glossaire des sigles utilisés

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
Partie 1 : Analyse bibliographique et objectifs de l'étude	5
1.1. Généralités sur la phytoépuration	7
1.1.1. Caractéristiques des zones humides naturelles	7
1.1.2. L'ingénierie écologique appliquée aux zones humides	8
1.1.3. Conception et opérationnalité des Zones Humides Artificielles	9
1.1.4. Domaines d'application	15
1.2. Processus en jeu l'épuration des polluants dans les ZHA	16
1.2.1. Le rôle du substrat dans les ZHA	17
1.2.2. Le rôle des microorganismes dans les ZHA	18
1.2.3. Le rôle des plantes dans les ZHA	19
1.2.4. Interactions biotiques et abiotiques	21
1.3. Epuration des effluents industriels	25
1.3.1. Réglementation et caractérisation des polluants industriels	25
1.3.2. Épuration des MicroPolluants Organiques (MPO)	26
1.3.3. Épuration des Éléments Traces Métalliques et Métalloïdes (ETMM)	29
1.3.4. Effets des multipollutions	33
1.4. Composition floristique et choix de la végétation au sein des ZHA	33
1.4.1. Diversité floristiques	35
1.4.2. Interactions biotiques	36
1.4.3. Processus abiotiques	39
1.4.4. De nouveaux écosystèmes au service de l'humain	42
1.5. Dimensionnement des ZHA	43
1.5.1. Choix des paramètres et construction	43
1.5.2. Facteurs opérationnels : TRH, température, oxygénation	46
1.5.3. Efficacité des ZHA	47
1.6. Bilan de l'étude bibliographique et objectifs de l'étude	50
Partie 2 : Matériels et méthodes	53
2.1. Site d'étude : bassin versant du marais des Paluns	55
2.1.1. Localisation	55

2.1.2. Contexte climatique	56
2.1.3. Contexte biogéographique : le marais des Paluns	56
2.1.4. Contexte historique	57
2.2. Mise en place du pilote de phytoépuration	57
2.2.1. Cadre réglementaire	57
2.2.2. Design expérimental des Eco-filtres	58
2.2.2.1. Conception et dimensionnement	58
2.2.2.2. Végétalisation des filtres plantés	61
2.3. Design expérimental	62
2.4. Inventaires floristiques	64
2.5. Inventaires phytoplanctoniques	65
2.6. Inventaires faunistiques	66
2.7. Analyses des paramètres physico-chimiques au sein des Eco-filtres	66
2.7.1. Température, conductivité et pH	67
2.7.2. Quantification du phytoplancton	67
2.7.3. Éléments nutritifs	68
2.7.4. Analyses des ETMM et éléments majeurs dissous	69
2.7.4.1. Préparations des échantillons	70
2.7.4.2. Analyses des ETMM dissous et particulaires par ICP-AES	70
2.7.4.3. Azote total	70
2.7.4.4. Les anions majeurs	71
2.7.4.5. La Demande Chimique en Oxygène (DCO)	71
2.7.4.6. Matière En Suspension (MES)	71
2.7.4.6. Phosphore total	71
2.7.5. Analyses des polluants organiques	72
2.7.5.1. Extractions des polluants organiques dans les échantillons d'eau	72
2.7.5.2. Exposition et traitement des échantillonneurs passifs	73
2.7.5.3. Analyses par GC/MS et UHPLC/PFC	75
2.8. Analyses écotoxicologiques	77
2.8.1. Microtox®	77
2.8.2. Test de germination et de croissance sur <i>Raphanus sativus</i>	79
2.8.3. Evaluation de l'espèce bioindicatrice <i>Epilobium hirsutum</i>	79
2.8.3.1. Design expérimental	79
2.8.3.2. Suivi biométrique	81
2.8.3.3. Suivi des biomarqueurs de stress	81

2.9. Evaluation du temps de séjour des effluents au sein des Eco-filtres	83
2.9.1. Choix du traceur	83
2.9.2. Quantification par HPIC	84
2.9.3. Analyse des résultats	84
2.10. Traitements statistiques des données	85

Partie 3

Chapitre 1 : Changement d'échelle et mise en activité des Eco-filtres	87
3.1.1. Variabilité Structurale des Eco-filtres	90
3.1.1.1. Dimensionnement et caractéristiques physiques des EF	90
3.1.1.2. Modulation de l'alimentation en eau	94
3.1.1.3. TRH : évaluation du temps de rétention après 42 mois d'activité	96
3.1.2. Mise en fonctionnalité du filtre vertical	100
3.1.2.1. Végétalisation du FV	101
3.1.2.2. Propriétés du substrat du FV	103
3.1.2.3. Alternatives à l'utilisation de <i>C. cuprina</i> en FV	103
3.1.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau : comparaison entre les Eco-filtres	104
3.1.3.1. Température	105
3.1.3.2. Variations saisonnières des paramètres physico-chimiques	110
3.1.3.3. Variations saisonnières des éléments majeurs dissous	111
3.1.4. Évolution des compositions biotiques des filtres à écoulement horizontal	113
3.1.4.1. Pérennité des espèces introduites	114
3.1.4.2. Dynamique écologique	119
3.1.4.2.1. Inventaires floristiques	119
3.1.4.2.2. Inventaires phytoplanctoniques	124
3.1.4.3. Faune	125
3.1.5. Coordination entre Maître d'Ouvrage et Maître d'Œuvre dans la mise en place d'une ZHA	128
3.1.5.1. Besoins de retours d'expériences sur le terrain	129
3.1.5.2. Définir les besoins : cahier des charges	130
3.1.5.3. Contraintes site SEVESO	131
3.1.6. Conclusion	131
Chapitre 2 : Réponse structurelle des Eco-filtres dans un contexte de changement hydrique	135
3.2.1. Variations des paramètres environnementaux	138

3.2.2. Effet sur le phytoplancton	141
3.2.3.1. Variation de la diversité phytoplanctonique	141
3.2.3.1. Variation de la densité du phytoplancton	142
3.2.3. Effet sur la végétation	147
3.2.4. Conclusion	150
 Chapitre 3 : Évaluation de l'efficacité épuratoire des Eco-filtre	153
3.3.1. Evaluation des performances épuratoires	156
3.3.1.1. Quantification des polluants	157
3.3.1.2. Suivi des paramètres physico-chimique	164
3.3.1.3. Evaluation de l'écotoxicité par les radis	167
3.3.1.3. Evaluation de l'écotoxicité par le Microtox®	169
3.3.2. Evaluation de l'outil de bioindication <i>Epilobium hirsutum</i>	171
3.3.2.1. Biométrie	172
3.3.2.1. Suivi des biomarqueurs de stress : proline et Multiplex®	175
3.3.3. Conclusion	185
 Conclusion et perspectives	189
Bibliographie	199

Glossaire des sigles utilisés

BIA – Bassin d’Indication Amont
BIC – Bassin d’indication de l’Eco-filtre Centre
BIN – Bassin d’indication de l’Eco-filtre Nord
BIS – Bassin d’indication de l’Eco-filtre Sud
BV – Bassin Versant
CIFRE – Convention Industrielle de Formation par la REcherche
DCO – Demande Chimique d’oxygène
ECO-MED – Ecologie et Médiation
EF – Eco-Filtre
EFC – Eco-Filtre Centre
EFN – Eco-Filtre Nord
EFS – Eco-Filtre Sud
EP – Echantillonneur Passif
ETMM – Eléments en Traces Métalliques et Métalloïdes
FH – Filtre Horizontal
FM – Filtre Mixte
FV – Filtre Vertical
GCMS – Gas Chromatography Mass Spectrometry
GFC – Glass Fiber Cartridges
HAP – Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
HCT – HydroCarbure Totaux
HDPE – High-Density Polyethylene
ICP-AES – Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry
ICPE – Installations Classées pour la Protection de l’Environnement
IMBE – Institut Méditerranéen de Biodiversité et d’Écologie marine et continentale
LCE - Laboratoire de Chimie de l’Environnement
LDPE – Low Density PolyÉthylène
MES – Matière En Suspension
MPO – MicroPolluant Organique
pH – potentiel Hydrogène
LD – Limite de Détection
UHPLC - Ultra-High Pressure Liquid Chromatography
UV – Ultra-Violet
ZH – Zone humide
ZHA – Zone Humide Artificielle
ZNIEFF - Zone Naturelle d’Intérêt Ecologique Faunistique et Floristique

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Exemples d'utilisation de ZHA pour le traitement de différents types d'eaux usées.

Tableau 1.2 : Récapitulatif des mécanismes de traitement des contaminants dans les ZHA (d'après Masbough et al. 2005 ; Moshiri, 1993 ; EPA, 2000b).

Tableau 1.3 : Synthèse d'articles sur l'étude des ZHA à l'échelle pilote pour le traitement effluent pollué. ES : Écoulement en Surface ; FV = Filtre Vertical ; FH = Filtre Horizontal ; ETMM = Éléments traces métalliques et Métalloïdes ; MPO = MicroPolluants Organiques ; Micro = Microcosmes ; Méso = Mésocosmes ; Mono = Monospécifique ; Pluri = Plurispécifique ; TRH = Temps de rétention hydraulique. n.r. : non renseigné.

Tableau 3.1.1 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) en 2016. Dans une même colonne, une lettre (a et/ou b et/ou c) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn). Une * indique une différence significative de valeur entre 2015 et 2016 pour une même cheminée ($p \leq 0,05$, test de Dunn)

Tableau 3.1.2 : Evolution de l'apport journalier en effluent pour les trois EF en litre et en pourcentage de bûchée par rapport à une alimentation normale de 1000 L/jour, calculé à partir du débit d'entrée pour chaque EF.

Tableau 3.1.3 : Valeurs des paramètres définissant le comportement hydraulique des 3 EF : TRHt : Temps de Rétention Hydraulique théorique basé sur les dimensions des filtres au moment de la construction exprimé en jours ; t_M : Temps de séjour moyen exprimé en heures ; σ^2 : étalement de la distribution autour de la moyenne (h^2) et j : nombre de mélangeurs en cascade.

Tableau 3.1.4 : Fréquence des cinq espèces végétales introduites sur les EF

Tableau 3.1.5 : Richesse spécifique au sein des FH des trois EF au mois de mai et d'octobre (nombre d'espèces présentes).

Tableau 3.1.6 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en mai 2016 et recouvrement total des espèces végétales pour chaque EF.

Tableau 3.1.7 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en octobre 2016 et recouvrement total des espèces végétales pour chaque EF.

Tableau 3.1.8. Espèces les plus abondantes dans chaque EF et dans le BIA ainsi que le phylum associé à chaque espèce pour l'inventaire de février, avril, juillet et novembre.

Tableau 3.2.1 : Nombre d'espèces phytoplanctoniques identifiées dans chaque éco-filtre et pourcentage de richesse spécifique totale (41 taxa)

Tableau 3.2.2 : Densité cellulaire des espèces majoritaires par groupe dans chaque éco-filtre et pourcentage d'abondance

Tableau 3.2.3 : Densité cellulaire (cellule.L⁻¹) des grands groupes de phytoplancton dans chaque EF.

Tableau 3.2.4 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en été 2015 pour chaque EF.

Tableau 3.2.5 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en hiver 2015 pour chaque EF.

Tableau 3.3.1 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) en 2016. Dans une même colonne, une lettre (a et/ou b et/ou c) indique que les hauteurs mesurées ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Tableau 3.3.2 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) le 11 juillet 2016 et le facteur de diminution par rapport à la hauteur moyenne en 2016 (en %).

Tableau 3.3.3 : Évolution des concentrations en ETMM dissous au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI : Al (aluminium), As (arsenic), Cd (cadmium), Cr (chrome), Cu (cuivre), Fe (fer), Ni (nickel), Pb (plomb) et Zn (zinc). Une concentration suivie d'une * est supérieure aux seuils réglementaires (European Union, 1976).

Tableau 3.3.4 : Évolution des concentrations en ETMM particulières (µg.g⁻¹) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI.

Tableau 3.3.5 : Évolution des concentrations en Demande Chimique en Oxygène (DCO), Matière En Suspension (MES) Phosphore total (P_{total}), Nitrates, Phosphates, et Azote total (N_{total}) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI. Une concentration suivie d'une * est supérieure aux seuils réglementaires (Directive 91/271/CEE).

Tableau 3.3.6 : Évolution des concentrations en Naphtalène (Naph), Acénaphène (Acenaph), Fluorène (Fluo), Phénanthrène (Phenan), Anthracène (Anthra), Fluoranthène (Fluoran), Pyrène (Pyr), Chrysène (Chrys) et HydroCarbures Totaux (HCT) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI. Une concentration suivie d'une * est supérieure à la norme (Directive n°2008/105/CE).

Tableau 3.3.7 : Évolution des paramètres physico-chimiques de l'eau au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction du BIA et de chaque EF. Pour un même paramètre et pour un même temps, une lettre identique (a et/ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Tableau 3.3.8 : Évolution des CE₅₀ pour les quatre conditions testées à chaque temps de mesure (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) après 30 minutes d'exposition. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de la concentration testée de l'échantillon brut. Les valeurs suivies d'une astérisque (*) sont des valeurs extrapolées.

Tableau 3.3.9 : Évaluation de l'effet inhibiteur des quatre BI à une concentration de 81,9% de l'échantillon prélevé sur la production de la lumière émise par *V. fischeri*, par le Screening

Test 81,9%, à chaque temps de mesure (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) après 30 minutes d'exposition.

Tableau 3.3.10 : Masse de matière fraîche (MMF) des Parties Aériennes (PA) et des Parties Racinaires (PR) à T_{final} pour chaque condition. Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Tableau 3.3.11 : Masses de matière sèche (MMS) moyennes $\pm$ erreur standard des Parties Aériennes (PA) et des Parties Racinaires (PR) et teneur en eau (g) à T_{final} pour chaque condition. Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn).

Tableau 3.3.12 : Concentration en proline (μ mole de Proline par g de masse de matière fraîche) mesurées dans les parties aériennes d'*E. hirsutum* selon le gradient de la ligne bioindicatrice à T_{final} (T₅). Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn).

Liste des figures

Figure 1.1 : Classification des différentes ZHA en fonction du type de végétation puis du type d'écoulement, adapté d'après Fonder et Headley (2010), Vymazal (2001) et Kadlec et Wallace (2008).

Figure 1.2 : Schéma d'un filtre à ES adapté d'après Kadlec et Wallace (2008).

Figure 1.3 : Schéma d'un filtre à écoulement horizontal adapté d'après Kadlec et Wallace (2008) et Wallace et Knight (2006).

Figure 1.4 : Schéma d'un filtre à écoulement vertical adapté d'après Tilley et al. 2014

Figure 1.5 : Processus en mis en place par la plante lors de la phytoremédiation, adapté de Pilon-Smits, 2005.

Figure 1.6 : Schéma représentant les liens entre l'immobilisation, la biodisponibilité et la phytoremédiation des ETMM (adapté d'après Bolan et al., 2014).

Figure 1.7 : Interactions impliquées dans l'épuration des contaminants au sein des ZHA d'après Choudhary et al., 2011.

Figure 1.8 : Interactions chimiques induites par les plantes et les microorganismes (d'après Michaud, 2007 ; Hinsinger et al., 2005)

Figure 2.1. : (A) Localisation du site d'étude en France, (B) Situation géographique du site dans son territoire, (C) Localisation du marais des Paluns (source ECO-MED, 2011).

Figure 2.2 : Emplacement des ZHA sur le foncier de la Société STOGAZ.

Figure 2.3 : Dispositif expérimental

Figure 2.4 : Coupe longitudinale d'un Eco-filtre avec le BIA, le FV, le FH et le BI

Figure 2.5 : Plantation des 5 espèces végétales sélectionnées en conditions contrôlées dans les FH de façon aléatoire systématique : (E) = *E. hirsutum* ; (J) = *J. inflexus* ; (C) = *C. cuprina* ; (I) = *I. pseudacorus* ; (A) = *A. lanceolatum*.

Figure 2.6 Déroulement général des interventions et des expérimentations *in situ*.

Figure 2.7 : Quadrillage des Eco-filtres (A) Exemple de quadrillage, mis en place au niveau du FH (Eco-filtre Nord) (B) Schéma du quadrillage commun au 3 Eco-filtres en 2016

Figure 2.8. : (A) Chemcatcher® de 1^{ère} génération (Université de Portsmouth) ; (B) Dispositif installé dans les cheminées de prélèvement.

Figure 2.9 : Appareil de mesure Microtox® utilisé lors de la campagne

Figure 2.10 : Design expérimental (A) Schéma général agencement des paniers *in situ* (B) schéma des paniers par condition (C) Paniers installés dans le bassin d'indication de l'Eco-filtre Sud

Figure 2.11 : Appareil portatif MULTIPLEX® 3 (FORCE-A, ORSAY, France).

Figure 2.12 : Suivi des individus *E. hirsutum* sur la ligne bioindicatrice du FH Sud

Figure 3.1.1 : Représentation schématique des trois EC en vue aérienne et leurs dimensions réelles.

Figure 3.1.2 : Représentation schématique d'une coupe longitudinale d'un Eco-filtre et des quatre cheminées de prélèvements.

Figure 3.1.3 : Évolution en fonction du temps de séjour $E(t)$ du bromure modélisée à partir des concentrations de bromure mesurées en sortie des 3 EF.

Figure 3.1.4 : Représentation schématique du filtre mixte et du filtre horizontal en coupe longitudinale

Figure 3.1.5 : Photographies des filtres verticaux des trois EF : (A) Eco-filtre Sud, (B) Eco-filtre Centre et (C) Eco-filtre Nord le 19 mars 2015.

Figure 3.1.6 : Température moyennes journalières de l'eau (°C) mesurée dans les cheminées de prélèvement du BIA et des 3 Eco-filtres sur la période d'août 2016 à avril 2017, (A) cheminée de prélèvement 1 de chaque Eco-filtre et la cheminée de prélèvement du BIA, (B) cheminée de prélèvement 2 et du BIA, (C) cheminée de prélèvement 3 et du BIA et (D) cheminée de prélèvement 4 et du BIA.

Figure 3.1.7 : Amplitudes journalières de la température de l'air (°C) à proximité de la cheminée de prélèvement 2 des trois EF et de la surface de la pouzzolane sur les périodes (A) estivale d'août à septembre 2016 et (B) hivernal de décembre 2016 à janvier 2017.

Figure 3.1.8 : Amplitudes journalière de la température de l'air (°C) à proximité de la cheminée de prélèvement 3 des 3 Eco-filtres et de la surface de la pouzzolane sur les périodes (A) estivale d'août à septembre 2016 et (B) hivernal de décembre 2016 à janvier 2017.

Figure 3.1.9 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des données physico-chimiques des quatre cheminées de prélèvement des EF. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = Effluent cheminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}$) = conductivité électrique; Temp. (°C) = température ; O₂ (%) = Pourcentage d'oxygène dissous ; O₂ (mg/L) = concentration en oxygène dissous.

Figure 3.1.10 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des éléments dissous dans l'eau des quatre cheminées de prélèvement des EF. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = Effluent cheminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; F⁻ = fluor (mg/L); NO₃⁻ = nitrate (mg/L); NO₂ = dioxyde

d'azote (mg/L); K^+ = potassium (mg/L); Ca^{2+} = calcium (mg/L); PO_4^{3-} = phosphate (mg/L); Cl^- = ion chlorure (mg/L); Na^+ = sodium (mg/L); Mg^{2+} = magnésium (mg/L); SO_4^{2-} = sulfate; SiO_2 = dioxyde de silicium (mg/L); NH_4^+ = ammonium (mg/L); Phéopigments ($\mu g/L$); Chloro a = chlorophylle a ($\mu g/L$); Chloro b = chlorophylle b ($\mu g/L$); Chloro c = chlorophylle c ($\mu g/L$); Chloro a active = chlorophylle a active ($\mu g/L$).

Figure 3.1.11. : Individu représentatif de l'espèce *E. hirsutum* (cliché J. De Vos).

Figure 3.1.12. : Individu représentatif de l'espèce *I. pseudacorus* (cliché H. Zell).

Figure 3.1.13. : Individus représentatifs de l'espèce *J. inflexus* (cliché J. Maréchal).

Figure 3.1.14. : Individu représentatif de l'espèce *A. lanceolatum* (cliché J. Maréchal)

Figure 3.1.15. : Individu représentatif de l'espèce *C. cuprina* (cliché par M.E. Petit).

Figure 3.1.16 : Vues des FH des trois Eco-filtres (FH) prises le 24 mai 2016 (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN (clichés M.-E. Petit).

Figure 3.17 : (A) le leste verdoyant méridional (*Lestes virens* ssp. *virens* Charpentier, 1825) (cliché M. Tardy) et (B) le Sphinx de l'Epilobe (*Proserpinus proserpina* Pallas, 1772) (cliché M.-E. Petit).

Figure 3.1.18. : (A) *Mantis religiosa*, (B) *Ischnura elegans*, (C) *Orthetrum brunneum*, (D) *Leptotes pirithous*, (E) *Ruspolia nitidula* juvenile et (F) *Crocothemys erythraea* (clichés M. Tardy et M.E. Petit) observés le 22 juillet 2015 ; (G) *Aeschna affine* (*Aeshna affinis*), (H) Demi-Deuil (*Melanargia galathea*) et (I) Sympétrum strié (*Sympetrum striolatum*) (identifications et clichés par P. Höhener) observés le 12 juin 2017.

Figure 3.1.19 : Représentation des échanges entre le maître d'ouvrage et le maître d'œuvre (selon le modèle de Riley et Riley ; Picard, 1992).

Figure 3.2.1 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des données physico-chimiques et des éléments majeurs dissous des quatre cheminées de prélèvement des EF en hiver et en été 2015. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = Effluent cheminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; ● = automne ; ■ = été Cond. ($\mu s/cm$) = conductivité électrique ; Temp. ($^{\circ}C$) = température ; O_2 (%) = pourcentage d'oxygène dissous ; O_2 (mg/L) = concentration en oxygène dissous ; F^- = fluor (mg/L); NO_3^- = nitrate (mg/L); NO_2 = dioxyde d'azote (mg/L); K^+ = potassium (mg/L); Ca^{2+} = calcium (mg/L); PO_4^{3-} = phosphate (mg/L); Cl^- = ion chlorure (mg/L); Na^+ = sodium (mg/L); Mg^{2+} = magnésium (mg/L); SO_4^{2-} = sulfate; SiO_2 = dioxyde de silicium (mg/L); NH_4^+ = ammonium (mg/L); Pheo = phéopigments ($\mu g/L$); Cla = chlorophylle a ($\mu g/L$); Clb = chlorophylle b ($\mu g/L$); Clc = chlorophylle c ($\mu g/L$); Clact = chlorophylle a active ($\mu g/L$).

Figure 3.2.2. : Photographies des trois espèces majeures observées dans les EFC au microscope inversé (grossissement 400X) (A) *Achnanthes minutissimum*, (B) *Fragilaria ulna* et (C) *Melosira varians*.

Figure 3.2.3. : Représentation graphique descriptive de la flore en fonction du régime hydrique appliqué par EF en été et en hiver 2015 : (A) Richesse spécifique et (B) Indice de Shannon.

Figure 3.3.1 : Représentation graphique des résultats de l'analyse discriminante linéaire des éléments quantifiés dans l'eau des quatre cheminées de prélèvements des BI toutes dates confondues. BIA = cheminée de prélèvement en amont des EF ; BIS = BI de l'EF Sud ; BIC = BI de l'EF Centre ; BIN = BI de l'EF Nord ; Al = aluminium ; Cd = cadmium ; Cr = chrome ; Cu = cuivre ; Fe = fer ; Ni = nickel ; Pb = plomb ; Zn = zinc ; DCO = Demande Chimique en Oxygène ; MES = Matière En Suspension ; Nitrates ; Phosphate et Ntotal = Azote total.

Figure 3.3.2 : Représentation graphique des résultats de l'analyse discriminante linéaire des paramètres physico-chimiques dans l'eau des quatre cheminées de prélèvements des BI. BIA = cheminée de prélèvement en amont des EF ; BIS = BI de l'EF Sud ; BIC = BI de l'EF Centre ; BIN = BI de l'EF Nord ; Conductivité (mS.cm^{-1}) = conductivité électrique ; Température ($^{\circ}\text{C}$) ; % saturation ($\%\text{.L}^{-1}$) = pourcentage d'oxygène dissous ; Concentration en oxygène dissous (mg.L^{-1}).

Figure 3.3.3 : Effets des différentes conditions (BIA, BIS, BIC et BIN) et du contrôle (C) sur *Raphanus sativus* à T4: (A) taux de germination, (B) masse de matière fraîche et (C) masse de matière sèche. Pour un même paramètre, un astérisque (*) indique que la moyenne d'une condition est significativement différente du contrôle à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.4 : Effets des différentes conditions en entrée et en sortie des EF durant 35 jours (T_0 à T_4) sur l'espèce *E. hirsutum* sur (A) la hauteur des parties aériennes et (B) la proportion de feuilles vertes lors de l'expérimentation d'évaluation de l'espèce bioindicatrice *E. hirsutum*. Pour un même temps de mesure et pour chaque paramètre, une même lettre (a et/ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.5 : Évolution au cours du temps des biomarqueurs de stress mesurés sur *E. hirsutum* dans les paniers placés dans les différents bassins d'indication et dans le contrôle, : Indices de (A) Chlorophylle, (B) Flavonols, (C) Anthocyanes, (D) N/C et (E) composés phénoliques. Pour un même paramètre et à un même temps de mesure, un astérisque (*) indique que les moyennes sont significativement différentes à $p < 0,05$ (Test Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.6 : Évolution du biomarqueur de stress SFR_R (indice de chlorophylles) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , et T_5) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS Eco-filtre sud (B) EFC Eco-filtre centre et (C) EFN Eco-filtre nord durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.7 : Évolution du biomarqueur de stress FLAV (indice de Flavonols) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , et T_5) en fonction des gradients des trois

EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.8 : Évolution du biomarqueur de stress ANTHO_RG (indice d'anthocyanes) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.9 : Évolution du biomarqueur de stress NBI_R (N/C) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 3.3.10 : Évolution du biomarqueur de stress composés phénoliques chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Figure 4.1 : Schéma décisionnel pour l'évaluation de la qualité de l'eau en entrée et en sortie des ZHA. SR = Seuils Réglementaires ; SD = Seuils de Détection ; LT = Limite de Toxicité.

Introduction

Le bassin méditerranéen est un hotspot de biodiversité (Médail et Quézel, 1999) et a été identifié comme l'une des régions les plus vulnérables du monde face aux changements globaux et à la pression anthropique (Milano et al., 2012). Il rassemble 10% des espèces végétales connues pour 1,6% de la surface terrestre, beaucoup d'entre elles sont endémiques et menacées en raison de fortes contraintes (stress hydrique, absence de continuité écologique ; Caessteker, 2007). Le bassin méditerranéen héberge de nombreuses Zones Humides (ZH) de grande valeur écologique, économique et sociale. Les paysages typiques des ZH de la région méditerranéenne comprennent des lagunes côtières, des cours d'eau, des marais permanents et temporaires (Pearse et Crivelli, 1994). Les activités anthropiques telles que l'industrialisation et l'urbanisation ont progressivement causé leur destruction ou dégradation (Turner, 1991) à travers la rupture des continuités écologiques, l'eutrophisation et la contamination des cours d'eau, l'introduction d'espèces invasives et les pratiques de drainages (Brisson et Malvárez, 2002). À cela s'ajoute les effets des changements climatiques par la transformation des régimes de précipitations. Ces dernières sont pourtant une ressource importante pour le maintien de l'intégrité des ZH (Fossey et Rousseau, 2016).

Toutefois la conscience environnementale et la mobilisation pour le développement durable ont progressé ces dernières années. Nombreux pays ont mis en œuvre des politiques environnementales, avec une attention particulière sur les ZH (Convention de Ramsar, 1971 ; Davis, 1994). La recherche de stratégies de développement alternatif faisant appel au potentiel des écosystèmes naturels est en émergence ces dernières années. Cela a favorisé le développement d'outils d'ingénierie écologique. Dans ce contexte et dans une démarche de développement durable, il est nécessaire de concevoir une approche intégrative pour la prévention, le contrôle de la pollution et pour limiter l'impact de cette dernière sur les ressources en eau, la biodiversité et la santé humaine. Les rejets des effluents industriels prétraités sont déchargés en continu et peuvent contribuer à une diminution de la population faunistique aquatique et de la biodiversité du milieu récepteur (Stalter et al., 2013).

Les industries sont particulièrement concentrées sur le littoral français méditerranéen. Ce réseau dense va créer une forte pression de contamination sur le ZH littorales (Kanzari et al., 2011). Ces regroupements d'activités industrielles vont également exercer une pression sur la qualité de la nappe phréatique et impacter indirectement les écosystèmes des ZH

méditerranéennes qui dépendant principalement de celle-ci (Dimitri et al., 2008). L'installation de Zones Humides Artificielles (ZHA) à l'interface des zones industrialisées et d'un milieu naturel favorise les services des écosystèmes naturels, l'intégration dans le milieu et constitue un outil autonome et à faible coût, qui peut s'avérer être une solution envisageable. Le développement de ZHA servant de traitement secondaire des pollutions permettrait ainsi de limiter le rejet et l'impact des activités industrielles sur le milieu naturel. Ces systèmes sont basés sur les principes du biomimétisme relatif à la phytoépuration ayant lieu dans le milieu naturel (Stottmeister et al., 2003). Cette technique consiste à reproduire et à potentialiser les processus d'épuration qui ont lieu dans les ZH naturelles, pour traiter des effluents de diverses origines (Vymazal, 2009). Elle est à l'heure actuelle une solution écologique moins intrusive que les systèmes de traitements conventionnels, et est de plus en plus utilisée (Kadlec et Wallace, 2008). Néanmoins, la réussite d'une telle installation dépend de plusieurs facteurs pouvant être impactés par des paramètres environnementaux, ce qui peut à terme limiter l'efficacité du traitement.

Les ZHA ont déjà été exploitées pour le traitement des effluents industriels mais très peu pour réduire la multipollution d'un bassin versant industrialisé (Guittonny-Philippe et al., 2014). La plupart des recherches dans le domaine de la phytoépuration sont réalisées dans des conditions contrôlées ou semi-contrôlées (Seeger et al., 2011), et de fait non soumises aux aléas écologiques (événements climatiques, infestation par des espèces indésirables, perturbations anthropiques...). De plus un nombre restreint de travaux concerne l'utilisation d'espèces végétales locales éco-adaptées, pourtant leur utilisation est recommandée (Marchand et al., 2010 ; Guittonny-Philippe et al., 2015). De plus, bien qu'elles aient été largement implantées en France, en Europe et à travers le monde, il existe très peu de retours d'expériences concernant l'évolution dans le temps des ZHA et de leur pérennité face aux changements globaux.

Les travaux présentés dans ce mémoire de thèse s'inscrivent dans cette démarche et se penchent sur ces thématiques. Cette thèse a été menée dans le cadre d'un contrat de collaboration de recherche entre l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie (UMR CNRS 7263 / IRD 237) et la société ECO-MED (Ecologie-Médiation), soutenue par une CIFRE (Convention Industrielle de Formation par la Recherche) dans la continuité d'une précédente thèse (Guittonny-Philippe, 2014).

Au travers d'expérimentations *in situ* et de suivis biologiques, un site pilote installé à l'interphase d'un bassin versant anthropisé et d'une ZH protégée, le marais des Paluns, a été étudié. Ce site, présentant à la fois les contraintes liées à sa proximité d'un site protégé naturel

et d'un site industriel, offre l'opportunité de questionnements scientifiques sur les capacités des plantes locales à tolérer et à épurer la pollution émise en amont. Les objectifs de cette thèse sont de suivre la biocénose implantée et spontanée d'une ZHA en contexte méditerranéen, d'évaluer ses fonctionnalités et son efficacité épuratoire et enfin de questionner la pérennité de tels systèmes dans un contexte de changements globaux.

Partie 1 : Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur la phytoépuration

La phytoépuration est un processus inspiré du fonctionnement des zones humides naturelles et qui est depuis plusieurs décennies exploité pour le traitement des eaux.

1.1.1. Caractéristiques des zones humides naturelles

Les zones humides (ZH) sont des milieux transitoires entre terre et eau, elles peuvent être chargées en eau douce, salée ou saumâtre, de façon temporaire ou permanente, et sont dominées par une végétation adaptée aux milieux saturés en eau (Price et Probert, 1997). Elles se caractérisent par la présence d'un type de végétation dominé par des macrophytes et des hélrophytes et par des caractéristiques du sol qui se sont développées en réponse aux conditions humides et saturées (Fonder et Headley, 2013). Ces propriétés les rendent uniques et les placent parmi les principaux groupes d'écosystèmes sur terre (Kadlec et Wallace, 2008). Par leurs caractéristiques et leurs spécificités, elles fournissent des biens précieux et peuvent être source de nombreux services écosystémiques (Costanza et al., 1998). Ces fonctionnalités comprennent le maintien de la qualité et de l'approvisionnement en eau, une protection contre les inondations, la régulation des gaz atmosphériques, la séquestration du carbone et le maintien d'un biotope unique autochtone (Dise, 2009). Les ZH ont une fonction épuratoire et/ou biogéochimique dans la qualité de l'eau comme par exemple la rétention de matières en suspension, la transformation et la consommation en nutriments ou la séquestration de polluants, ce qui en fait des filtres naturels (Mitsch et Gosselink, 2000). Dans un premier temps cette fonction épuratoire a été étudiée dans le but d'épurer des eaux usées prétraitées, faiblement chargées en phosphore et azote pour les rejeter directement dans le milieu naturel (Nichols, 1983). Aux Etats-Unis, les ZH ont ainsi été soumises à des rejets d'eaux usées provenant de diverses sources telles que municipales, industrielles, agricoles ou encore des eaux de ruissellement. Par exemple, la ZH de Great Meadows (MA) reçoit des eaux usées municipales rejetées depuis 1912 (Kadlec et Wallace, 2008). Les impacts réels de ces intrants sur les différentes ZH réceptrices ont été assez variables. En effet les activités anthropiques (exploitations des ressources naturelles et génération de pollutions) ont parfois entraîné des perturbations du milieu naturel par le rejet de polluants et par la relocalisation de matériaux naturels (Goudie, 2013). Ainsi la ZH réceptrice ayant subi de fortes pressions (quantité et diversité des polluants) n'est plus toujours à même de gérer la perturbation et sa capacité d'auto-épuration ne suffit plus.

Toutefois, aux cours des dernières décennies, l'utilisation prévue des ZH pour répondre aux objectifs de traitement des eaux usées et de la qualité de l'eau a été abondamment étudiée et mise en œuvre de manière contrôlée, et les progrès de l'ingénierie écologique ont grandement contribué à rendre plus performante la fonction épuratoire des ZH.

1.1.2. L'ingénierie écologique appliquée aux zones humides

L'ingénierie écologique est l'application des principes de l'écologie à la gestion durable de l'environnement aux bénéfices de l'homme et de la nature (Mitsch, 2012).

Le rôle fonctionnel des ZH dans l'amélioration de la qualité de l'eau est un motif supplémentaire pour la préservation des ZH naturelles ces dernières années.

L'ingénierie écologique appliquée aux zones humides peut être divisée en trois catégories en fonction de leur but :

- *la restauration de zones humides* correspond à la remise en état de zones humides naturelles détruites ou fortement dégradées par le passé grâce à une intervention humaine, l'objectif étant que l'écosystème dégradé se rapproche de l'écosystème naturel.
- *la création de zones humides* est la transformation d'un site qualifié de non humide par des travaux de génie civil en écosystème de zone humide à des fins autres que l'amélioration de la qualité de l'eau.
- *le traitement par zones humides* correspond à un ensemble de systèmes artificiels conçus pour améliorer et optimiser certains processus physiques et biochimiques ayant lieu dans les écosystèmes naturels des zones humides, dans le principal but d'éliminer les contaminants des eaux polluées.

Dans ce contexte d'amélioration de la qualité des ZH, la fonctionnalité liée à l'épuration ne représente donc qu'une partie des services qui sont créés ou restaurés grâce aux opérations d'ingénierie écologique. Ainsi, la phytoremédiation correspond à l'ensemble des processus utilisés par les plantes et les microorganismes associés pour assimiler, dégrader, séquestrer, métaboliser et immobiliser les polluants organiques et/ou inorganiques dans les différents compartiments de l'environnement que ce soit le sol, l'air ou l'eau (Pilon-Smits, 2005 ; Susarla et al., 2002 ; Macek et al., 2000). La phytoépuration en est une application parmi d'autres en milieux aqueux, dans le but de recréer les processus épuratoires d'origine biotique et abiotique survenant dans les ZH naturelles. L'analyse de ces processus a permis de

concevoir, par une approche de bio-mimétisme, des systèmes d'ingénierie écologique appelés « Zone Humides Artificielles » (ZHA) ou encore « lit planté », « marais artificiel » ou encore « filtre planté » dans des zones où les ZH ne s'y trouvent pas naturellement. Leur conception est basée sur les caractéristiques spécifiques d'épuration des ZH appliquées dans un environnement semi-contrôlé (Moshiri, 1993). Les ZHA offrent des avantages supplémentaires tels que la création d'habitats pour la faune et la flore, des espaces inondables, des espaces récréatifs, etc... (Sundaravadivel et Vigneswaran 2001) Les ZHA utilisées pour le traitement des eaux usées primaires et secondaires sont souvent appelées ZHA de traitement et les ZHA construites pour le traitement avancé des eaux usées secondaires et tertiaires fournissant d'autres avantages sont appelées ZHA améliorées (EPA, 2000b).

Les premiers travaux de recherche sur les ZHA ont été conduits par Seidel au Max Plank Institute en Allemagne en 1952 (Seidel, 1953). Au début des années 60, Seidel a réalisé de nombreuses expérimentations sur plusieurs types de plantes et d'eaux usées (des eaux contenant du phénol, des eaux usées domestiques...) pour finalement développer un système (the « hydrobotanical method ») servant de socle conceptuel au système hybride encore utilisé actuellement (Vymazal, 2005). La première ZHA à grande échelle fut construite en 1974 par Kickuth pour le traitement d'eaux usées municipales de la ville de Liebenburg-Othfresen (Kickuth, 1977). Suite à cela dans les années 80, plusieurs ZHA furent construites dans d'autres pays européens (Autriche, Suisse), présentant toujours des caractéristiques de conception proche de celles développées par Seidel et Kickuth. Dans les années 90, un engouement pour cette « nouvelle » technologie s'est propagé en Amérique du Nord principalement pour leur conception simple (utilisation de matériaux locaux et de main d'œuvre locale), un entretien minime (contrairement aux autres traitements alternatifs), leur coût modique et leur efficacité de traitement. La recherche autour de la phytoépuration s'est alors développée dans le but d'adapter cette technique à d'autres types d'effluents (industriels, miniers, agricoles, eaux de ruissellement). Un des axes majeurs d'optimisation de la phytoépuration passe par la conception de ZHA dans lesquelles les fonctionnalités naturelles sont déséquilibrées afin de privilégier de meilleures performances épuratoires.

1.1.3. Conception et opérationnalité des Zones Humides Artificielles

Les ZHA ont donc historiquement été conçues pour optimiser les processus d'autoépuration et ainsi améliorer les capacités de traitement des différents compartiments des ZH naturelles.

Les trois principaux compartiments sont le sol, les microorganismes et les plantes, et seront explicités dans la partie 1.2). Il existe une typologie quelque peu complexe des ZHA en fonctions du type de polluants présents dans les effluents à traiter (Kadlec et Wallace, 2008), chaque modèle présentant une architecture, un substrat, des espèces végétales et une configuration d'écoulement spécifique. De nombreux noms sont ainsi utilisés pour décrire toutes les variantes de ZHA même si la conception physique et les caractéristiques opérationnelles sont essentiellement les mêmes. Les terminologies employées varient souvent selon le pays, la discipline ou la volonté de l'auteur de mettre en avant une conception « innovante » (Fonder et Headley, 2013). La classification classique des modèles est basée tout d'abord sur le type de végétation implanté (hélrophytes, hydrophytes) puis par le type d'écoulement opposant l'écoulement en surface et l'écoulement souterrain (Figure 1.1). Effectivement, ces différences de conception vont entraîner des interactions biotiques et abiotiques variées. Ces interactions vont gouverner les processus épuratoires des polluants et moduler les processus épuratoires. Ainsi chaque filtre va être conçu en fonction du type de polluants à traiter dans le but d'optimiser son épuration.

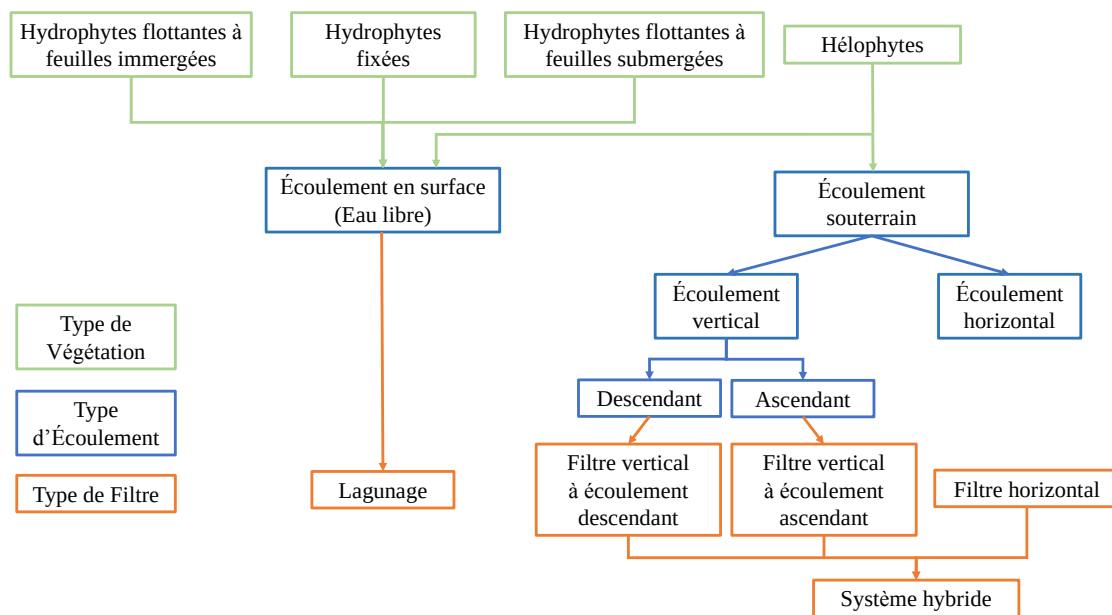


Figure 1.1 : Classification des différentes ZHA en fonction du type de végétation puis du type d'écoulement, adapté d'après Fonder et Headley (2010), Vymazal (2001) et Kadlec et Wallace (2008).

Pour simplifier, les trois grands types de ZHA standards sont :

- le lagunage (ou filtre à écoulement en surface) : les ZH ont des zones d'eau libre (forte oxygénation des eaux) et sont semblables en apparence aux marais naturels.
- les filtres horizontaux (FH) : les hélophytes sont plantées dans un substrat de type gravier ; l'eau est maintenue sous la surface du lit planté et s'écoule horizontalement et gravitairement de l'entrée vers la sortie.
- les filtres verticaux (FV) : l'eau circule par gravité à travers la surface du substrat (sable ou gravier) implanté avec des hélophytes.

Le filtre à Ecoulement en Surface (ES) typique (Figure 1.2) est un bassin ou une suite de bassins étanches peu profonds (entre 20 et 40 cm). Ces ZH sont végétalisées par des hydrophytes et/ou par des hélophytes sélectionnées lors de la conception (Kadlec, 1995), la végétation est en général dense et recouvre 50% de la surface du filtre. Outre la colonisation secondaire par des espèces végétales exogènes, ce type de lit planté attire une grande diversité de faune à savoir des insectes, des mollusques, des amphibiens, des oiseaux et des mammifères mais aussi des espèces réputées nuisibles de type moustiques. L'eau va circuler lentement à travers le réseau racinaire privilégiant des phénomènes de sédimentation, de filtration, d'adsorption, d'oxydation et de précipitations au fond des bassins.

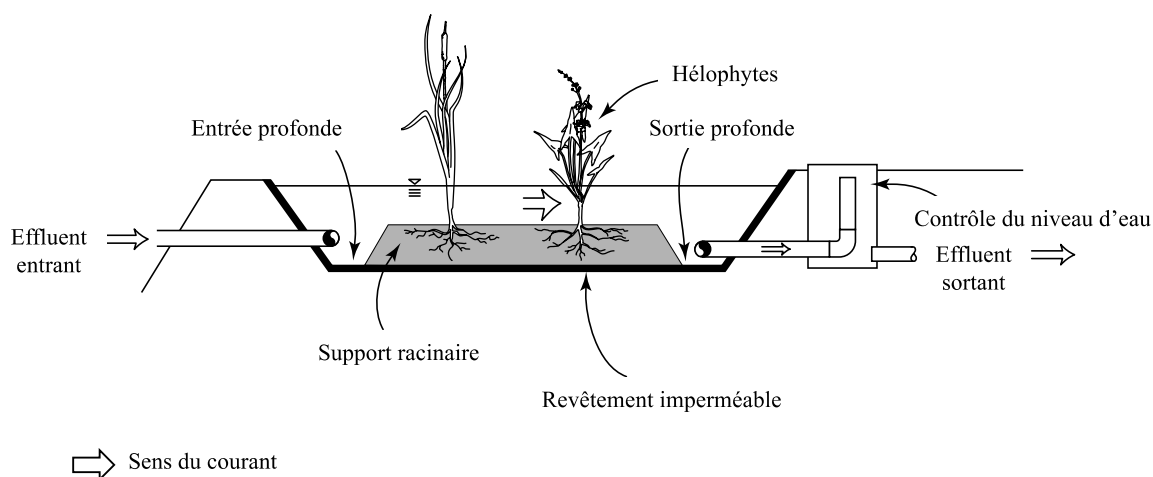


Figure 1.2 : Schéma d'un filtre à ES adapté d'après Kadlec et Wallace (2008).

Les filtres à ES peuvent être utilisés à différentes étapes du traitement des eaux usées. Grâce à leur plasticité, différents types de polluants peuvent être traités. L'application la plus courante consiste à épurer des eaux résiduaires de type secondaire ou tertiaire. Ils sont adaptés à tous

les climats, y compris les régions très froides. Les filtres à ES sont souvent utilisés pour le traitement des eaux de ruissellement urbaines, agricoles et industrielles en raison de leur meilleure capacité à faire face à des afflux importants d'eau et/ou à des baisses de niveau d'eau (sécheresse) par rapport aux filtres à écoulement souterrain (Fonder et Headley, 2010). L'application et la fiabilité de ces systèmes pour le traitement des eaux usées domestiques ont fait l'objet d'un article de synthèse (Sundaravadivel et Vigneswaran, 2001) dont il ressort qu'en règle générale, un filtre ES nécessite une emprise au sol importante, et que la plupart des processus de traitement se produisent dans la colonne d'eau et dans la couche de litière au fond du filtre. Grâce à la diffusion de l'oxygène atmosphérique, une couche aérobie se forme sur la surface de l'eau. Par conséquent, la teneur en oxygène diminue avec la profondeur de l'eau (Liu et al., 2016). Dans ce contexte, les plantes apparaissent comme jouant un rôle mineur dans les processus d'épuration (Vymazal, 2013). Elles ont un rôle support pour la population microbienne, principale actrice de l'épuration des polluants, et fournissent un apport de carbone organique (biomasse végétale en décomposition) nécessaire à la dénitrification (Liu et al., 2016).

Les FH sont habituellement utilisés pour traiter les eaux usées de type primaire ou secondaire. En Europe, ces systèmes sont utilisés pour traiter les eaux usées de petites communes (d'environ 2000 équivalents habitants). Ils sont également utilisés fréquemment pour le traitement d'eaux usées provenant d'industrie et de drainage minier (Fonder et Headley, 2010). Dans les FH, les eaux usées traversent des zones anaérobies, anoxiques et aérobies (Figure 1.3). Les zones aérobies se situent à proximité directe des racines et des rhizomes (Konnerup et Brix, 2009). Ces types de lit ont habituellement une profondeur de 0,6 à 0,8 m pour permettre aux racines des plantes de pénétrer dans tout le lit planté et d'assurer l'oxygénation de manière homogène grâce à la libération d'oxygène par le réseau racinaire (Vymazal, 2005). Les eaux usées sont destinées à rester sous la surface du substrat (à environ 5 cm dessous) en zone saturée et à s'écouler lentement à travers le milieu poreux et autour des racines (Vymazal, 2009). Ainsi l'eau n'est pas au contact de l'atmosphère, les risques de prolifération d'organismes sources de nuisances (de type moustique) sont minimisés. Les filtres plantés horizontaux sont capables de fonctionner dans des conditions climatiques plus froides que les filtres à écoulement libre et vertical grâce à leur meilleure inertie thermique (liée au substrat et à la végétation).

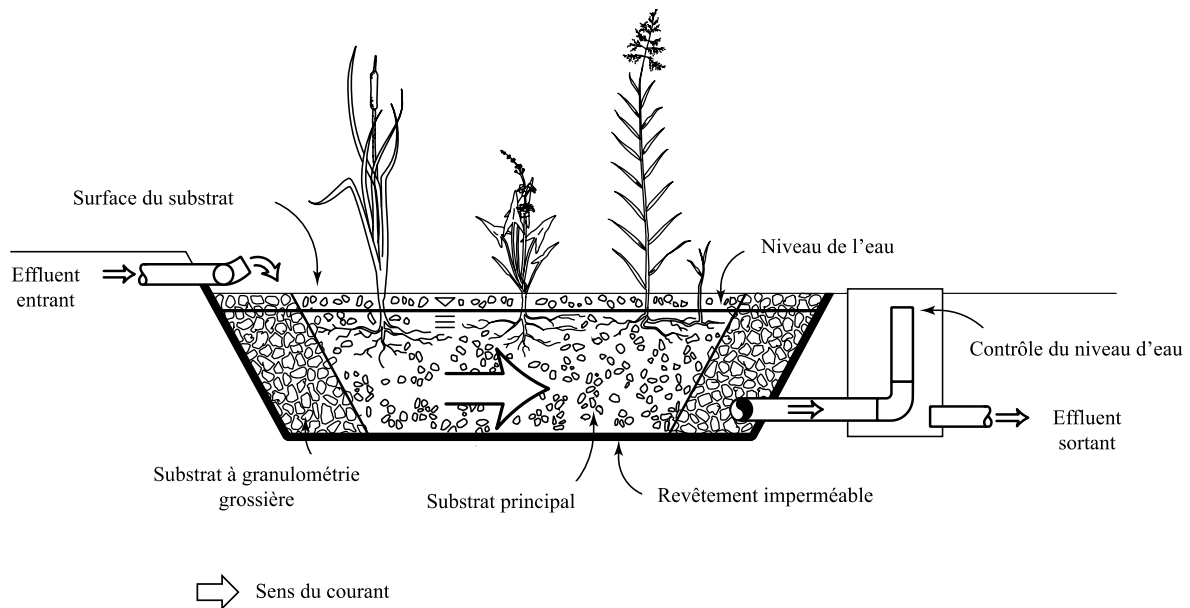


Figure 1.3 : Schéma d'un filtre à écoulement horizontal adapté d'après Kadlec et Wallace (2008) et Wallace et Knight (2006).

Typiquement, la différence entre les FV et FH correspond au degré de saturation du substrat : le FH est constamment saturé contrairement au FV passant par des cycles de saturation. Dans le dernier cas, le FV (Figure 1.4) est alimenté en eaux usées par intermittence et de façon alternée (Knowles et al., 2011) afin de rétablir les conditions d'aérobies dans le filtre après un cycle anaérobie (Tilley et al., 2014). Ils sont utilisés dans de nombreux pays européens, en particulier pour le traitement secondaire des eaux usées primaires domestiques et industrielles (Kadlec et Wallace 2008).

Les eaux usées sont réparties sur toute la surface du FV par un système de distribution et traversent le substrat selon un chemin vertical (Yalcuk et Ugurlu, 2009). En traversant cette couche de substrat poreux, l'eau se sature en oxygène (Maier et al., 2009). De cette façon, l'aération du filtre est améliorée et l'activité microbienne est stimulée, permettant ainsi l'oxydation de la matière organique mais aussi de polluants inorganiques (Cooper, 1999). Grâce à l'apport d'oxygène plus important, les FV sont utilisés de plus en plus fréquemment pour le traitement des eaux usées riches en ammonium et à Demande Chimique en Oxygène (DCO) élevée (de type lixiviat de décharge et eaux usées agricoles) (Fonder et Headley, 2010). Par ailleurs, la végétation transfère une petite quantité d'oxygène dans la rhizosphère mais le rôle principal de la végétation est de maintenir la perméabilité au sein du filtre.

L'alimentation en eaux usées par intermittence limite la croissance des microorganismes ; de cette façon, la porosité dans le filtre est augmentée (Tilley et al., 2014).

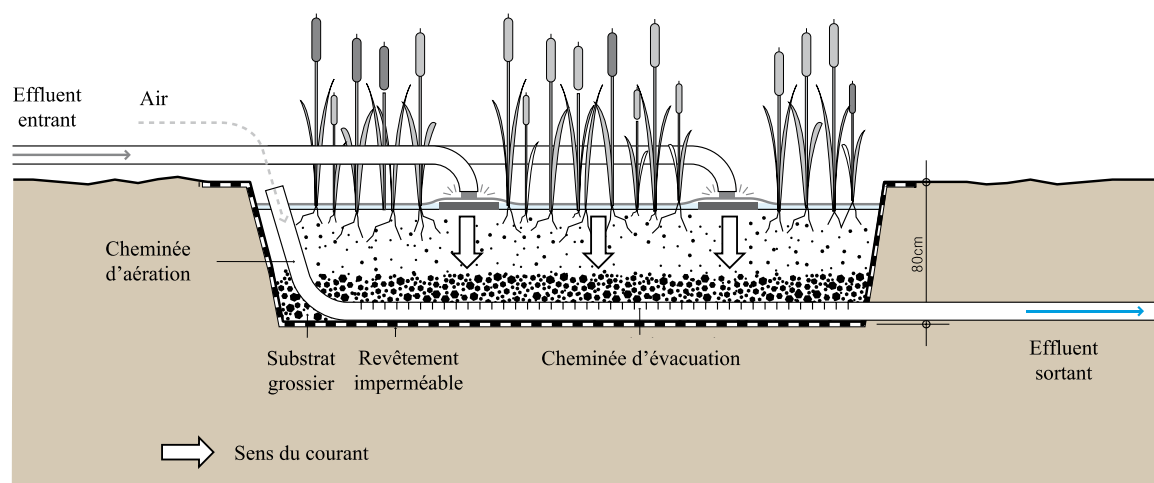


Figure 1.4 : Schéma d'un filtre à écoulement vertical adapté (d'après Tilley et al. 2014).

Les systèmes hybrides (ou parfois appelés filtre mixte ou encore système combiné) combinent différents types de filtres pour optimiser le traitement des contaminants. Le système hybride classique est souvent une combinaison de FV en parallèle suivis de deux ou trois étages de FH en série, il existe aussi des combinaisons de filtre à écoulement surfacique et de FH (Vymazal, 2013).

Au sein de chaque système, lagunage, FH et FV, il existe des variations exploitant différents paramètres de conception et de fonctionnement des ZHA (cf. section 1.5). Par exemple, un FV dimensionné spécifiquement pour épurer les métaux pourrait comporter une couche de calcaire amendé dans le substrat, conduisant à des conditions anaérobies et réductrices au fond du filtre, conditions appropriées pour l'immobilisation des métaux (Younger, 2000). Ces systèmes vont ainsi pouvoir balayer un large éventail de processus physico-chimiques et biologiques, gouvernant les processus épuratoires (Hammer, 1989).

Ainsi le choix du type de filtre est conditionné par la composition de l'effluent à traiter, des circonstances hydrauliques, l'occurrence des processus d'épuration et le taux d'abattement escompté lié à la réglementation en vigueur, dans le cas où il y a un rejet au milieu naturel ou dans le réseau d'assainissement collectif.

1.1.4. Domaines d'application

Ces dernières années, de nombreuses technologies innovantes ont été développées pour le traitement de l'eau, des eaux usées ou des zones contaminées. En dépit de l'efficacité parfois exceptionnelle de ces processus, la plupart ne sont pas utilisées principalement pour des raisons de coûts trop élevés (Doble et Kumar, 2005 ; Susarla et al., 2002). Par conséquent, il existe toujours un marché pour des procédés alternatifs et/ou complémentaires à des coûts raisonnables de construction et de maintenance, tels que les filtres plantés. À l'échelle mondiale, ces systèmes sont ainsi de plus en plus étudiés et utilisés en tant que traitement secondaire, tertiaire ou quaternaire pour les eaux usées (Tableau 1.1), pour éliminer divers contaminants (Imfeld et al., 2009 ; García et al., 2010).

Tableau 1.1 : Exemples d'utilisation de ZHA pour le traitement de différents types d'eaux usées.

Type d'eaux usées	Type de ZHA	Localisation	Référence
Raffinerie	FH	Afrique du Sud	Wood et Hensman, 1989
	ES	Chine	Dong et lin, 1994
Papeterie	ES	États-Unis	Abira et al., 2005
	FH	États-Unis	Choudhary et al., 2013
Agricole (pesticides)	ES	États-Unis	Alvord et Kadlec, 1996
	FV	Royaume-Uni	McKinlay et Kasperek, 1999
Élevage de poissons	ES	États-Unis	Schwartz et Boyd, 1995
Lixiviat de décharge	HF	États-Unis	Nivala et al., 2007
	Système hybride	Slovénie	Bulc, 2006
Miniers	ES	Canada	Sobolewski, 1996
Laiterie	FH	Italie	Mantovi et al., 2003
	ES	Nouvelle-Zélande	Tanner et al., 2005
Industries chimique	ES	Argentine	Maine et al., 2006
Industries textiles	FH	Slovénie	Vrhovšek et al., 1996
	FV, FH	Slovénie	Bulc, 2006
Bassins autoroutiers	ES, FH	Grèce	Terzakis et al., 2008
Hydrocarbures et métaux lourds	FV	Pays-Bas	Tromp et al., 2012
Domestique	FH	États-Unis	Steer et al., 2002
	FH	Espagne	Andreo-Martínez et al., 2017

Les six pays les plus productifs en terme de publications sur ce thème sont les États-Unis, la Chine, le Royaume-Uni, le Canada, l'Allemagne et l'Espagne avec une prédominance des États-Unis depuis 1991 (Zhi et Ji, 2012). Le domaine d'application le plus conséquent est le traitement des eaux usées domestiques et municipales de villes de petites tailles (Kadlec et Wallace 2008). Dans ce cas, les ZHA ont été principalement utilisées pour éliminer des matières en suspension, la matière organique, l'excès de nutriments et les agents pathogènes. Au cours de ces dernières années, des ZHA ont été construites comme alternative opérationnelle et rentable aux technologies classiques pour le traitement des eaux de surface, de la nappe phréatique ou encore pour l'épuration de polluants dit émergents (Braeckevelt et al., 2007 ; Matamoros et Bayona, 2008 ; Matamoros et al., 2007 ; Schröder et al., 2007).

De plus, dans le bassin méditerranéen, où demeure une pression constante sur les ressources aquatiques, les filtres plantés peuvent s'avérer être un outil stratégique notamment dans la réutilisation des eaux usées après traitement pour l'irrigation (Barbera et al., 2009 ; Guittonny-Philippe et al., 2014). Les principales applications dans le bassin méditerranéen sont : le traitement des eaux usées municipales et domestiques à la fois secondaire et tertiaire (FV), les eaux usées noires à teneur élevée en matières organiques (FH et FV), les eaux grises (FH et FV), les eaux de pluies (toutes les configurations sont utilisées), les lixiviats de décharge (prétraitement avec oxygénation suivi d'un FH ou FV), la déshydratation des boues (FV), le traitement des eaux de ruissellement agricoles et urbaines (principalement ES) et des bassins autoroutiers (FH suivis ES) (Masi et Martinuzzi, 2007).

Les ZHA offrent donc des possibilités infinies pour retrouver certaines des fonctions naturelles des ZH naturelles, et compensent dans une certaine mesure les pertes importantes de superficie des ZH naturelles (EPA, 2000a). Dans des régions arides, où l'eau est une ressource rare, la réutilisation de l'eau via ces systèmes est une option attrayante contribuant à la conservation de l'eau.

1.2. Processus en jeu pour l'épuration des polluants dans les ZHA

Les processus épuratoires sont liés à une ensemble de processus physiques, chimiques et biologiques complexes liés par des flux de matière et d'énergie. Ces processus se déroulent au sein de trois compartiments principaux : les plantes, le sol et la biomasse microbienne (Imfeld et al., 2009).

1.2.1. Le rôle du substrat dans les ZHA

La fonction principale du substrat, comme le sol dans les zones humides naturelles, est de fournir un support physique où le système racinaire de la plante peut s'ancrer et une surface idéale pour la fixation et la croissance des microorganismes (Sundaravadivel et Vigneswaran, 2001). La performance épuratoire des ZHA peut être optimisée en utilisant un substrat spécifique en fonction du polluant, les substrats les plus utilisés étant les galets, le gravier, le sable, l'argile et la pouzzolane (Dordio et Carvalho, 2013).

La nature du substrat influence la dégradation et la rétention des contaminants par ses caractéristiques physiques (granulométrie, agencement des particules, porosité, conductivité hydraulique), sa composition minéralogique (argiles, carbonates, silice, oxydes métalliques et matière organique), les propriétés acide-base et les propriétés de sorption (Blanchard, 2000 ; Bolan et al., 2014 ; Stottmeister et al., 2003). Le substrat peut jouer un rôle de filtre physique de l'effluent notamment dans des configurations de type FV (Tilley et al., 2014) qui piègent les polluants particulaires. Ces caractéristiques vont influencer le développement des organismes vivants ; certaines espèces de plante et de souches bactériennes vont se développer préférentiellement sur certains substrats (Calheiros et al., 2009 ; Truu et al., 2009).

La *sorption* d'un contaminant sur le substrat est un processus physique (résultat de réactions d'échange ionique ou des forces de Van der Waals) et/ou chimique (liaisons covalentes chimiques) d'adhésion à la surface du corps solide. La sorption dépend des caractéristiques hydrophobes et hydrophiles du contaminant et de la structure chimique et la composition de la matière organique du sol. Pendant les premiers stades de l'exploitation des ZHA, la sorption du substrat sera naturellement élevée, le substrat n'ayant jamais été exposé à de forte capacité d'adsorption (Omari et al. 2003). Il est important de différencier adsorption et désorption : l'adsorption est un processus de fixation au corps solide et la désorption correspond à son détachement (Rollin et Quiot, 2006). Ces processus peuvent être réversibles, cette rétention provisoire peut augmenter le temps de séjour des contaminants dans la ZHA et ainsi augmenter le temps d'exposition aux autres compartiments (plantes et microorganismes). Cependant les processus d'adsorption peuvent aussi avoir une incidence négative sur la biodisponibilité des contaminants à traiter. Cette biodisponibilité limitée des contaminants s'illustre par la récurrence des contaminants dans le sol, ils ne seront ni absorbés ni transformés par les organismes vivants (Lee et al., 2003).

La *précipitation* est un autre processus en lien avec le sol pouvant éliminer les polluants de la phase aqueuse. La précipitation correspond au passage d'une molécule dissoute vers un état précipité, ce processus s'oppose à la dissolution et par la suite peut être suivi d'une sédimentation. Ces contaminants peuvent s'associer à la matière organique particulaire et finissent alors par se déposer au fond de la ZHA.

Au-delà de son rôle direct sur les processus d'épuration des contaminants, le substrat permet une infiltration et un écoulement uniforme des eaux usées dans le système.

1.2.2. Le rôle des microorganismes dans les ZHA

Les microorganismes étudiés dans les ZHA regroupent principalement les champignons et les bactéries et ont un rôle majeur dans la transformation et la minéralisation des nutriments et des polluants organiques et inorganiques (Dordio et Carvalho, 2013 ; Kadlec et Wallace, 2008 ; Sundaravadivel et Vigneswaran, 2001 ; Truu et al., 2009). Les microorganismes obtiennent de l'énergie pour leur croissance en catalysant le transfert des électrons d'un électron donneur en un électron accepteur (Jourdain et Charissou, 2007), leurs processus métaboliques vont transformer des molécules complexes en molécules plus simples. Ainsi la plupart des transformations chimiques générées lors des processus épuratoires sont contrôlées par des enzymes, des protéines spécifiques ayant la propriété de catalyser les réactions chimiques. Le métabolisme microbien dépend non seulement de la présence d'enzymes appropriées mais aussi des conditions environnementales telles que la température, l'oxygène dissous et la concentration en ions hydrogène (pH). Les bactéries ont diverses niches écologiques telles que les racines des plantes, le substrat, le sédiment au fond du filtre ou elles peuvent vivre dans la phase aqueuse (Truu et al., 2009).

Lorsque le métabolisme microbien utilise des enzymes pour briser/casser des liaisons de composés organiques complexes pour former des composés plus simples avec une libération d'énergie (catabolisme), on parle alors de *biodégradation*. La biodégradation peut se produire dans des conditions aérobies et anaérobies en fonction de l'apport en oxygène par les plantes et de la disponibilité d'autres accepteurs d'électrons (Imfeld et al. 2009). La *minéralisation* correspond au stade ultime de la biodégradation de la matière organique en matière minérale. Les microorganismes grâce à leurs enzymes ont la capacité de synthétiser des composés organiques (anabolisme) par l'utilisation d'énergie stockée chimiquement (Maier et al., 2009). Comme pour les autres compartiments, les microorganismes peuvent éliminer des

contaminants de leurs milieux par volatilisation (Kassenga et al., 2004 ; Kassenga et al., 2003). Les contaminants peuvent aussi s'adsorber à la paroi cellulaire ou sur le biofilm, on parle alors de biosorption, ou bien être absorbés puis immobilisés/minéralisés (Gadd, 2010).

L'étude de l'écologie microbienne dans les ZHA, encore peu investiguée, contribuerait à améliorer la conception et la performance épuratoire de celle-ci. En effet, il est globalement admis que les microorganismes sont sous l'influence des plantes, du substrat mais aussi du type de filtre, des conditions environnementales, etc... mais les précisions manquent encore (Faulwetter et al. 2009).

1.2.3. Le rôle des plantes dans les ZHA

Classiquement, la plante pour se développer doit prélever dans son environnement des éléments essentiels à son bon développement et limiter les effets toxiques des éléments non essentiels, par exemple des polluants. Pour survivre, les plantes ont donc développé au cours du temps divers mécanismes (rétention et/ou dégradation) de tolérance ou de résistance (Singer, 2006), certains de ces mécanismes pouvant avoir lieu simultanément (Figure 1.5 ; Pilon-Smits, 2005).

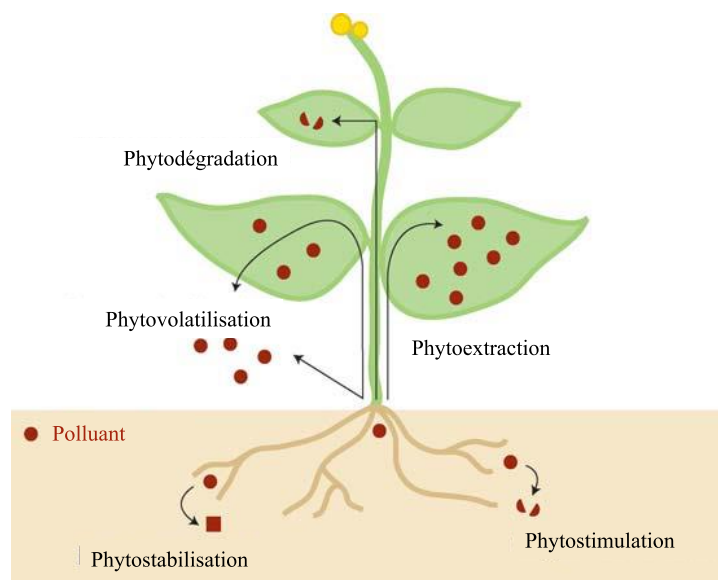


Figure 1.5 : Processus en mis en place par la plante lors de la phytoremédiation, adapté de Pilon-Smits, 2005.

Les plantes ont la capacité naturelle remarquable de concentrer dans leurs tissus et métaboliser des éléments et des composés présents dans l'environnement (Salt et Raskin, 1998). On parle de *phytoaccumulation*, lorsque le contaminant est séquestré dans la plante sans être dégradé, il va donc s'accumuler dans les tissus de la plante (Susarla et al., 2002). Le xénobiotique est soit exporté dans la vacuole ou vers des espaces extracellulaires. Par la suite, il peut être intégré dans les lignines ou dans les composants de la membrane cellulaire de la matrice végétale (associations covalentes avec l'hémicellulose, protéines, pectine)(Harvey et al., 2002). La *phytoextraction* se produit lorsque les contaminants séquestrés dans le tissu végétal ne sont pas dégradés et sont transférés et concentrés dans les parties aériennes de la plante. Les plantes peuvent alors être utilisées pour extraire les polluants métalliques, les parties aériennes sont ainsi récoltées pour être valorisées (recyclage de l'élément accumulé), c'est le phytomining (Pilon-Smits, 2005).

En plus des émissions directes de contaminants de la phase aqueuse vers l'atmosphère, certaines plantes aquatiques absorbent des contaminants à travers leur système racinaire et les transfèrent dans l'atmosphère par évapotranspiration au niveau de leurs feuilles. On parle alors de *phytovolatilisation* (Lewis et al, 1966 ; Pilon-Smits 2005 ; Salt et al, 1998). Les hélrophytes ont aussi la capacité de transférer ces contaminants dans l'atmosphère par l'aérenchyme (Weis et Weis, 2004). La phytovolatilisation par les plantes est particulièrement indiquée dans les filtres à écoulement souterrain dans lesquels la volatilisation directe est limitée.

La *phytostabilisation* désigne l'utilisation des plantes pour stabiliser les polluants dans le substrat soit en empêchant la lixiviation soit en modifiant la forme chimique du contaminant pour le rendre moins biodisponible et conduisant ainsi à sa rétention dans le sédiment (par exemple la précipitation dans la rhizosphère). Grâce aux exsudats racinaires, la plante va modifier les caractéristiques chimiques de la rhizosphère (pH, potentiels d'oxydo-réduction). Contrairement à la phytoextraction ou à la phytovolatilisation, la phytostabilisation se concentre principalement dans la rhizosphère et non pas dans les parties racinaires ou aériennes (Mendez et Maier, 2007).

La phytoaccumulation, la phytostabilisation et la phytovolatilisation sont des processus non destructifs des polluants contrairement à la *phytodégradation/phytostimulation*. La phytodégradation correspond à l'action d'enzymes produites par les plantes (peroxydases,

phosphatases, etc ...) entraînant la dégradation et la minéralisation des polluants dans les plantes (Chatterjee et al., 2013). La phytostimulation, également appelé la biodégradation rhizosphérique, est basée sur la sécrétion d'exsudats racinaires par les plantes favorisant la croissance des microorganismes présents dans la rhizosphère et les activités métaboliques liées à la dégradation des polluants (Anderson et al., 1994). Les plantes sont ainsi capables par ces processus de multiplier de deux à quatre fois les populations microbiennes et augmenter également la surface de recouvrement dans le sol de ces microorganismes (Chatterjee et al., 2013). Par conséquent les plantes n'absorbent pas les polluants pour la détoxification du sol ou de la phase aqueuse mais augmentent indirectement l'épuration de polluants grâce aux interactions avec les microorganismes, véritables acteurs de la biodégradation (Stottmeister et al., 2003).

Au-delà de leurs influences directes sur l'épuration des polluants, les plantes vont aussi moduler différents paramètres au sein des ZHA :

- diminution de la vitesse de l'eau
- stabilisation en surface grâce au réseau racinaire
- isolation thermique pendant la période hivernale et estivale
- habitat propice à la croissance microbienne et à la faune.

Les plantes ont donc un rôle important dans les processus d'épuration (Fraser et al., 2004 ; Picard et al., 2005) néanmoins en fonction du dimensionnement (type de filtre, temps de rétention, profondeur), du climat, des paramètres environnementaux, du type de plantes, de substrat, de contaminants, de l'agencement au sein du filtre, les performances épuratoires d'une même espèce peuvent varier.

1.2.4. Interactions biotiques et abiotiques

Ce type d'approche exploite les propriétés du substrat, les capacités des plantes (absorber, adsorber et à concentrer ou métaboliser) et des microorganismes pour épurer les polluants dans les effluents à traiter. Ainsi les principaux processus ayant lieu dans ZHA pour le traitement des contaminants sont divisés en trois catégories à savoir physiques, chimiques et biologiques résumés dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Récapitulatif des mécanismes de traitement des contaminants dans les ZHA (d'après Masbough et al. 2005 ; Moshiri, 1993 ; EPA, 2000b).

Paramètres	Physique	Chimie	Biologique
Matière en suspension	Sédimentation et filtration	---	Biodégradation
Demande biochimique en oxygène	Sédimentation	---	Dégradation microbiologique
Demande Chimique en Oxygène	Sédimentation	Oxydoréduction	Biodégradation, phytodégradation et phytovolatilisation
Composés azotés	Sédimentation et volatilisation	Adsorption	Bio-dénitrification-nitrification et absorption par les plantes
Composés phosphatés	Sédimentation	Adsorption et précipitation	Absorption par les plantes et les microorganismes
Métaux	Sédimentation et filtration	Adsorption et précipitation	Absorption par les plantes

Les différents types de ZHA définis comme système pilote et répertoriés dans la littérature scientifique, sont présentés dans le Tableau 1.3.

Les microcosmes sont un modèle simple expérimental clos de laboratoire, reproduisant un écosystème artificiel simplifié en laboratoire. Cette échelle expérimentale est très souvent utilisée pour des raisons pratiques. Les mésocosmes sont des dispositifs expérimentaux clos construits en milieu semi contrôlé et se situent entre les microcosmes de laboratoire et le milieu à grande échelle. Ils se situent à une échelle plus réaliste et représentative des conditions écologiques réelles que les microcosmes mais restent néanmoins des écosystèmes aquatique artificiels et non autonome. Les sites pilotes sont quant à eux destinée à évaluer un système avant sa généralisation. Notre étude s'est focalisée sur les articles étudiant des systèmes à l'échelle pilote, il a été constaté qu'une partie de ces pilotes étaient plus proches en termes de dimensionnement des mésocosmes. La plupart des études sur les ZHA sont conduites en conditions contrôlées ou semi-contrôlées et moins en conditions réelles (Seeger et al., 2011). De plus les objectifs d'étude sont généralement orientés vers les performances épuratoires au dépend de l'étude des interactions et du fonctionnement écologique de ces systèmes. De plus il a été constaté que de nombreuses ZHA présentées des agencements d'espèces végétales de type monospécifique ou lorsqu'il s'agit de culture plurispécifique peu d'espèces sont étudiées.

Tableau 1.3. : Synthèse d'articles sur l'étude des ZHA à l'échelle pilote pour le traitement effluent pollué. ES : Écoulement en Surface ; FV = Filtre Vertical ; FH = Filtre Horizontal ; ETMM = Éléments traces métalliques et Métalloïdes ; MPO = MicroPolluants Organiques ; Micro = Microcosmes ; Méso = Mésocosmes ; Mono = Monospécifique ; Pluri = Plurispécifique ; TRH = Temps de rétention hydraulique. n.r. : non renseigné.

Références	Type de filtre			Type de polluant			Taille			Culture		Zone géographique	Durée de suivi		Critère d'évaluation			TRH (jours)	Alimentation en eau m ³ /jour
	ES	FV	FH	Nutriment	ETMM	MPO	Micro	Méso	Pilote	Mono	Pluri		≤ 1 an	> 1 an	Efficacité	Conception	Biodiversité		
Hadad et al., 2006	X			X	X				X		X	Argentine		X			X	7	1
Guo et al., 2017	X			X				X			X	Chine tropical	X			X		n.r.	1,8-3,6
Kyambadde et al., 2005			X	X				X			X	Uganda	X		X			2,71	0,115
Reeb et Werckmann, 2005		X	X	X					X		X	France		X	X			3	2,75
Seeger et al., 2011			X			X		X		X		Allemagne		X	X			n.r.	0,144
Stefanakis et al., 2016			X			X			X	X		Allemagne	X		X			10	0,264
Ye et al., 2012		X		X				X		X		Chine	X		X			n.r.	n.r.
Hill et Payton, 1999	X			X					X		X	USA	X			X		12	n.r.
Foladori et al., 2012		X	X	X					X	X		Italie		X	X			n.r.	0,124
Barbera et al., 2009		X	X	X				X			X	Italie	X		X		X	n.r.	1
Karanthanas et al., 2003		X	X	X					X		X	USA		X	X			n.r.	1
Konnerup et al., 2009			X	X				X			X	Thaïlande	X		X	X		4	n.r.
Liang et al., 2011				X					X	X	X	Chine subtropical		X	X		X	n.r.	n.r.
Omari et al., 2003			X			X		X		X		Royaume-Uni	X		X	X		8 heures	6L/min
Lee et Scholz, 2006		X		X	X			X		X		Ecosse		X	X			n.r.	0,0024
Liu et al., 2010		X			X			X			X	Chine équateur	X		X	X		7	0,16
Vymazal et al., 2016			X	X		X			X		X	République tchèque	X		X			n.r.	165-185
Shelef et al., 2011			X	X					X		X	Israël subtropical	X		X			n.r.	n.r.
Ji et al., 2006	X			X		X			X	X		Chine continental		X	X			7,5-15	18,75-37,5
Soda et al., 2011	X			X	X			X		X		Japon	X		X	X		3h	2184
Tromp et al., 2011	X	X			X	X			X	X		Pays bas		X	X			n.r.	n.r.

Borne et al., 2013	X		X	X		X	X				n.r.	n.r.
Corbella et al., 2014		X	X		X	X	Espagne	X	X	X	2,5	0,021
Oustièrre et al., 2017	X			X	X	X	France	X	X		30	
Maine et al., 2016	X			X		X	Argentine	X	X	X	7-12	100
Terzakis et al., 2008	X		X	X	X	X	Crète	X	X		4	13
Liang et al., 2010	X		X		X	X	Chine subtropical	X	X	X	7	0,14
Matamoros et al., 2017		X		X	X	X	Espagne	X	X		n.r.	72600
Carranzadiaz et al., 2014		X	X	X	X	X	Allemagne	X	X		5,5	0,18
Akratos et al., 2006		X	X		X	X	Grèce	X	X	X	6-20	0,016-0,055
Toscano et al., 2015		X	X		X	X	Sicile	X	X		0,5	0,001
Papaevangelou et al., 2017		X		X	X	X	Grèce	X	X		6-8	0,054-0,040
Dorman et al., 2009		X	X	X	X	X	USA	X	X		5	n.r.
Ran et al., 2004		X	X		X	X	Israel subtropical	X	X		5	0,3

1.3. Epuration des effluents industriels

Le développement rapide et considérable des industries au cours du siècle dernier a entraîné le rejet d'un grand nombre de composés chimiques dans l'environnement (Bell et al., 2011 ; Haarstad et al., 2011). Les écosystèmes aquatiques sont particulièrement vulnérables car les masses d'eau sont fréquemment utilisées, directement et/ou indirectement, en tant que milieu récepteur (effluents domestiques, industriels, agricoles). Ainsi les nutriments, les polluants organiques (en particulier les xénobiotiques), les métaux et métalloïdes peuvent s'accumuler dans les eaux de surface, les eaux souterraines, le sol et les sédiments (Demirezen et al., 2007 ; Lapworth et al., 2012) et peuvent être néfastes pour les organismes qui s'y trouvent (Megateli et al., 2009).

1.3.1. Réglementation et caractérisation des polluants industriels

Toute exploitation industrielle ou agricole pouvant créer des nuisances ou provoquer des pollutions est une installation classée, soumise à un régime d'autorisation ou de déclaration en fonction des risques qu'elle peut engendrer (Code de l'environnement), et est inventoriée comme Installation Classée pour la Protection de l'Environnement (ICPE). La réglementation européenne impose aux ICPE de traiter leurs effluents avant rejet au milieu naturel (directive 2006/11/CE du 15 février 2006 et la directive 2000/60/CE).

Les effluents industriels sont souvent des eaux usées multipolluées et nécessitent des traitements sur mesure. Les effluents industriels contenant des métaux lourds sont traités par une suite de processus physico-chimiques dans le but de faire précipiter les métaux et obtenir deux phases : les boues (contenant les polluants) et l'eau. Or ces traitements n'éliminent pas toute la charge polluante et les effluents rejetés dans l'environnement peuvent être encore toxiques même si les seuils réglementaires sont respectés (Charles et al., 2011). En effet, mêmes si les concentrations en métaux sont faibles, les formes rejetées restent biodisponibles et donc assimilables par la faune et la flore. Ces éléments ne sont pas dégradables et peuvent être accumulés par les organismes, et leurs concentrations croissant à chaque niveau du réseau trophique, des phénomènes de bioamplification peuvent être observés (Hsu et al., 2006).

Les effluents rejetés par les industries peuvent aussi présenter des effets écotoxiques, même si chaque élément chimique est présent en dessous des seuils réglementaires. Dans un contexte de multipollution, il est difficile de se référer seulement aux concentrations individuelles de chaque composé pour évaluer l'impact sur l'environnement, puisque leurs effets peuvent être

cumulés (effet additif ou synergique) (Araújo et al., 2005). Il existe depuis plusieurs années un consensus mondial sur la nécessité de développer des systèmes efficaces d'évaluation et de traitement des effluents industriels (Muga et Mihelcic, 2008 ; Dalzell et al., 2002 ; Araújo et al. 2005).

1.3.2. Épuration des MicroPolluants Organiques (MPO)

L'épuration du carbone organique dans le traitement des eaux usées a été bien documentée depuis le début des années 1950 (Vymazal, 2005) mais le traitement des micropolluants par ZHA fait l'objet d'une attention récente. Les MPO présents dans l'environnement sont souvent issus des activités anthropiques tel que l'agriculture, les activités industrielles, militaires, etc (Pilon-Smits, 2005). Les MPO représentent un très large éventail de composés chimiques, avec des caractéristiques chimiques diverses (Dordio et Carvalho, 2013). Au cours de ces dernières années, il y a eu un accroissement des polluants organiques nocifs, principalement xénobiotiques, présents dans l'environnement. Ils peuvent se bioaccumuler dans toute la chaîne alimentaire mais aussi être toxiques pour les communautés biotiques et potentiellement un danger pour la santé humaine et l'environnement (Barceló et Petrovic, 2008 ; Matamoros et al., 2008). La liste de ces xénobiotiques organiques comprend les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les Benzène, Toluène, Éthylbenzène et Xylène (BTEX), les Hydrocarbures Totaux (HCT), les solvants chlorés, les colorants, les produits pharmaceutiques, les composés phénoliques et les pesticides (Bell et al., 2011). Une fois rejetés, ces polluants peuvent être transportés sur de longues distances, distribués dans plusieurs compartiments de l'environnement et également subir diverses réactions et transformations chimiques (El-Shahawi et al., 2010). Dans l'environnement, au contact d'autres polluants, de nombreuses interactions concurrentes peuvent avoir lieu ce à quoi doit s'ajouter des effets synergiques pouvant potentialiser leur toxicité. Le destin de ces polluants n'est pas facile à prévoir et dans de nombreux cas leurs effets écotoxicologiques sont difficiles à évaluer. Ma thèse se focalise sur des MPO biodégradables : les HCT (contenants entre 10 et 40 atomes de carbone) et les HAP (fluoranthène, acénaphène, acénaphthylène, anthracène, chrysène, fluorène, naphthalène, phénanthrène et pyrène). Ces polluants ont été retrouvés dans les sédiments et dans les eaux à proximité du site d'étude (Guittonny-Philippe, 2014).

L'épuration des polluants organiques au sein des filtres plantés implique plusieurs processus interdépendants pouvant être distingués en tant que processus abiotiques (physiques ou

chimiques) et biotiques (réalisés par des organismes vivants : plantes et microorganismes). Ils sont identiques dans les milieux naturels et dans les ZHA, exceptés que, dans les marais artificiels, ils visent à être optimisés pour maximiser l'élimination des polluants (Haarstad et al., 2011). L'épuration de ces composés est donc dépendante de divers processus liés aux propriétés physico-chimiques de ces composés (structure moléculaire, polarité, log Kow, solubilité dans l'eau, ...), aux caractéristiques de la matrice support (teneur en matière organique, composition minéralogique, ...), aux espèces végétales, aux populations microbiennes, aux caractéristiques des eaux usées (pH, composition d'électrolytes, ...) et aux conditions environnementales (température, humidité, ... ; Imfeld et al., 2009 ; Susarla et McCutcheon, 2002).

Épuration abiotique

Les processus abiotiques impliqués dans l'élimination des polluants des eaux usées sont liés à une large gamme de phénomènes physiques et chimiques. Le processus le plus important est la sorption, elle peut se produire à la surface des racines des espèces végétales, sur le substrat ou sur le biofilm développé sur sa surface (Dordio et Carvalho, 2013). Les produits pharmaceutiques tels que la carbamazépine sont aussi éliminés de la phase aqueuse par effets de sorption en raison de leur hydrophobicité (Matamoros et al., 2008). Les MPO persistants hautement hydrophobes comme les PolyChloroBiphényle (PCB) ou les HAP s'adsorbent rapidement et peuvent s'accumuler dans le sédiment et le substrat des ZHA. En plus de la sorption physique, l'échange d'ions entre le contaminant et les éléments minéraux du substrat peut participer à l'élimination de certains polluants. Or l'effet de sorption n'est pas un processus impliqué dans la dégradation ; il sera limité dans le temps car le substrat se sature petit à petit. Cette saturation dépend des quantités de substances présentes dans les effluents à traiter et sa composition. Dans le cas des eaux usées prétraitées (cas des effluents suivis dans la thèse), les quantités et les variétés de polluants ont été réduites, le substrat aura une longévité plus importante. D'autres processus abiotiques tels que l'hydrolyse, la photodégradation, les réactions d'oxydoréduction et la volatilisation contribuent également mais de manière mineure et dans des proportions variées à l'élimination des contaminants (Imfeld et al. 2009).

La volatilisation directe des contaminants est plus prononcée dans les filtres à écoulement en surface, l'eau restant effectivement constamment en contact avec l'atmosphère (Kadlec et Wallace, 2008 ; Vymazal, 2005) ; par exemple les contaminants hydrophobes volatils tels que

les benzènes chlorés sont extrêmement volatils au contact de l'atmosphère (Keefe et al., 2004). Cependant, la volatilisation des Composés Organiques Volatils (COV) peut également entraîner une pollution de l'air à long terme (Collins et al., 2011).

Épuration par les microorganismes

Un élément chimique simple soluble avec un faible pouvoir absorbant est similaire aux éléments chimiques utilisés comme source d'énergie par les microorganismes. Il peut donc être très facilement métabolisable contrairement aux molécules chimiques plus complexes, non présentes dans la nature, qui sont difficilement dégradables par les microorganismes. En effet, les xénobiotiques ont des structures chimiques très différentes des composés naturels. Ainsi, les microorganismes ne possèdent pas de gènes appropriés pour les utiliser comme source d'énergie (Susarla et al., 2002). Les composés halogénés sont plus résistants aux attaques bactériennes et nécessitent souvent l'évolution de nouvelles voies métaboliques (Dua et al., 2002). La biodégradation des composés organiques est de façon générale associée à des bactéries hétérotrophes, à certaines bactéries autotrophes et des champignons comprenant des basidiomycètes et des protozoaires (Dordio et Carvalho, 2013). Ils existent plusieurs processus permettant la biodégradation des MPO. En effet, les microorganismes peuvent enclencher différents mécanismes métaboliques en même temps, pour une même molécule et à des conditions environnementales différentes. C'est pourquoi il est possible de retrouver différents sous-produits issus d'un même composé (Reddy et DeLaune, 2008). Cette transformation peut être réalisée par un ou plusieurs microorganismes par une combinaison de réactions chimiques. La température, le pH, l'oxygène, la présence de substances toxiques ou d'éléments nutritifs au sein de la ZHA impactent l'efficacité de l'épuration des composés par les microorganismes (Albuquerque et al., 2010).

Des conditions très particulières sont favorables à la dégradation de certains hydrocarbures chlorés tandis que la biodégradation des HAP et des HCT est optimisée dans un milieu aérobie mais des voies de dégradation anaérobie existent aussi (Atlas, 1981). Cet exemple met en évidence l'intérêt potentiel pour le couplage des processus réducteurs et oxydatifs dans les ZHA afin d'obtenir une transformation efficace pour certains contaminants et leurs produits métaboliques finaux (Armenante et al., 1992 ; Master et al., 2002).

Épuration par les plantes

Les plantes sont impliquées dans un certain nombre de processus de biodégradation des MPO. En effet, les substances organiques peuvent être dégradées à proximité directe des racines, la

rhizosphère, grâce à la stimulation de l'activité microbienne (phytostimulation ou rhizodégradation) ou par absorption directe suivie d'une dégradation dans leurs tissus par leurs enzymes (phytodégradation) et séquestration (dans une vacuole ou liées à des structures cellulaires insolubles) ou par volatilisation (Macek et al., 2000 ; Pilon-Smits, 2005 ; Susarla et al., 2002 ; Vymazal, 2011). L'absorption par le flux d'évapotranspiration et suivi par la phytovolatilisation à travers les feuilles de la plante peut être un processus important d'élimination du polluant.

Comme pour les microorganismes, de nombreux polluants organiques peuvent être absorbés par la plante mais lorsqu'il s'agit de xénobiotique, il n'existe pas de transporteurs membranaires spécifiques pour ces composés. Ils vont se déplacer à l'intérieur des tissus par diffusion simple à travers les parois cellulaires et les membranes (Collins et al., 2011) ; Zhang et al., 2010). La phytoextraction par les plantes (absorption et translocation) est conditionnée principalement par l'hydrophobicité des MPO (caractérisée par le coefficient de partage octanol/eau, Kow) (Imfeld et al., 2009). Une hydrophobicité modérée (log Kow compris entre 0,5 et 3,5), est considérée comme optimale pour la mobilité des MPO dans les phases aqueuses et liquides des plantes, sans que la molécule ne soit piégée irréversiblement (Dietz et Schnoor, 2001 ; Pilon-Smits, 2005). Les composés à hydrophobicité modérée comprennent les solvants chlorés, les BTEX, de nombreux pesticides et les hydrocarbures aliphatiques à courtes chaînes. À l'inverse, les MPO hydrophobes (log Kow supérieur à 3,5) ont tendance à être phytostabilisés dans la rhizosphère (Dordio et Carvalho, 2013). Le stockage à long terme de polluants organiques dans la biomasse végétale n'a été observé que pour des produits organiques particulièrement persistants.

1.3.3. Épuration des Éléments Traces Métalliques et Métalloïdes (ETMM)

Les ETMM regroupent les métaux lourds (métaux dont la densité est supérieure à 5 g.cm⁻³) et les métalloïdes. Ils sont des éléments essentiels à la vie de nombreux organismes mais s'avèrent toxiques en fonction de leur dose, de leur forme et de du mode d'exposition.

Actuellement, les industries traitent souvent les ETMM des eaux usées au moyen de technologies d'assainissement physico-chimiques telles que la précipitation. Or ces technologies ont un coût plutôt élevé, et sont inefficaces lorsque les volumes à traiter sont importants et les concentrations en ETMM sont faibles. Des facteurs écologiques et économiques ont conduit à la recherche d'étapes supplémentaires de traitement pour affiner l'épuration (Brown et al., 2000 ; Diels et al., 2003). Plusieurs études ont démontré l'efficacité

des filtres plantés pour épurer de faibles concentrations en ETMM dans de grands volumes d'eaux usées (LeDuc et Terry, 2005 ; Mohammed et Babatunde, 2017 ; Qian et al., 1999). Contrairement aux contaminants organiques, les ETMM ne peuvent pas être dégradés par les microorganismes ou chimiquement. La biodisponibilité des ETMM joue un rôle essentiel dans l'assainissement des effluents industriels. Dans les ZHA, les ETMM sont éliminés des effluents par une combinaison de processus d'élimination physico-chimique et biologique (Dunbabin et Bowmer, 1992 ; Kadlec et Wallace, 2008 ; Lesage, 2006). Comme pour les polluants organiques, l'épuration des ETMM dépend de l'interaction de plusieurs composantes différentes, y compris le substrat, les sédiments, la végétation et la colonne d'eau (Stottmeister et al. 2003). Ainsi le dimensionnement des ZHA va conditionner le traitement des eaux usées chargées en ETMM. Lorsque les ZHA sont conçues pour éliminer les métaux des effluents industriels, deux approches peuvent être distinguées. Dans une première approche, les filtres sont conçus pour immobiliser les ETMM dans le substrat par des processus de sorption, de complexation et de précipitation (Dunbabin et Bowmer, 1992). La deuxième approche est celle dans laquelle les ETMM sont éliminés des eaux usées par volatilisation et accumulation dans les macrophytes régulièrement récoltées (figure 1.6). Les plantes flottantes de type *Lemna* spp. et *Eichhornia crassipes* ont par exemple une capacité absorption des ETMM et sont parfois utilisées pour épurer les eaux contaminées (Megateli et al., 2009 ; Hou et al., 2007).

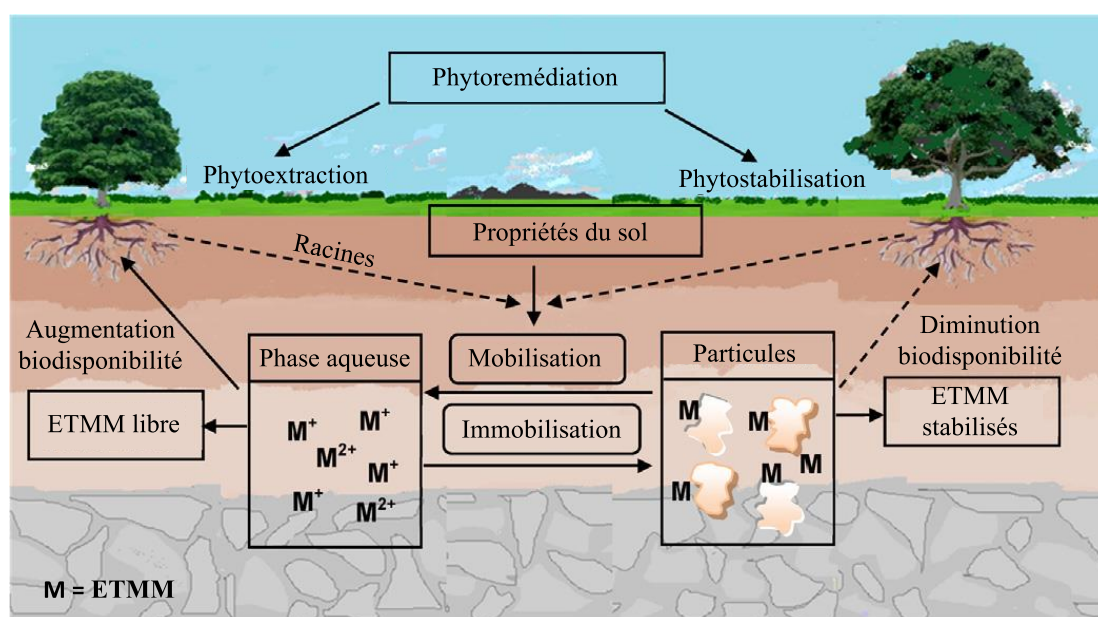


Figure 1.6 : Schéma représentant les liens entre l'immobilisation, la biodisponibilité et la phytoremédiation des ETMM (adapté d'après Bolan et al., 2014).

Les principaux processus d'épuration physico-chimique des métaux ayant lieu dans les ZHA sont : la sédimentation, la filtration, la sorption, la précipitation et la co-précipitation.

La sédimentation et la filtration sont des processus physiques importants permettant l'élimination des ETMM de la phase aqueuse par association aux matières particulaires (Sheoran et Sheoran, 2006).

La sorption de métaux sur une surface peut se produire par des processus d'adsorption et de précipitation. Les métaux peuvent être adsorbés soit par interactions électrostatiques (adsorption physique) ou chimiquement (chimisorption) (Marchand et al. 2010). L'adsorption non spécifique est un processus dans lequel la charge des ions métalliques équilibre la charge sur les particules du sol par attraction électrostatique alors que l'adsorption spécifique implique une formation de liaison chimique entre les ions dans la solution et ceux du sol (Li et al. 2006). Les ETMM sont plus fortement liés par la chimisorption que par l'adsorption physique (Gadd, 2010). La co-précipitation est également un phénomène d'adsorption contribuant à la rétention des métaux des ZH : les ETMM co-précipitent avec des ligands inorganiques tels que (oxy)hydroxydes, des sulfures, des carbonates ou organiques (composés formant la matière organique dissoute) (Kadlec et Wallace 2008 ; Sheoran et Sheoran 2006). Par exemple le cuivre, le nickel, le zinc, le manganèse sont co-précipités avec les oxydes de fer et le fer, le nickel et le zinc sont co-précipités avec les oxydes de manganèse (Blanchard, 2000 ; Stumm et Morgan, 2012). La formation de précipités d'ETMM est l'un des nombreux facteurs limitant la biodisponibilité des métaux dans les écosystèmes aquatiques (Bolan et al. 2014). Ces phénomènes vont être dépendant de paramètres physico-chimiques tels que le pH au sein de la ZHA, la solubilité K du métal impliqué et de la concentration d'ions métalliques (concurrence avec les autres métaux) et les anions tels que les hydroxydes, les carbonates et les sulfates (Calvet, 2003). Lorsque les valeurs de la concentrations des cations et des anions sont telles que leur produit dépasse K , les précipitations se produisent (Sheoran et Sheoran 2006). La mobilité des métaux sous forme de composés inorganiques est principalement contrôlée par le pH (Alloway 1995). À pH acide, la solubilité des métaux est élevée puis elle diminue lorsque le pH augmente. Elle se stabilise à pH neutre ou alcalin, les métaux sont alors immobilisés (Gambrell, 1994). Puis à pH élevé, la spéciation des métaux conduit à une re-solubilisation des hydroxydes et des oxydes, les métaux sont sous forme anionique (Blanchard, 2000). Par la précipitation, les métaux vont être absorbés sur les particules en suspension ; ce sont alors des échanges ioniques qui ont lieu. Ces échanges vont dépendre de

plusieurs facteurs tel que l'élément et la compétition avec d'autres éléments pour le site d'adsorption.

Les microorganismes jouent un rôle essentiel dans la transformation des ETMM, influençant ainsi leur biodisponibilité (absorbé potentiellement par les plantes) et leur assainissement. Ils ont la capacité de modifier la toxicité, la solubilité dans l'eau et/ou la mobilité de l'élément dans la phase aqueuse ou solide (Choudhary et al., 2017). Les ETMM sont soumis à des réactions d'oxydo-réduction microbiennes, influençant leur spéciation (forme chimique de l'élément) et leur mobilité. Les réactions sont regroupées en deux catégories : assimilatoires et dissimilatoires. Dans les réactions assimilatrices, l'ETMM est impliqué dans le fonctionnement métabolique de l'organisme en agissant comme accepteur final d'électron. En revanche pour les réactions dissimilatrices, l'ETMM n'a aucun rôle dans le fonctionnement métabolique des espèces chimiques responsables de la réaction et déclenche indirectement des réactions d'oxydo-réduction chez les microorganismes (Madigan et al., 2003). À ce moment-là, les métaux peuvent former des composés insolubles par hydrolyse et/ou oxydation, cette transformation physico-chimique (oxydo-réduction) conduit à la formation d'une variété d'oxydes, d'oxyhydroxydes et d'hydroxydes (Batty et al., 2002 ; Bolan et al. 2014 ; Woulds et Ngwenya, 2004). D'autres part ces phénomènes sont aussi gouverné par le pH, le potentiel d'oxydoréduction et la présence d'autres anions/cations.

Les plantes ont la capacité de modifier les propriétés physico-chimiques et biologiques de la rhizosphère à travers un ensemble de voies métaboliques et de processus susceptibles d'influencer la spéciation et la mobilité des ETMM : l'exsudation de composés organiques, la formation de plaques ferriques, l'acidification du milieu, etc... (*cf* partie 1.2.3.). De nombreuses études se sont penchées sur la capacité des plantes à stocker les polluants (Cheng et al., 2002). En effet, certaines espèces ont développé des capacités à accumuler des métaux (tel que le nickel, le zinc, le cuivre, le chrome,...) dans leurs parties aériennes plus importantes que celles des autres espèces, on les qualifie d'hyperaccumulatrices. Les métaux peuvent être valorisés par la suite (Susarla et al., 2002).

La méthylation est également un processus important pour l'élimination des ETMM toxiques, les organismes vont les transformer en dérivés méthyliques éliminés ensuite par volatilisation. Bien que la méthylation des ETMM ait lieu à la fois par des procédés chimiques (abiotiques)

et biologiques, la méthylation biologique est considérée comme le processus dominant dans les milieux aquatiques (Bolan et al., 2014).

L'épuration biotique et abiotique des métaux dans les ZHA se produit donc à travers un ensemble complexe de processus. La compréhension de ces processus est nécessaire pour prédire les performances épuratoires à long terme des ZHA (Lesage, 2006).

1.3.4. Effets des multi-pollutions

Il existe de nombreuses références dans la littérature portant sur la phytoépuration des ETMM ou des MPO mais très peu de références traitent de l'efficacité et des mécanismes en jeu dans la phytoépuration de multipollution ETMM et MPO (Lin et al., 2008). Pourtant de nombreux milieux sont multipollués et sont considérés comme des sites problématiques (Sandrin et Maier, 2003 ; Zhang et al., 2009). Il est difficile d'anticiper les effets de la multipollution sur l'épuration, les espèces végétales et les microorganismes, les effets peuvent être multiples et changeant au cours du temps (Chen et al., 2004). La phytoremédiation des composés organiques repose sur les effets bénéfiques (phytostimulation) des racines sur la dégradation de ces polluants par les microorganismes (Dordio et Carvalho, 2013). Dans un contexte de multipollution, la présence des ETMM peut inhiber l'activité microbienne et limiter la croissance des parties racinaires modifiant ainsi la dégradation des MPO (Lin et al., 2008 ; Mucha et al., 2013). Les MPO peuvent aussi avoir des effets sur la croissance et le métabolisme des plantes modifiant ainsi la dégradation des ETMM (Lin et al., 2008). Cependant dans les deux cas précédents, il existe un manque d'information sur les effets combinés en fonction du type de ETMM et de MPO ce qui est problématique pour la gestion des milieux pollués (Li et Wong, 2012).

1.4. Composition floristique et choix de la végétation au sein des ZHA

Il existe dans la littérature plusieurs articles traitant du rôle des plantes au sein des ZHA, or il est encore difficile d'établir quand et dans quelle mesure ce rôle est important dans l'efficacité du traitement des filtres plantés (Guittonny-Philippe et al., 2014). La principale difficulté réside dans le fait que ces études ont été menées dans des conditions de terrain ou dans des conditions contrôlées avec toute une série de variables (composition chimique des eaux usées, conditions environnementales, composition du substrat, type de filtre planté, ...) qui vont

affecter le fonctionnement des plantes et par conséquent les résultats. Le choix des espèces est un aspect particulièrement important dans la conception d'une ZHA (Leto et al. 2013).

Dans les ZHA, les plantes jouent à la fois un rôle direct (absorption et filtration) et indirect (stimulation de l'activité microbienne, modification de la matrice filtrante) dans l'épuration des contaminants dans les eaux usées grâce à l'interaction des plantes avec le substrat et les microorganismes (Figure 1.7) (Engelhardt et Ritchie, 2002 ; Maltais-Landry et al., 2007). Le choix des espèces végétales est dépendant du type de filtres plantés sélectionnés pour épurer l'effluent à traiter. En fonction de l'écoulement (en surface ou souterrain), des caractéristiques physiques et chimiques de l'effluent diverses plantes peuvent être sélectionnées (Kadlec et Wallace 2008; Lesage, 2006).

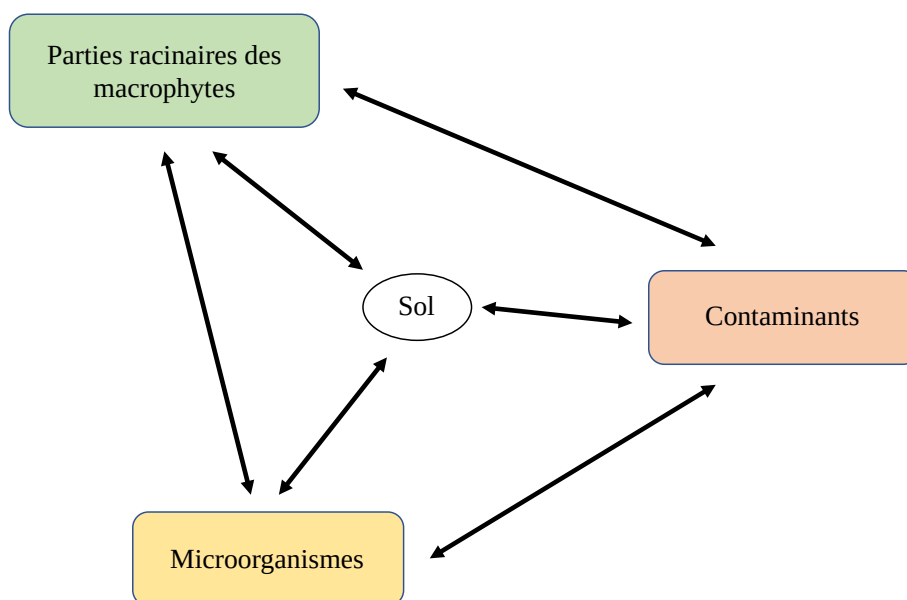


Figure 1.7 : Interactions impliquées dans l'épuration des contaminants au sein des ZHA d'après Choudhary et al., 2011.

Au-delà des aspects liés au traitement, le choix des espèces végétales doit être basé sur des critères supplémentaires tels que : la tolérance à la toxicité des polluants, la distribution géographique des espèces végétales envisagées, le climat et les conditions de l'habitat (sols saturés), une tolérance aux variations de la profondeur de l'eau, la disponibilité des plantes dans les pépinières locales, l'entretien à long terme, une résilience importante, les coûts de gestion et les objectifs du projet.

1.4.1. Diversité floristique

Le choix des espèces végétales est primordial pour la mise en place d'une ZHA. Les genres les plus répandus dans ces systèmes sont *Phragmites* sp., *Typha* sp. et *Scirpus* sp. néanmoins le choix des espèces varie selon la localisation géographique (Scholz et Lee, 2005 ; Vymazal, 2013b). L'espèce majoritairement utilisée en phytoépuration est *Typha latifolia* suivi par *Phragmites australis*. En Europe, les phragmites sont les plantes les plus communément retrouvées dans les ZHA. Ces espèces ont l'avantage d'être tolérantes à de nombreux polluants, d'avoir une croissance et une colonisation du filtre par propagation racinaire clonale rapide et de ne pas être une source de nourriture pour les animaux (Brisson et Chazarenc, 2009 ; Barbera et al. 2009). Or malgré ces avantages, l'utilisation des phragmites n'est, par exemple, pas autorisée aux Etats-Unis en ZHA en raison de son caractère invasif, les individus pouvant notamment se propager dans les zones humides naturelles à proximité (EPA, 2000a ; Sheoran et Sheoran, 2006). Ils sont remplacés dans ce cas par d'autres espèces du genre *Typha* et des *Scirpus* sp., moins invasifs.

Dans les filtres plantés utilisés pour le traitement des eaux usées, la diversité floristique est généralement faible voire souvent de type monoculture (Liang et al., 2011). Pourtant de plus en plus d'études préconisent la diversité floristique dans les filtres plantés (Fraser et al., 2004 ; Guittonny-Philippe et al., 2014; Karathanasis et al., 2003). Or ceci est encore rarement appliqué dans les ZHA. Il existe aussi un manque de consensus entre les chercheurs quant au nombre optimal d'espèces de plantes à utiliser dans les ZHA (Leto et al., 2013). La majorité des expérimentations sont réalisées en microcosmes ou mésocosmes. Cette échelle d'expérimentation est certes plus abordable, à faible coup, format adéquat pour réaliser plusieurs réplicats. En revanche, elles ne permettent pas d'évaluer la compétition floristique en conditions réelles. La diversité spécifique permet d'augmenter le nombre d'ETMM retenus dans la biomasse végétale (Guittonny-Philippe et al., 2014) et ainsi d'améliorer le traitement. Pour le traitement des MPO, la diversité spécifique est susceptible d'être aussi un facteur d'optimisation. En effet la diversité des espèces peut garantir une plus grande efficacité de traitement au fil du temps en tenant compte des changements des conditions environnementales et de la composition des eaux usées.

De plus, le cycle phénologique des espèces végétales en plus des variations climatiques conduit à des changements au cours du temps qui peuvent impacter l'efficacité épuratoire du système. La mise en place des espèces végétales en polyculture au sein des ZHA atténue ces

variations (Kadlec et Wallace, 2008). De plus, la diversité floristique offre également une protection du système contre les pathologies spécifiques de certaines plantes. Ainsi, Karathanasis et al. (2003) ont observé une épuration des contaminants optimale pendant la période estivale en monoculture et améliorée en polyculture. Néanmoins les systèmes non plantés présentaient une performance épuratoire plus élevée en hiver.

Le choix des espèces, et par conséquent des génotypes, est conditionné par les propriétés des plantes à épurer des polluants. Cependant, lorsque ces espèces végétales sont implantées dans des systèmes à grande échelle, il est préconisé de s'intéresser en plus à leur adaptabilité écologique (les plantes choisies ne doivent pas présenter de risque pour l'écosystème naturel adjacent), à leur tolérance aux conditions locales en terme de sensibilité aux parasites et aux maladies et à leur bon développement du système racinaire et aérien (Brix 1994 ; Brix 1997 ; Faulwetter et al. 2009 ; Kadlec et Wallace 2008). La sélection d'espèces végétales peut aussi être guidée par des objectifs supplémentaires tels qu'écologique, esthétique, récréatif ou encore économique (Scholz et Lee, 2005). Au-delà de la sélection des espèces, d'autres aspects liés à la conception des ZHA comme la densité et la disposition des individus (la façon dont les individus sont agencés lorsqu'ils sont introduits dans les filtres plantés) sont primordiales et doivent être soigneusement planifiées. Leurs influences peuvent aller de différences subtiles dans le comportement général du système à des impacts dommageables sur l'efficacité globale du système (Brisson et Chazarenc, 2009).

1.4.2. Interactions biotiques

Les espèces végétales sélectionnées pour le traitement des eaux usées en ZHA devraient être des espèces locales selon les préconisations de l'EPA (2000c). Les individus nécessaires à l'implantation de la ZHA peuvent être récoltées dans une ZH existante dans la mesure où le prélèvement des plantes n'entraîne pas de dommages ou ne viole aucune réglementation locale ou nationale (EPA, 2000c). En plus d'être adaptées aux conditions locales, les espèces locales minimisent le risque d'invasion pour l'écosystème naturel environnant (Tulbure et al., 2009). En effet les espèces introduites peuvent (de façon pas toujours prévisible) causer des dommages environnementaux significatifs. Un nombre restreint d'études s'est penché sur l'influence des communautés végétales indigènes dans les ZHA, en dépit de l'adaptabilité de nombreuses macrophytes dans de tels systèmes (Barbera et al., 2009). De plus si les plantes sélectionnées proviennent du site recevant la pollution, elles peuvent être tolérantes à la

pollution grâce à une variabilité intra-spécifique ; on parle alors d'écotype (Marchand et al. 2010). En effet, l'optimisation des processus épuratoires (augmentation de l'oxygénation racinaire et/ou dégradation des contaminants) régie par les plantes peut être liée à l'adaptation des plantes au contact de la pollution au courant du temps (Doty, 2008). Ainsi l'utilisation de plantes éco-adaptées permettrait de garantir une tolérance aux conditions environnementales et à la pollution à traiter (Guittonny-Philippe et al., 2014).

Les racines et les rhizomes des plantes en milieux aquatiques sont généralement creux et contiennent des canaux remplis d'air permettant le transport de l'air de l'atmosphère vers le système racinaire. La majorité de cet oxygène est utilisé par les racines et les rhizomes pour la respiration mais de par leur manque d'étanchéité, les racines libèrent de l'oxygène alors disponible pour la rhizosphère (Brix 1990). L'oxygène libérée par le système racinaire permet de répondre à la demande en oxygène de la dégradation aérobie (les processus oxydatifs) des substances dans les eaux usées réalisée par les bactéries présentes dans la rhizosphère et favorise le développement de microorganismes (Sundaravadivel et Vigneswaran, 2001 ; Tanner, 2001). Les parties de la plante immergées dans l'eau sont aussi colonisées par des communautés denses d'algues photosynthétiques ainsi que des protozoaires (Vymazal et Kröpfelová, 2008). D'un côté, les algues oxygènent l'eau et absorbent des nutriments, les bactéries dégradent les matières organiques mais d'autre part, certains périphytons (mélange d'algues, de cyanobactéries et de microorganismes) peuvent limiter la croissance des macrophytes voire entraîner leur déclin (Sand-Jensen et Borum, 1991).

Par ailleurs, les plantes agissent de manière indirecte sur les processus d'assainissement en libérant des exsudats et des enzymes au niveau de leur système racinaire et en fournissant de grandes surfaces pour le développement du biofilm bactérien (Ottová et al., 1997; Vymazal, 2011). Certains exsudats racinaires contribuent aux processus catalytiques de dégradation des composés organiques en plus des processus liés aux microorganismes. Ces deux processus de phytostimulation et de rhizodégradation sont accentués par des systèmes racinaires denses (racines adventives et secondaires) et étendus (Pilon-Smits, 2005). Ces caractéristiques de l'architecture racinaire doivent être considérées lors de la sélection des espèces végétales au sein des ZHA pour optimiser l'élimination des polluants (Calheiros et al., 2009 ; Truu et al., 2009). Ces molécules stimulent et augmentent donc le développement des populations microbiennes, actrices principales de la dégradation des MPO et de l'activité biochimique de la rhizosphère (Macek et al., 2000). Il est admis que la composition de la communauté microbienne diffère à la fois qualitativement et quantitativement par rapport à celle d'un sol

nu grâce à la variété de produits sécrétés/déposés par les plantes (exsudats racinaires, mucilages, cellules mortes) (Chaudhry et al. 2005; Stottmeister et al., 2003 ; Collins et al., 2004). Les composés exsudés par les racines sont très diversifiés et dépendent des stimuli environnementaux (par exemple la disponibilité des nutriments, le pH, la lumière et la température) et le stade de croissance de la plante (Neumann, 2007 ; Pinton et al., 2007 ; Rovira 1959). Cette variabilité impacte la communauté microbienne du sol. Ainsi, la concentration et la composition des exsudats racinaires influencent la structure et l'activité microbienne même dans des substrats contaminés par des HCT (Kirk et al., 2005). La diversité spécifique assure une répartition homogène de la biomasse racinaire entre les différentes espèces et un habitat pour la communauté microbienne plus diversifié à la fois dans l'espace et dans le temps que les systèmes de type monoculture (Karathanasis et al., 2003; Guntenspergen et al., 1989). En effet chaque consortium microbien a un taux d'absorption de nutriments, d'eau et d'oligo-éléments différent en fonction des besoins nécessaires à sa croissance. Ainsi la composition floristique est un élément clé lors de la conception des ZHA (Engelhardt et Ritchie, 2002). Il a ainsi pu être démontré que la diversité floristique au sein des ZHA modifiait la structure de la communauté microbienne et améliorait les activités microbiennes dans les système (Martin et al. 2014; C.-B. Zhang et al., 2010). Il est donc possible que cette diversité favorise les processus de co-métabolisme dans la rhizosphère et améliore le traitement des eaux usées en élargissant la gamme des composés dégradés/stabilisés et en accélérant les cinétiques des réactions ayant lieu dans la rhizosphère.

Par ailleurs, un principe général de l'écologie implique que la diversité faunistique est directement liée à la diversité des communautés végétales. À mesure que le nombre d'espèces végétales augmente dans une zone donnée, la diversité de l'habitat pour les espèces animales augmente en raison de multiples niches structurelles et de l'étendue des ressources alimentaires disponibles (Knight, 1997). Ainsi, une ZHA prévue en partie ou dans sa totalité en tant qu'habitat pour les oiseaux peut nécessiter une végétation à croissance limitée ou faible pour encourager le repos ou la nidification (Green et al., 2015). La communauté végétale des ZHA peut présenter une diversité structurelle verticale (canopée, couverture souterraine) et une diversité horizontale à travers les zones végétalisées (filtre hybride : filtre à ES et FH par exemple). Ces deux types de diversité structurelle sont généralement corrélés à l'augmentation de la diversité faunistique et à l'abondance des espèces dans les ZH (Knight, 1997). La diversité animale n'est actuellement pas un paramètre suivi dans les ZHA mais il pourrait permettre d'évaluer la qualité écologique d'une ZHA tout en évaluant les potentiels

phénomènes de bioamplification ou bien l'impact de certaines espèces animales (invertébrés) dans le traitement de la pollution (phénomènes de bioturbation).

1.4.3. Processus abiotiques

Les plantes, par leur métabolisme, sont aptes à faire face à des conditions fluctuantes au cours du temps comme le climat, la température, l'humidité et les caractéristiques du sol (Norman, 1962). Calheiros et al., (2007) ont démontré qu'une grande diversité floristique spécifique permet de bénéficier des différences entre les espèces, en termes de croissance ou de capacité de traitement (plus ou moins important). Cependant ces paramètres sont affectés par divers facteurs tels que la température, le substrat, le temps de rétention hydraulique, la composition des effluents à traiter, les conditions environnementales, etc ...

Les traits morphologiques des plantes tels que leur densité racinaire et la production de biomasse sont des paramètres influant sur l'efficacité de l'épuration des ZHA (Kyambadde et al., 2004). Dans son étude, Cronk (1996) a démontré que les plantes présentent des « porosités » différentes en fonction des espèces : *Phragmites communis* (0,98) > *Typha spp.* (0,95) et *Juncus spp.* (0,95) > *Scirpus spp.* (0,86). La porosité correspond au rapport entre le volume d'eau dans les systèmes sans plante et le volume d'eau comprenant les plantes. Plus la porosité sera élevée, moins les parties racinaires de la plante occuperont l'espace dans le filtre planté : la rhizosphère et les processus de filtration seront dans ce cas diminués. La densité de la végétation impacte le temps de séjour dans les ZHA : plus la végétation sera dense plus le temps de séjour sera long (Jadhav et Buchberger, 1995).

Les activités racinaires (Figure 1.8) peuvent modifier les propriétés chimiques du sol (pH, concentrations ioniques, potentiel oxydo-réduction) et mobiliser des ETMM à partir de la phase solide (Gobran et al., 2000 ; Mench et al., 1994). Les exsudats racinaires (acides organiques, phénol ou acides aminés) sont indispensables à la nutrition de la plante, dans la mesure où ils mobilisent les nutriments du sol et augmentent leur assimilation (phytosidérophores ; Hinsinger et al. 2005). Ces composés ont un faible poids moléculaire et ont des propriétés complexantes ou chelatantes avec les ETMM (Fe, Cu, Zn, Mn) augmentant ou diminuant ainsi leur solubilité dans la rhizosphère (Becerra-Castro et al. 2009; Pilon-Smits, 2005 ; Mench et al. 1988). Dans le cas où l'assimilation d'ETMM peut être néfaste pour la plante, les exsudats racinaires améliorent la résistance au stress occasionné par les ETMM par

la chélation (phytochélateurs) ou de façon indirecte, par la stimulation du développement microbien (production de ligands organiques) (Richardson et al. 2009).

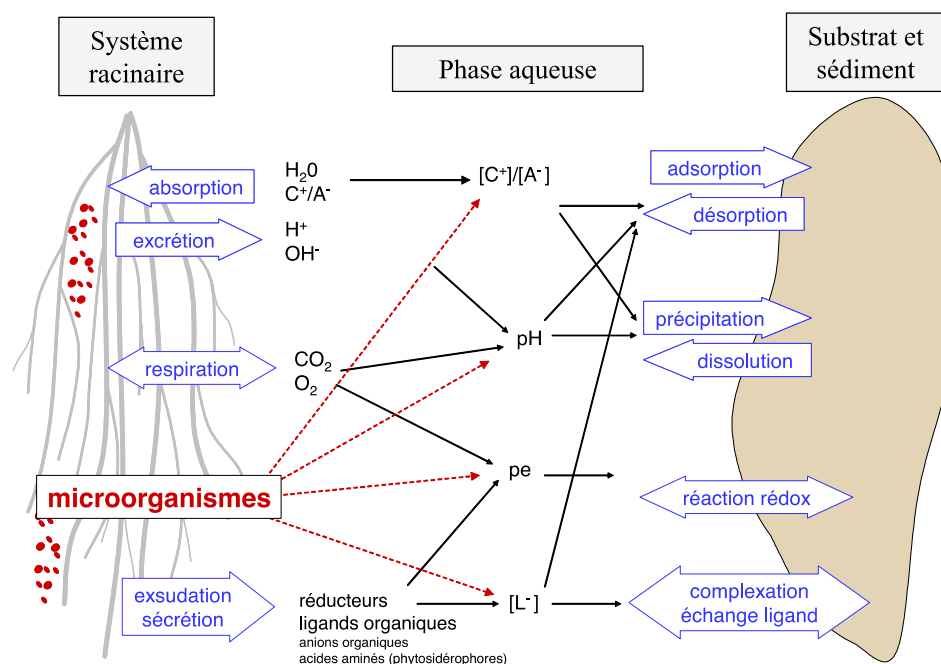


Figure 1.8 : Interactions chimiques induites par les plantes et les microorganismes (d'après Michaud, 2007 ; Hinsinger et al., 2005)

Les plantes absorbent de l'eau, des cations et des anions et libèrent des anions organiques indispensables à leur bon fonctionnement ce qui entraîne une modification de l'électroneutralité dans le milieu intracellulaire (Tinker et Barraclough, 1988). Pour maintenir l'équilibre des charges et réguler le pH cellulaire, en fonction de l'ion absorbé (ETMM, nitrate, etc...), des protons (H^{+}), des ions hydroxydes (OH^{-}) ou bicarbonates (HCO_3^{-}) vont être excrétés. L'exsudation d'anions organiques (Figure 1.8) peut aussi être accompagnée d'un rejet de protons et un influx d'équivalents hydroxydes pour contrebalancer les charges négatives portées par les anions organiques (Richardson et al. 2009). De plus, la respiration racinaire et/ou microbienne et les réactions d'oxydoréduction (activité réductrice racinaire et sécrétion de composés réducteurs) contribuent à modifier le pH dans la rhizosphère. Ces activités racinaires conduisent à une acidification de la rhizosphère (jusqu'à deux unités de pH à proximité des racines) et peuvent affecter la spéciation et la biodisponibilité des ETMM (e.g. dissolution de certains minéraux oxydes, phosphates et silicates) ou encore augmenter la concentration en carbone organique dissous (Clark et al., 2005).

Le potentiel d'oxydoréduction rhizosphérique (pe , Figure 1.8) est lié à la respiration. Les plantes transfèrent l'oxygène depuis leurs feuilles vers leurs racines (Brix, 1997). Ce transfert favorise la formation d'une couche oxydée autour de la racine et crée un gradient d'oxydoréduction dans la rhizosphère. Ce gradient oxydatif induit la formation de plaques ferriques, l'immobilisation des ions métalliques (Gobran et al., 2000) ou encore la minéralisation de polluants organiques et émergents (Imfeld et al., 2009 ; Matamoros et al., 2007). Cependant, la perte d'oxygène varie selon le type de racine et la localisation au niveau de la racine. De cette manière, les jeunes racines adventives et secondaires relarguent plus d'oxygène que les vieilles racines ou les rhizomes (Armstrong et Armstrong, 1988 ; Neumann, 2007). Wießner et al. (2002) ont mesuré la perte d'oxygène racinaire pour 4 espèces majoritairement utilisées en ZHA : *Typha latifolia* 1,41 mg.h⁻¹plant⁻¹, *Phragmites australis* 1,0 mg.h⁻¹plant⁻¹, *Juncus effusus* 0,69 mg.h⁻¹plant⁻¹ et *Iris pseudacorus* 0,34 mg.h⁻¹plant⁻¹. La perte d'oxygène, et donc le potentiel d'oxydoréduction, varient selon les macrophytes et les conditions environnementales (Brix 1997 ; Stottmeister et al. 2003). Un transfert d'oxygène plus élevé a également été observé chez *Phragmites australis* en réponse à une intensité lumineuse plus élevée dans des conditions d'humidité plus faible et de température plus élevée ; cette augmentation est liée à des transports d'oxygène dans le système racinaire plus important que les autres espèces (Armstrong et Armstrong 1990).

Le taux d'épuration des métaux par les plantes varie selon le taux de croissance de la plante et de la concentration des métaux dans les tissus végétaux. Le taux d'absorption du métal par unité de surface de la ZH est souvent beaucoup plus élevé pour les angiospermes ou les macrophytes de type *Typha* sp. que pour les mousses et les algues. Dans le cas où les métaux sont absorbés par les feuilles (feuilles immergées complètement dans l'eau), il s'agit d'un transfert passif de la phase aqueuse vers la feuille (Everard et Denny, 1985).

Les plantes vont assurer la filtration des matières en suspension selon le développement racinaire mais aussi favoriser la conductivité hydraulique du substrat en prévenant le colmatage, particulièrement dans les FV, mais aussi dans le cas d'espèces à rhizome (Brix, 1994 ; Brix, 1997). *A contrario*, la croissance des racines peut modifier la qualité physique (hydraulique) des sols en réduisant la vitesse de l'écoulement, (notamment dans le cas de chevelus racinaires très denses) développement racinaire très important. Dans un tel cas, les racines (et les microorganismes associés) vont occuper les pores du substrat ce qui peut limiter le passage de l'eau.

L'un des principaux critères de la sélection des espèces végétales pour un type d'effluent précis est leur tolérance à la toxicité des polluants inhérents aux eaux usées à traiter et leur rôle dans l'abaissement des concentrations de polluants dans l'eau à travers la variété des procédés déjà décrits. Or la tolérance aux conditions locales (en termes de climat, maladies, etc...) doit être prise en compte pour la sélection d'espèces végétales au-delà des caractéristiques des eaux usées. Les individus doivent être en bonne santé. Ainsi les espèces présentes naturellement à proximité du site d'implantation peuvent être plus compétitives que des plantes de pépinières face aux conditions environnementales (EPA, 2000c).

Les parties aériennes des plantes vont d'une part protéger le système des rayonnements solaires directs ce qui limite la croissance des algues au printemps et d'autre part entraîner une baisse des températures au sein du système lors de la période estivale et protéger le filtre planté du gel grâce à la production de litière. Cette inertie thermique offerte par le couvert végétal a été explorée par plusieurs auteurs (Brix, 1994 ; Haslam, 1971; Tanner et Sukias, 1995). Toutefois, en fonction des saisons ou des zones géographiques, les performances épuratoires des ZHA peuvent d'être altérées : lors de températures proches ou inférieures à 0°C, les plantes ont un métabolisme quasiment inactif ce qui limite les interactions biotiques et abiotiques. Ce phénomène est aussi observé pour les activités microbiennes dont les activités métaboliques sont fortement réduites avec une température basse (Maier et al., 2009). La densité du recouvrement floristique va exacerber ces phénomènes en plus d'augmenter le temps de séjour et limiter l'aération atmosphérique (Kyambadde et al., 2005 ; Okurut et al., 1999). Les parties aériennes peuvent réduire la vitesse du vent et protéger la surface du filtre (Leto et al., 2013 ; Vymazal et Kröpfelová, 2008). Les macrophytes stabilisent ainsi la surface du substrat (Coleman et al., 2001).

1.4.4. De nouveaux écosystèmes au service de l'humain

Les ZH artificielles et naturelles sont utilisés pour la gestion de la qualité de l'eau d'une grande variété de types d'eaux usées dans le monde entier. Alors que le traitement de l'eau est l'objectif principal de bon nombre de ces systèmes, ces espaces peuvent aussi représenter des territoires à fort enjeux et apporter des bénéfices mutuels à la nature et à la société. Le dimensionnement de plus en plus de ZHA s'axe sur l'intégration de la faune, des bénéfices pour la biodiversité et des usages publics complémentaires aux traitements de l'eau (Masi et

al., 2017). À partir des informations recueillies sur des ZHA existantes, il a été prouvé qu'il existait des bénéfices nets pour les habitats de la faune sauvage et les usages publics (Knight, 1997). La principale fonction des ZHA aménagées pour les usages publics sont la randonnée, le jogging, le vélo et l'étude de la faune. Une étude réalisée par l'Environmental Protection Agency (EPA) sur 17 systèmes de traitement d'eaux usées en ZHA, a démontré que ces systèmes alternatifs épuratoires pouvaient être des habitats adéquats pour les oiseaux et d'autres espèces sauvages (amphibiens et reptiles), selon les cas (EPA, 1993). Ces ZHA aménagées intègrent des parcours signalétiques, des sentiers et des tours d'observation dans le but d'accompagner le public à la découverte de la nature et de la diversité présente sur le site.

1.5. Dimensionnement des ZHA

L'exploitation et l'entretien correct des ZHA assurent un bon fonctionnement et un maintien des objectifs de traitement des ouvrages. L'existence d'une ZHA est divisée en plusieurs étapes : la planification, la mise en service, l'opération et la désactivation/réaménagement (Beharrell, 2004b). Pour les projets à grande échelle, il est vivement recommandé de tester le choix de conception en site pilote (Polprasert, 2004). Pour concevoir une ZHA, il faut préalablement évaluer la charge polluante, les facteurs climatiques, la topographie, les caractéristiques géologiques et hydrogéologique du site pour déterminer la surface, le type de bassin, la profondeur des filtres ... La performance d'une ZHA repose non seulement sur une conception adaptée mais aussi sur une construction fidèle à la conception et une exploitation fidèle au cahier des charges.

1.5.1. Choix des paramètres et construction

La grande majorité des études sur les caractéristiques des filtres plantés (par exemple, l'étude de différents substrats et des performances épuratoires) n'ont pas été menées sur des ZHA à grande échelle, malgré ce que le tableau 1.3 pourrait laisser penser, mais plutôt dans des essais à plus petite échelle en laboratoire dans des conditions contrôlées (Dordio et Carvalho, 2013). Même si cette technologie peut devenir une stratégie d'assainissement alternative globale, son application peut être difficile face aux facteurs environnementaux et aux dysfonctionnements des processus épuratoires inhérents au système (Imfeld et al. 2009).

De bonnes pratiques de construction doivent être le leitmotiv lors de la phase d'installation des ouvrages, ce qui inclue une évaluation préalable du site la plus complète possible, de

s'intégrer au mieux dans le paysage local, et de minimiser les « intrants » (introduction d'espèces non désirées ou de contaminants provenant des matériaux utilisés ; EPA, 2000c). De plus, les constructeurs et les gestionnaires partenaires dans la construction d'une ZHA doivent tenir compte des coûts de maintenance à long terme et prévoir le maintien du bon fonctionnement de la ZHA au fil du temps. Pour ce faire, ils élaborent ensemble un plan des opérations de maintenance, de suivi et de financement à long terme qui va identifier le ou les parties responsables de la maintenance et du suivi du projet, de leurs responsabilités et des mécanismes de financement.

Le choix du site pour la conception des ouvrages doit tenir compte de la présence d'une nappe phréatique (et sa profondeur), des risques d'inondations de la zone ou encore de l'infiltration dans le sol (arrêté 7 septembre 2009). Le nivellement et l'excavation peuvent représenter des travaux dont le coût est important. Ainsi la prise en considération de la topographie est primordiale dans la sélection de la zone d'implantation : elle conditionne souvent l'implantation de l'ouvrage (Polprasert, 2004). L'écoulement de l'effluent devrait suivre la pente (faiblement inclinée) naturelle du site. De plus, puisqu'il s'agit d'un système passif, celui-ci doit être aménagé de telle sorte que l'eau s'écoule gravitairement à travers le système, afin de limiter l'utilisation de pompes (mécaniques, motorisées). Une pente inférieure à 0,5% n'est pas recommandée pour les filtres de type ES. En effet, un minimum de dénivelé est nécessaire pour maintenir le drainage des ouvrages et le contrôle éventuel des moustiques. Les pentes des filtres à écoulement sub-surfacique devraient être au minimum de 2% (en fonction de la conductivité hydraulique initiale du substrat). La lame d'eau doit être légèrement inférieure au niveau du substrat pour faciliter l'installation des espèces végétales sélectionnées et les plantes adventives pourront être contrôlées en inondant le lit (Steiner et Freeman, 1989). Les pentes trop élevées (supérieures à 4%) risquent d'entraîner la majeure partie du débit à la surface du substrat. Une mauvaise conductivité hydraulique altère les processus de traitement et induit des problèmes de gestion de la végétation.

La sélection des substrats est déterminée en terme de perméabilité hydraulique et de capacité d'absorption des polluants (Wu et al. 2015). Le principal paramètre influençant la conductivité hydraulique du sol est la distribution granulométrique. Une mauvaise conductivité hydraulique entraînerait un colmatage des systèmes, réduisant gravement l'efficacité du système et une faible adsorption par le substrat pourrait également affecter les performances de traitement à long terme des ZHA (Wang et al., 2010). Des études à long

terme ont démontré qu'un mélange de sable et de gravier produit les meilleurs résultats de conductivité hydraulique (limitation du colmatage) et de traitement des eaux usées (Stottmeister et al., 2003). Les substrats à petite granulométrie présentent une meilleure élimination des composés azotés que les substrats grossiers. Dans ce cas, le taux d'épuration plus élevé s'explique par la capacité d'échange cationique plus élevée des substrats fins. Cependant, les substrats fins ont une très mauvaise conductivité hydraulique, ils ne peuvent être utilisés directement pour les FH. Il est crucial de sélectionner un substrat ayant une conductivité élevée pour limiter l'apparition de flux et de chemins préférentiels, un contact homogène entre l'eau et le substrat devant être assuré (Kadlec et Wallace, 2008). Les substrats peuvent être d'origine naturelle (graviers, pouzzolane, sable) ou artificiel (sous-produits industriels, charbon actif, billes en plastique) (Wu et al., 2015).

La profondeur de l'eau doit être établie en fonction des contaminants à traiter et du type de filtre sélectionné (Molle et al., 2006). Cette profondeur est un facteur crucial dans l'installation et la pérennité des plantes introduites et influence également les réactions biochimiques responsables du traitement des contaminants en affectant le potentiel d'oxydoréduction et la quantité d'oxygène dissous (Wu et al., 2015). Le volume d'eau est amené à varier au cours de la journée, au fil des mois et des saisons. Malgré ces variations, les ouvrages doivent continuer à être fonctionnels.

Le choix des espèces à planter fait partie des paramètres à prendre en compte lors du dimensionnement ; il est conditionné par les performances de traitement des plantes et mais d'autres fonctions impactent les processus épuratoires (*c.f.* 1.2.3. le rôle des plantes dans la ZHA). La sélection des plantes selon des critères inadaptés aux ZHA et la non-intégration des besoins de la plante dans la conception des filtres plantés peut empêcher une ZHA d'être un succès technique et même être un échec écologique (Beharrell, 2004a). Une maîtrise des problèmes liés à la plantation, à la sélection et à l'établissement des plantes peut améliorer le développement d'un ensemble d'espèces sélectionnées pour maintenir une performance constante des ouvrages (Wallace et Knight, 2006). Les zones végétalisées et leurs densités sont déterminées lors de la conception. En général, les macrophytes sont plantées dans des bandes perpendiculaires au sens d'écoulement. L'eau s'écoule à travers une bande végétale uniforme réduisant la possibilité de court-circuit par diminution des résistances (Wong, 2004).

Lorsqu'on souhaite faire le suivi d'une ZHA, il est préférable d'adapter la conception du filtre aux diverses campagnes d'échantillonnage (piézomètre, accessibilité, ...). Pour suivre les paramètres géobiochimiques ou les populations microbiennes, il est crucial de choisir une profondeur adaptée pour prélever les échantillons (accès par le piézomètre) (Imfeld et al. 2009).

1.5.2. Facteurs opérationnels : TRH, température, oxygénation

L'hydrologie est l'un des principaux facteurs dans le contrôle des fonctions des ZH. Ainsi, le débit des effluents à l'entrée du système doit être ajusté pour optimiser les performances épuratoires (Lee et al., 2009). La planification optimale du taux de charge hydraulique et du Temps de Rétention Hydraulique (TRH) joue un rôle important dans l'efficacité de traitement des ZHA (Wu et al., 2015).

Les différences de mode d'alimentation (intermittent et continu) peuvent influencer les conditions d'oxydoréduction et le transfert et la diffusion de l'oxygène dans les systèmes et par conséquent les processus épuratoires. L'alimentation en continu est la méthode la plus simple et donc la plus courante. Récemment, ce mode d'alimentation a été évalué comme moins efficace que les modes d'alimentation par bâchée et par intermittence pour les polluants épurés par des processus aérobies (Faulwetter et al. 2009). En général, le mode d'alimentation par intermittence présente de meilleure performance de traitement en favorisant l'oxygénation des effluents (Zhang et al., 2012 ; Wang et al., 2017).

Le TRH correspond au temps de séjour des eaux usées dans la ZHA. Il est calculé à partir du volume de la phase aqueuse (calculé à partir du volume du filtre et de la porosité du substrat) et de la charge hydraulique (Headley et Kadlec 2007). Le TRH conditionne le temps de réalisation des processus épuratoires. Bon nombre des réactions biogéochimiques importantes reposent sur le temps de contact entre les constituants des eaux usées et les microorganismes et/ou le substrat et/ou les plantes, tandis que la vitesse des eaux usées peut être un facteur déterminant pour d'autres processus d'élimination des polluants, comme la sédimentation (Headley et Kadlec, 2007). Le TRH est compris dans une fourchette de 4 à 15 jours, selon les paramètres du filtre, du ou des polluants à traiter et des espèces végétales installées (Toet et al., 2005). La surface et la pente de la ZHA ne sont pas les seuls paramètres déterminant de la Distribution de Temps de Séjour (DTS). La profondeur du système, la porosité du substrat et également la végétation vont définir le temps de séjour (Ghosh et Gopal, 2010).

La faible disponibilité en oxygène est un facteur limitant l'élimination efficace de certains contaminants dans les ZHA. L'oxygénation au sein des ZHA dépend principalement du type de filtres (par exemple les FV vont enrichir les effluents en oxygène) et de la libération d'oxygène par le système racinaire des plantes. Pendant la période estivale ou sèche, les niveaux d'eau sont au plus bas, la température de l'eau est habituellement élevée et la productivité des plantes est elle aussi plus élevée. La réduction des niveaux d'eau peut favoriser une meilleure diffusion de l'oxygène aux sédiments par les plantes car l'oxygène dissout dans les eaux chaudes est faible (Kadlec et Wallace, 2008). Mais cette réduction peut aussi être problématique : une réduction du niveau d'eau peut impliquer une concentration des polluants et donc augmenter la toxicité de la phase aqueuse. Cependant, pendant l'hiver, le transfert d'oxygène est limité en raison de l'activité métabolique minimale des plantes (Ouellet-Plamondon et al., 2006; Tunçsiper, 2009). Des études ont prouvé que l'aération artificielle représentait une approche prometteuse pour améliorer la performance du traitement des ZHA (Ouellet-Plamondon et al. 2006).

Le niveau d'eau dans une ZHA est réglé à l'extrémité aval des ouvrages par l'utilisation d'une structure de commande hydraulique (tuyau coudé, siphon, vanne...). Les structures les plus simples correspondent à un tube vertical fixe : le tuyau est enlevé et une longueur différente est insérée pour ajuster le niveau de l'eau). Une ZHA bien conçue devrait fournir à son opérateur une grille d'ajustement du niveau d'eau entre 0 cm (à la surface du substrat) et la profondeur d'eau maximale (Wallace et Knight, 2006). En règle générale, le niveau d'eau dans une ZHA est modifié pour les raisons suivantes :

- augmentation de la hauteur du niveau d'eau lors de la phase d'implantation des espèces végétales.
- diminution de la profondeur de l'eau pendant l'hiver et bénéfices d'un effet isolant (important dans les régions froides).
- fluctuation de la hauteur d'eau afin de favoriser une plus grande pénétration des racines, de limiter l'introduction d'espèces non désirées ou d'augmenter le gradient hydraulique.

Une fois que les plantes sont établies, le niveau d'eau peut être abaissé progressivement. En raison du risque de stress hydrique, ces changements devraient être progressifs en raison de 2 cm/semaine. Cependant, abaisser le niveau d'eau encourage une pénétration profonde des racines et présente donc un bénéfice à long terme (Wallace et Knight, 2006).

1.5.3. Efficacité des ZHA

Les défis associés à l'exploitation d'une ZHA ne se limitent pas à la conception et à la construction et vont au-delà de leur entretien et de leurs exploitations. Les résultats des taux d'abattement en conditions contrôlées (laboratoire) ne sont pas toujours transposables sur le terrain en partie dû au nombre de variables non maîtrisées en conditions réelles.

Les ZHA construites de manière appropriée sont des systèmes « passifs » avec peu d'entretien. Cependant, pour le bon fonctionnement du système, une maintenance est nécessaire. Le suivi de l'efficacité des ZHA peut être réalisé de différentes manières et engendre un certain coût (Imfeld et al., 2009). Les filtres plantés sont des systèmes complexes et dynamiques avec de nombreuses variables nécessitant une gestion (Beharrell, 2004b). Au cours de leur utilisation, les ZHA subiront deux grands types de perturbations. D'une part, les perturbations prévisibles qui se produisent périodiquement et d'autre part, les perturbations imprévisibles avec une impossibilité d'anticipation (imprévues dans la phase de conception ; Polprasert, 2004).

Des problèmes de fonctionnement peuvent se produire lorsque :

- les ZHA sont mal conçues et/ou construites,
- l'opérateur a une mauvaise compréhension du système,
- des événements climatiques de grandes envergures surviennent et impactent les ouvrages,
- les filtres sont surchargés en terme de charge hydraulique et de polluants (White, 1995),
- la compétition et la prolifération excessive des plantes adventives impactent les espèces végétales implantées dans les filtres,
- le sédiment et la litière s'accumulent excessivement et ne sont pas éliminés par le système (on parle de colmatage),
- la DTS perturbée (par exemple les courts-circuits).

Les ZHA nécessitent entre un et trois ans de maturité pour permettre un traitement efficace des eaux usées (Shutes et al., 1999). La conductivité hydraulique, notamment, se stabilise au bout de trois ans et une fois installée, elle se maintient grâce aux racines et aux rhizomes des plantes (Cooper et Findlater, 1990). Si des dysfonctionnements persistent au-delà de cette période, des rénovations/réparations doivent être effectuées (Beharrell, 2004). La DTS est

utilisée pour caractériser l'hydrodynamique de tout ouvrage traversé par un fluide en circulation. Toutes les zones de court-circuit ou les zones mortes (eau piégée) ont un effet sur le temps de contact et la vitesse d'écoulement et donc sur l'efficacité du traitement. Les formes irrégulières des ZHA par exemple sont généralement plus attrayantes esthétiquement mais elles sont moins efficaces hydrauliquement parlant et plus sujettes au développement des zones mortes par rapport aux ZH rectangulaires (Persson et al., 1999). L'analyse de la conductivité hydraulique du filtre planté peut mettre en avant ces dysfonctionnements (diminution du temps de séjour, présence de zones stagnantes ou phénomènes de court-circuit) et doit être suivie régulièrement (Headley et Kadlec, 2007). Or cette tâche peut être difficile en conditions réelles notamment en raison des variations hydriques causées par les précipitations et l'évapotranspiration (Rash et Liehr, 1999). Plusieurs phénomènes physiques vont aussi conditionner la DTS : le vent, la vitesse verticale et horizontale, la topographie du filtre et les plantes (Werner et Kadlec, 2000). Ainsi le choix du traceur appropriés à la ZHA (soluble, inerte, propriétés hydrodynamiques identiques aux eaux usées) est un élément crucial pour suivre la DTS.

En raison de la difficulté de traiter de certains effluents (multipollution, peu de retour d'expériences, ...), les analyses chimiques ne suffisent pas pour valider l'efficacité des ZHA. Shelef et al. (2011) ont démontré que l'efficacité temporelle des traitements épuratoires était corrélée aux paramètres physiologiques des plantes. Il existe des techniques non destructives tel que l'utilisation de l'appareil Multiplex® qui permet de suivre des indices représentatifs du statut physiologiques des plantes de manière non invasives (Tremblay et al., 2012). Cet appareil est principalement utilisé pour suivre la teneur en azote des plantes pour l'agriculture et a été adapté à l'étude du stress des plantes sauvages (Rabier et al., 2014). Ces suivis permettent de diagnostiquer précocement des stress potentiels au travers de mesure instantanées et répétées dans le temps et fournir des informations quant à la tolérance des plantes aux polluants.

De plus, la végétation est amenée à changer progressivement dans les ZHA. La compétition entre les espèces voisines et les espèces provenant du bassin versant/effluent peut modifier l'agencement des espèces implantées au départ. Les ZHA subissent des changements de succession végétale rapides après leur établissement. De ce fait, la diversité des espèces peut diminuer à long terme. Les eaux usées à traiter sont souvent riches en nutriments et peuvent contribuer à la prolifération d'espèces végétales adventives aux dépens des autres espèces.

Pour prévenir ces problèmes de proliférations, des opérations de maintenance régulières doivent être effectuées : contrôle biologique, arrachage et changement du niveau de l'eau.

Pour prolonger la durée de vie des ZHA, l'exploitation et l'entretien des filtres doivent être planifiés. Pour faciliter cela, un plan d'exploitation et de maintenance doit être établi. Par conséquent, il est important de prendre en compte dès la conception certains paramètres comme l'évaluation des risques environnementaux ou la gestion du substrat après utilisation. Ce plan doit être spécifique à chaque ZHA et facile à utiliser. Par exemple, la simple réduction des contaminants présents dans la phase aqueuse par des processus non destructifs (il n'y a pas de dégradation, exemple des ETMM) déplace seulement la contamination. Un suivi doit aussi être entrepris pour s'assurer que les objectifs de traitement sont atteints et pour actualiser le niveau de maintenance à effectuer. La maintenance repose sur l'attention portée aux détails et à la compréhension des processus liés à l'épuration au sein du système.

1.6. Bilan de l'étude bibliographique et objectifs du travail de recherche

Il résulte de cette étude bibliographique que le choix de la zone humide dépend principalement de la composition de l'effluent à traiter et des seuils à atteindre en sortie de ZHA. Le type de polluants à traiter va conditionner la sélection des paramètres physiques à privilégier (conception et fonctionnement) ainsi que le choix des espèces végétales. Il existe une importante source de données sur les abattements des polluants des ZHA ainsi que sur l'emploi d'espèces végétales modèles (*e.g. Phragmites australis* et *Typha latifolia*) et leur implantation monospécifique dans ces systèmes. Il existe peu de références concernant l'utilisation d'autres macrophytes tout comme l'implantation d'agencements diversifiés d'espèce végétales. De plus, la plupart des recherches se focalisent sur un type de polluants donnés. Les résultats d'études en situation réelle (multipollution + conditions environnementales) sont rares (cf tableau 1.3). Néanmoins ces dernières années de plus en plus d'articles sont publiés, confirmant l'engouement pour la phytoremédiation par filtres plantés (Zhi et al., 2012), ce qui ouvre des horizons de recherche de plus en plus étendus.

Cette étude s'inscrit dans la continuité de la thèse de doctorat d'Anna Guittonny-Philippe s'intitulant « Phytoépuration de mélanges de polluants organiques et métalliques pour la préservation des zones humides méditerranéennes : approche exploratoire vers la mise au point d'outils d'ingénierie écologique » (Guittonny-Philippe 2014). Ces travaux ont abouti à

la construction d'un site pilote composés de trois filtres plantés à l'interface d'un bassin versant anthropisé/industrialisé et d'une ZH protégée.

De 2014 à 2017, le site pilote constitué de trois filtres plantés appelés Eco-filtres (EF) a fait l'objet d'observations et d'analyses. Cette étude a pour but premier d'évaluer la mise en activité du site pilote en conditions *in situ*, suite aux travaux réalisés en conditions contrôlées. Le changement d'échelle et la variabilité structurelle des trois filtres plantés ont été discutés puis l'étude a intégré l'évolution des compositions biotiques des filtres et des caractéristiques physico-chimiques de l'eau. Le second axe de réflexion a consisté à évaluer la réponse structurelle des filtres plantés dans un contexte de changement d'alimentation en eau. Le dernier axe de recherche concerne l'étude de l'efficacité épuratoire du site pilote, ainsi que l'évaluation de la toxicité de la phase aqueuse dans un contexte de stress hydrique typiquement méditerranéen.

Changement d'échelle et mise en activité des Eco-filtres

La plupart des études sur la phytoépuration sont réalisées en mésocosme. Les expérimentations en conditions réelles ne sont que rarement réalisées en réplikat dans le but de limiter le coût des opérations de suivi et de gestion. Dans ces conditions, une attention a été portée sur la variabilité structurelle des trois réplikats construits sur le site pilote, peut-elle avoir un impact sur le fonctionnement des EF ?

La mise en place d'espèces végétales autochtones éco-adaptés au sein des ZHA pour le traitement de multi-pollution organiques et inorganiques apparaît comme une démarche pertinente et a été validée en conditions contrôlées (Guittonny-Philippe et al., 2015). La question qui se pose est de savoir si les espèces sélectionnées et implantées dans les ZHA vont subsister face au stress lié à l'apport journalier de polluants mais aussi aux contraintes environnementales et à la compétition entre les différentes espèces.

Les ZHA de traitement des effluents industriels ont avant tout un objectif technique, à la fois d'épuration de l'eau et de protection du milieu récepteur (*e.g.* la rétention d'une pollution accidentelle). Néanmoins les quelques études disponibles se portant sur la faune et la flore ont démontré que les ZHA étaient largement utilisés par la faune. En région méditerranéenne, les ZH présentent une forte valeur patrimoniale. Les ZHA grâce à leur similarité avec les ZH pourraient contribuer à la biodiversité régionale.

Réponse structurelle des Eco-filtres dans un contexte de changement hydrique

Les voies actuelles de recherche pour la phytoépuration portent sur l'efficacité épuratoire des ZHA pour le traitement de polluants émergents (Almeida et al., 2017; Matamoros et al., 2017). Les filtres plantés sont des systèmes vivants pouvant être sensibles aux conditions environnementales et potentiellement perdre leurs fonctionnalités.

Or dans un contexte de changement climatique, il est intéressant de voir si une modification de l'apport hydrique (sécheresse ou épisodes pluviaux intense) entraîne des changements de fonctionnement des EF. Il est important de déterminer si le fonctionnement des EF est pérenne sous diverses contraintes.

Évaluation de l'efficacité épuratoire des Eco-filtres

L'expérimentation en conditions contrôlées a permis de montrer que l'utilisation d'espèces autochtones des ZH polluées pour la phytoépuration ou la bioindication était une démarche qui fonctionne. Pour pouvoir généraliser cette démarche il est indispensable de tester l'efficacité *in situ* de ces espèces implantées dans les EF pour épurer les polluants organiques et inorganiques et faire diminuer l'écotoxicité des effluents industriels lors d'un fonctionnement normal et lors d'un épisode de sécheresse intense (courant lors de la période estivale en Méditerranée).

En conditions contrôlées, l'espèce *E. hirsutum* s'est montrée l'espèce la moins tolérante des cinq espèces testées. Ainsi a été développé un outil de bioindication basé sur des critères biométriques et des indices de phytométabolites. Il serait donc intéressant d'évaluer cet outil de bioindication *in situ* en parallèle des analyses chimiques de quantification et de test d'écotoxicité.

Partie 2 : Matériels et Méthodes

2.1 Site d'étude : bassin versant du marais des Paluns

2.1.1 Localisation

Le site d'étude se situe au sud de l'Étang de Berre (Bouches-du-Rhône) à l'interface entre le marais des Paluns et la Zone Industrielle du Bausset (Figure 2.1).

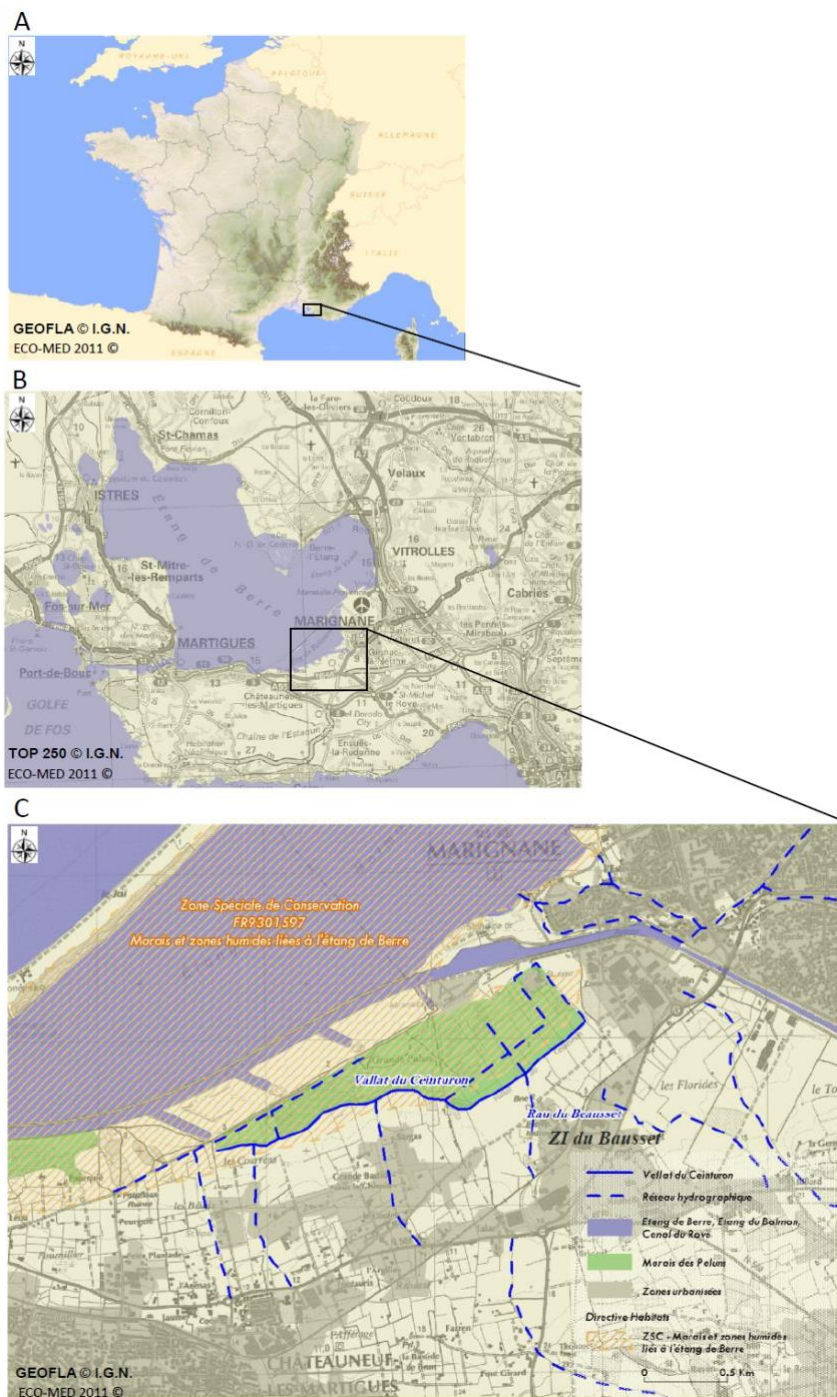


Figure 2.1. : (A) Localisation du site d'étude en France, (B) Situation géographique du site dans son territoire, (C) Localisation du marais des Paluns (source ECO-MED, 2011).

Le Vallat du Ceinturon alimente le marais des Paluns (situé sur les communes de Marignane et de Châteauneuf les Martigues), lui-même alimenté par le réseau hydrographique du bassin versant (BV) du Bausset (ruisseau du Bausset).

2.1.2 Contexte climatique

Ces milieux sont soumis au climat méditerranéen caractérisé par une période de sécheresse estivale, des automnes pluvieux et des hivers plutôt doux. Entre 1921 et 2017, la température moyenne annuelle à Marignane était de 14,5°C avec des précipitations assez faibles (moyenne annuelle autour de 519 mm de pluie par an (météo France)). Ces précipitations sont contrastées (valeurs maximales de 80 mm en 10 jours) et peuvent prendre un caractère diluvien sous forme d'orage. Le marais des Paluns est essentiellement influencé par le mistral et les vents de Sud-Est qui soufflent en moyenne 80 jours par an par rafales de 60 km.h⁻¹ (avec des pointes pouvant dépasser 100 km.h⁻¹).

2.1.3 Contexte biogéographique : le marais des Paluns

Zone humide d'une superficie de 117 hectares, le marais des Paluns fait partie de la Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique Faunistique et Floristique (ZNIEFF) de Type 2, « Étang de Bolmon – cordon du Jaï – Palun de Marignane – Barlatier – la Cadière », n°13110100 et dans la ZNIEFF de Type 1 « Palun de Marignane – Aire de l'Aiguette », n°13110130. Il héberge une flore constituée d'un certain nombre d'espèces rares, une végétation halonitrophile peu commune et plusieurs espèces animales d'intérêt patrimonial (en particulier pour l'avifaune aquatique). Il fait partie de la Zone Spéciale de Conservation Natura 2000 « Marais et zones humides liées à l'Étang de Berre » (FR 9301597) et également classé « Espace Naturel Sensible » par la loi littoral. Sur Marignane, le marais est un mélange de phragmitaies et de prairies humides à joncs et scirpes. À l'inverse, sur la partie de Châteauneuf, l'augmentation de la salinité de l'eau engendre l'occupation de groupements halophiles (sansouires) et de zones d'eaux libres colonisées par des renoncules aquatiques (Biotopie, 2009).

Le marais des Paluns bénéficie d'un régime hydraulique de marais temporaire, l'ensemble des zones humides est inondé l'hiver et à sec l'été. La période d'assec varie en fonction des conditions météorologiques annuelles (en fonction des précipitations et de l'évaporation locale) : elle se produit de la fin du printemps à l'été. Les remises en eau se produisent en général durant les forts épisodes pluvieux de l'automne. Les particularités de ce type de marais méditerranéens en font un milieu remarquable et parfaitement adapté à ces conditions

particulières dans lesquelles les enjeux écologiques y sont particulièrement élevés. Cependant, le marais des Paluns est un milieu naturel vulnérable en raison de sa connexion à un BV fortement anthropisé.

2.1.4 Contexte historique

L'industrialisation, dès le début du XIXe siècle, s'est inscrite dans cette zone à forts enjeux. En effet, l'étang de Berre est devenu un site stratégique pour l'implantation d'activités économiques. L'apparition des soudières nécessaires à la fabrication du savon est la première phase d'industrialisation de l'étang avec la présence d'une industrie chimique fortement polluante sur ce territoire (Daumalin 2015). Par la suite, l'étang de Berre, fleuron d'une économie rurale et caractérisé par des petites exploitations, se tourne vers une industrialisation dense et diversifiée. Or cette expansion économique n'a pas été sans conséquence pour les milieux naturels.

Le BV du marais des Paluns est occupé par une zone industrialisée (ZI du Bausset) mais aussi quelques exploitations agricoles entrecoupées par des voies de communications (RD9, N68, échangeur de l'autoroute). L'accumulation des années d'activités industrielles et la diversification des rejets dans le milieu, malgré le respect des seuils réglementaires imposés depuis les années 1970 (Grisel, 2013), ont ainsi impacté le marais des Paluns.

2.2 Mise en place du pilote de phytoépuration

2.2.1 Cadre réglementaire

L'industrie STOGAZ (classée SEVESO), l'industrie RECLYCLING PURFER et l'industrie FRICOM sont des ICPE rejetant leurs effluents prétraités dans les roubines convergeant dans le Bausset. Les eaux usées rejetées sont un mélange d'eaux domestiques, arrosages de ferrailles, eaux de ruissellement (toitures, parking, ...) et de lavage de bouteilles. Avant rejet dans l'environnement, les eaux usées doivent respecter la réglementation européenne portant sur les rejets au milieu naturel (Directive 2000/60/CE). Chaque industrie est soumise à des arrêtés préfectoraux d'autorisation d'exploiter fixant les conditions générales de rejet des eaux pluviales et usées en respect de l'arrêté du 2 février 1998. Le site pilote est alimenté par une partie de ces eaux issues du bassin versant.

2.2.2 Design expérimental des Eco-filtres

2.2.2.1 Conception et dimensionnement

Le site pilote a été construit sur une parcelle de terrain appartenant à la société STOGAZ, sis Plaine des talan, quartier du Beausset, 13700 Marignane, parcelle enregistrée au numéro de cadastre BY32. Le système expérimental a été construit du 21 au 25 octobre 2013, en aval du secteur industrialisé. Son design a été élaboré avec la société BlueSET, experte en phytoépuration et est issu de l'aboutissement des travaux de thèse d'Anne Guittonny-Philippe (2014) au sein de l'IMBE.

Le système expérimental (Figures 2.2 et 2.3) consiste en trois ZHA expérimentales, appelées Eco-filtres, disposées en parallèle, d'un Bassin d'Indication Amont (BIA) de 1,3 m³ et d'un bassin d'infiltration des eaux en sortie des ZHA expérimentales. Ce bassin a une surface de 40 m² et une profondeur de 50 cm, et est connecté à la roubine longeant le site de STOGAZ. En comptant les espaces entre les ZHA et le merlonnage destiné à protéger le système contre les eaux de ruissellement, l'emprise totale des installations est de 247 m². Les Eco-filtres sont alimentés en eau par un poste de relevage installé dans l'enceinte de STOGAZ (Figure 2.2) et disposé à la zone de convergence des eaux usées de PURFER, STOGAZ et FRICOM et des eaux de ruissellement des routes provenant du bassin versant (prélevées dans la roubine au nord du site STOGAZ).

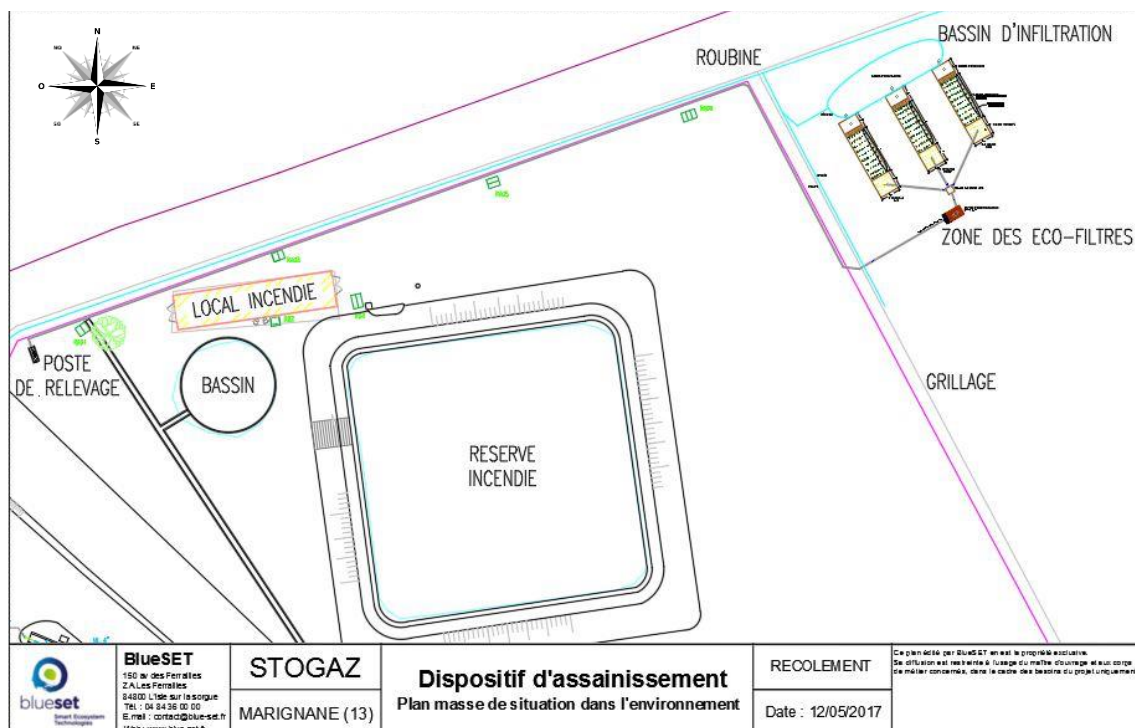


Figure 2.2 : Emplacement des ZHA sur le foncier de la Société STOGAZ.

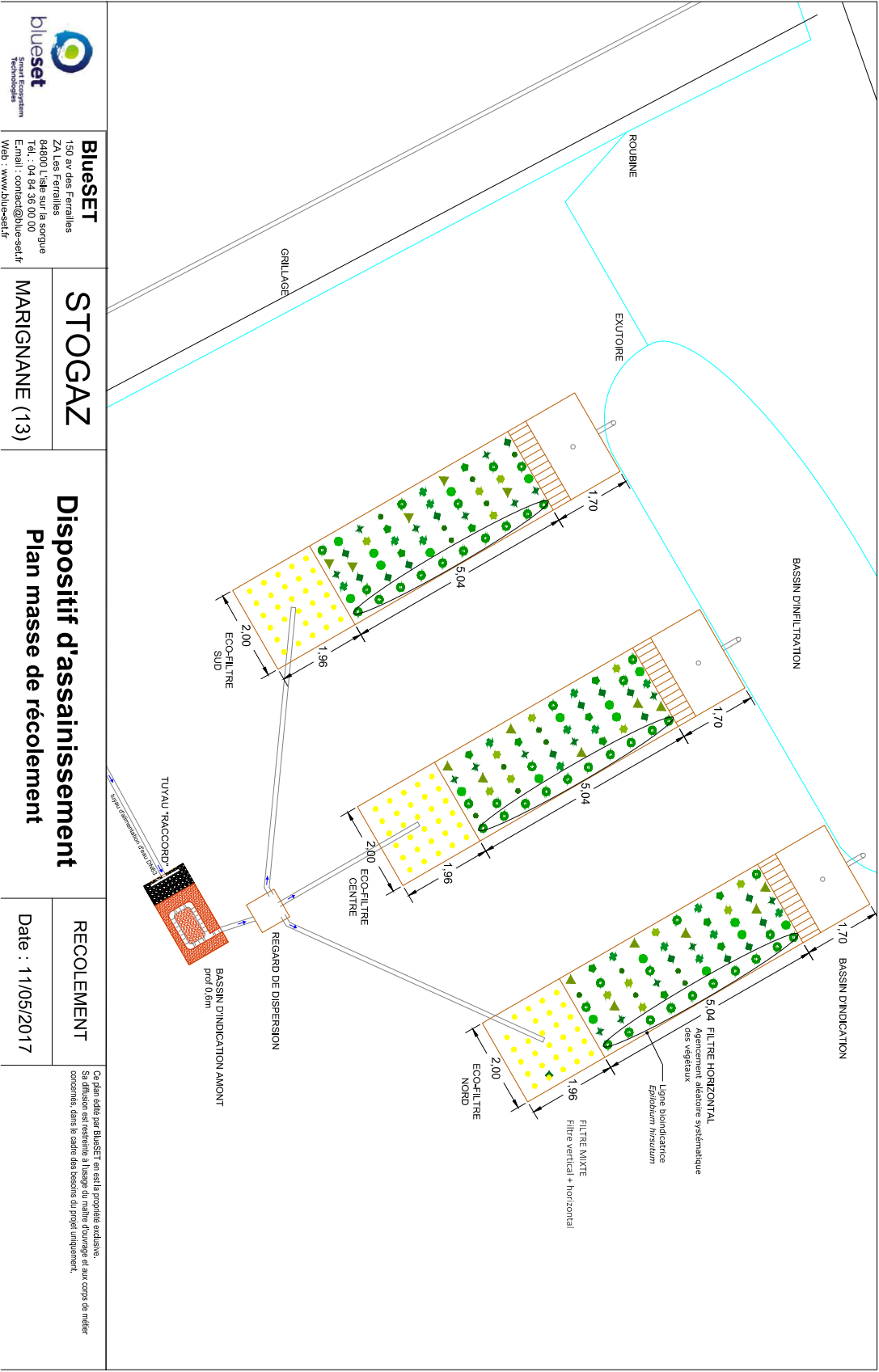


Figure 2.3 : Dispositif expérimental

Le poste de relevage est équipé d'un minuteur, pour régler la fréquence de déclenchement de la pompe. Les ZHA sont alimentés par bâchées réceptionnées dans le BIA et sont conçues pour que ces eaux soient réparties de manière équivalente par un regard de dispersion (Figure 2.3). L'alimentation en eau des trois Eco-filtres est de 1000 L/jour (lors d'une seule bâchée de 15 minutes) et se fait en parallèle grâce au BIA. Au cours de la thèse, le débit a été évalué en mesurant le temps de remplissage de béciers (contenance 3 litres) répété dans le temps. Les Eco-filtres ont été nommés selon leur orientation géographique : Eco-filtre Sud (EFS), Eco-filtre Centre (EFC) et Eco-filtre Nord (EFN). Le substrat utilisé pour le BIA et les Eco-filtres est constitué de pouzzolane (calibrée à 7-12 mm de diamètre). Chaque Eco-filtre est composé d'un Filtre à écoulement Horizontal (FH) de 7 mètres de long sur 2 m de large et de 50 cm de profondeur, suivi par un Bassin d'Indication (BI) d'1 mètre de long, 2 mètres de large et de 40 cm de profondeur (Figure 2.4).

La partie amont du FH est constituée d'un Filtre à écoulement Vertical (FV) sur une surface de 3 mètres carrés. Cette partie de l'Eco-filtre recevant la bâchée d'eau à traiter sera identifiée sous le nom de filtre Mixte (FM). Le FM est constitué d'un support en bois rempli de pouzzolane d'une profondeur de 20 cm sachant que le FH fait 50 cm de profondeur, la profondeur totale du FM est de 70 cm. Le FM est alimenté par un tuyau relié au regard de dispersion, les eaux usées à traiter s'écoulent dans un axe vertical.

Les FH et les BI sont des bassins enterrés rempli de pouzzolane et l'étanchéité est assurée par une bâche EPMD (éthylène propylène diène monomère) et un géotextile. La connexion hydraulique entre FH et BI est assurée par un drain et un tuyau en PVC (100 mm de diamètre), l'écoulement d'un filtre à l'autre étant gravitaire.

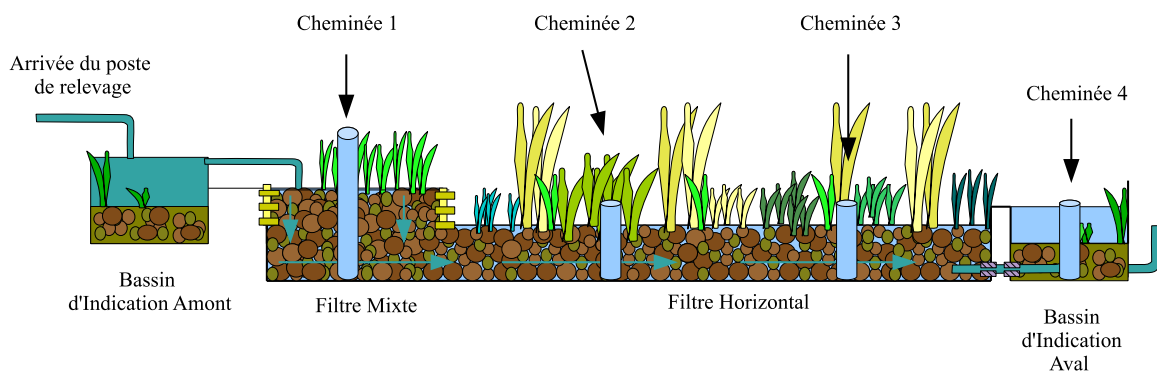


Figure 2.4 : Coupe longitudinale d'un Eco-filtre avec le BIA, le FV, le FH et le BI

Au centre de chaque FM, FH et BI (Figure 2.4) posé au fond du filtre, un tuyau en PVC perforé (100 mm de diamètre, 700 mm de long) a été installé verticalement afin de réaliser

des prélèvements et des mesures d'hauteur d'eau. Les hauteurs d'eau ont été mesurées grâce à des baguettes en bois (70 cm), elles ont été plongées dans chaque cheminée puis la limite de l'eau sur la baguette a été mesurée à l'aide d'un mètre.

En sortie de chaque BI, un coude (50 mm de diamètre) raccordé à un drain en PVC (100 mm de diamètre) sert de sortie aux effluents traités pour se déverser dans le bassin d'infiltration.

2.2.2.2 Végétalisation des filtres plantés

Les espèces végétales ont été choisies en fonction (1) de leur tolérance aux polluants (présentes en sortie des émissaires des usines), (2) de leur présence naturelle dans le marais des Paluns (caractère non invasif) et (3) de leur évaluation en conditions contrôlées au sein du laboratoire (Guittonny-Philippe et al. 2015). En effet, les cinq héliophytes sélectionnées ont préalablement fait l'objet de test en microcosmes concernant leur tolérance au mélange des polluants et leurs fonctionnalités épuratrices.

L'espèce sélectionnée pour l'implantation du filtre mixte est *Carex cuprina* pour ses capacités de phytostimulation en présence de multipollution et pour ses capacités d'accumulation des ETMM (Guittonny-Philippe et al. 2015).

Pour l'implantation dans le FH, plusieurs espèces ont été retenues : *Carex cuprina*, *Iris pseudacorus*, *Alisma lanceolatum*, *Juncus inflexus* et *Epilobium hirsutum*. Ces cinq héliophytes ont été plantées en polyculture dans les trois FH de façon aléatoire systématique comme présenté dans la Figure 2.5. Elles ont été choisies dans le but de favoriser la biodégradation des MPO par les communautés microbiennes (Amon et al. 2007).

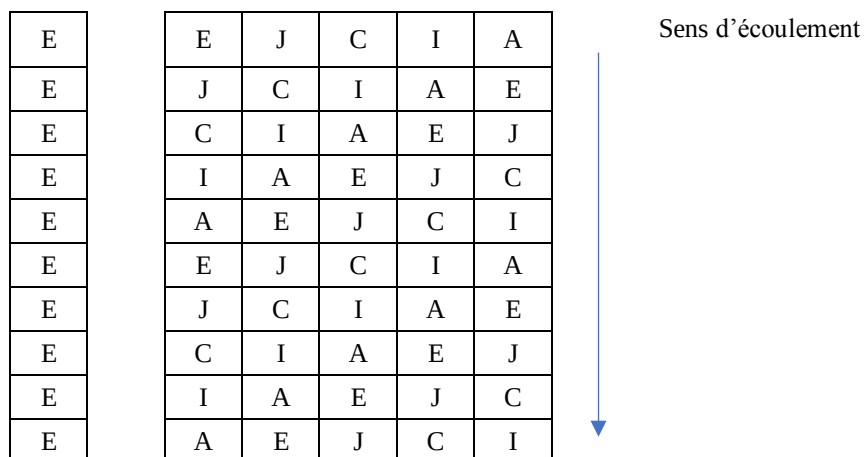


Figure 2.5 : Plantation des 5 espèces végétales sélectionnées en conditions contrôlées dans les FH de façon aléatoire systématique : (E) = *E. hirsutum* ; (J) = *J. inflexus* ; (C) = *C. cuprina* ; (I) = *I. pseudacorus* ; (A) = *A. lanceolatum*.

Une ligne d'*E. hirsutum*, dans l'axe longitudinal des filtres mixtes et FH, a été plantée (figure 2.5) afin d'étudier *in situ* ses capacités de bioindication (Guittonny-Philippe, Masotti, et al. 2015).

Les individus-sources pour les différentes espèces végétales ont été prélevés au niveau du marais des Paluns et à proximité des industries. Les individus de *E. hirsutum* et *J. inflexus* ont été prélevés dans le marais en bordure du Bausset ; *C. cuprina* a été prélevé dans la roubine FRICOM ; *A. lanceolatum* a été prélevé dans la roubine Nord-Ouest en bordure de la société STOGAZ et *I. pseudacorus* a été prélevé en amont du Bausset au Nord de STOGAZ, ceci durant l'automne 2013 et au printemps 2014. Pour chaque espèce, un nombre d'explants supérieur à celui nécessaire a été prélevé puis ils ont été divisés et mis en culture *ex-situ* (dans les serres universitaires à Marseille) afin d'obtenir des individus de taille équivalente (homogénéisation) pour les trois filtres horizontaux. Après obtention de plants sains et homogènes, ils ont été plantés dans chaque filtre en octobre 2013. Après six mois d'acclimatation les individus morts ont été remplacés, par la suite plus aucun remplacement n'a été effectué. Aucun ajout volontaire de microorganisme n'a été effectué dans les filtres.

2.3 Design expérimental

Au cours des 36 mois du Doctorat, plusieurs campagnes d'expérimentations, plusieurs suivis et plusieurs interventions ont eu lieu, afin de mieux cerner le fonctionnement d'une zone humide artificielle en région méditerranéenne. La figure 2.6 répertorie, année par année depuis la création des Eco-filtres les événements majeurs qui ont eu des conséquences sur le fonctionnement des Eco-filtres. Par exemple, les sécheresses estivales (conséquence naturelle du climat méditerranéen) sont figurées, de même que le changement de régime hydrique (différenciant EFN, EFC et EFS) ou le retour à un régime hydrique identique.

Les dates des expériences, des inventaires floristique, faunistique, phytoplanctonique, des analyses physico-chimiques, et de débit sont également représentées.

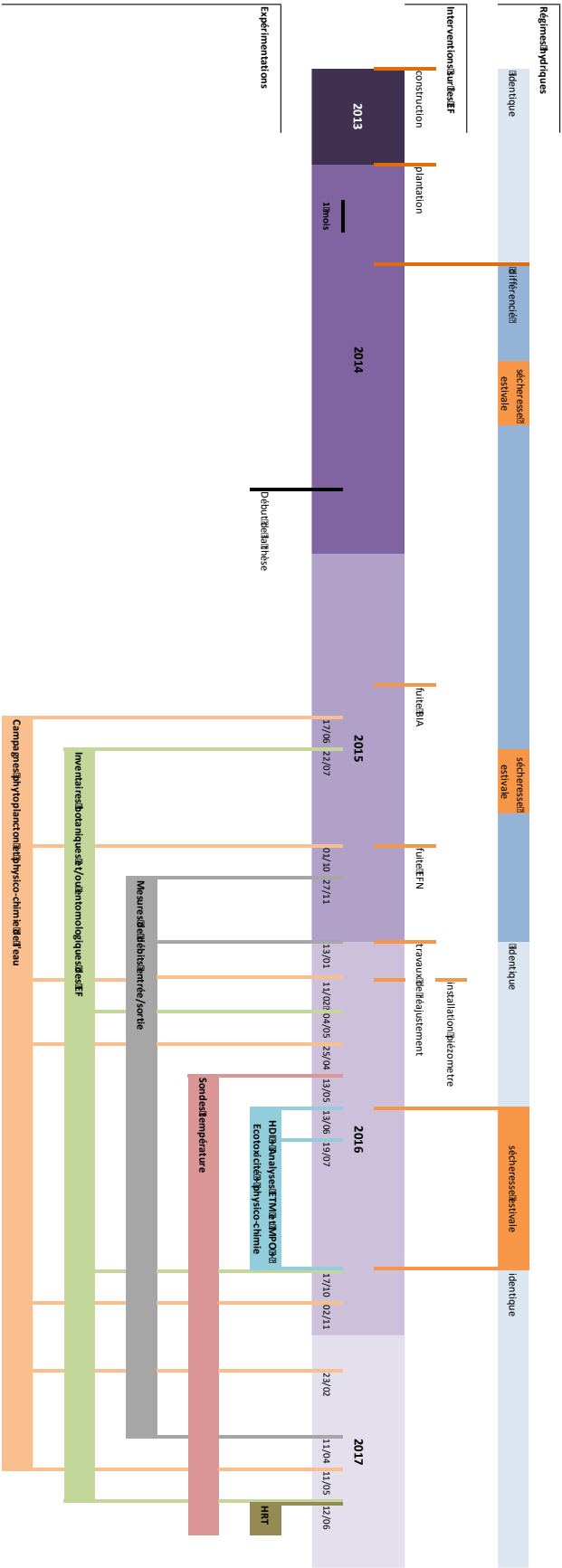


Figure 2.5 : déroulement général des interventions et des expérimentations in situ

2.4 Inventaires floristiques

Durant les années 2015 et 2016, quatre inventaires floristiques ont été réalisés (Figure 2.6.). La prospection a permis de dresser une liste d'espèces par Eco-filtre déterminées à l'aide des flores de Fournier (1947) et Rameau (1993). Pour chaque espèce, l'abondance a été estimée par la fréquence au sein des unités d'échantillonnage (Figure 2.7 (A)). En 2015 (avant les travaux), ces unités étaient divisées en 40 carreaux (50 cm x 50 cm/carreau). Les travaux et l'ajout d'une armature en bois ont engendré une perte de surface diminuant ainsi ce quadrillage. En 2016, ces unités se sont retrouvées divisées en 27 carreaux (50 cm x 50 cm/carreau) comme le montre la Figure 2.7 (B). Pour les deux premières campagnes de prospection, la liste des espèces et le recouvrement ont été effectués selon la méthode phytosociologique classique (Rodwell, 2006), la fréquence correspond donc au nombre de carreaux occupés par chaque espèce. Pour les deux campagnes suivantes, la surface ayant été modifiée, les résultats ne pouvaient être directement comparés. Ainsi pour ces campagnes, le recouvrement de la végétation puis celui de chaque espèce ont été relevés à l'aide de six coefficients correspondant à une évaluation semi-quantitative du recouvrement (0 : recouvrement = 0% ; 1 : recouvrement < 10% ; 2 : recouvrement = 10% à 25% ; 3 : recouvrement = 25% à 50% ; 4 : recouvrement = 50% à 75% ; 5 : recouvrement > 75%). A partir des inventaires floristiques, des indices ont été calculés en utilisant la fonction « DiversitySampler » du package ade4 sous R 3.0.2 (Borcard et al, 2011). Pour chaque FH, il a été estimé la richesse spécifique et l'indice de diversité de Shannon a été calculé selon la formule :

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

Où S est le nombre total d'espèce, i espèce au sein d'un traitement, $p_i = n_i/N$ avec n_i le nombre d'individus (ici nombre de carreaux occupé) et N le nombre total d'individus de toutes les espèces dans les FH.

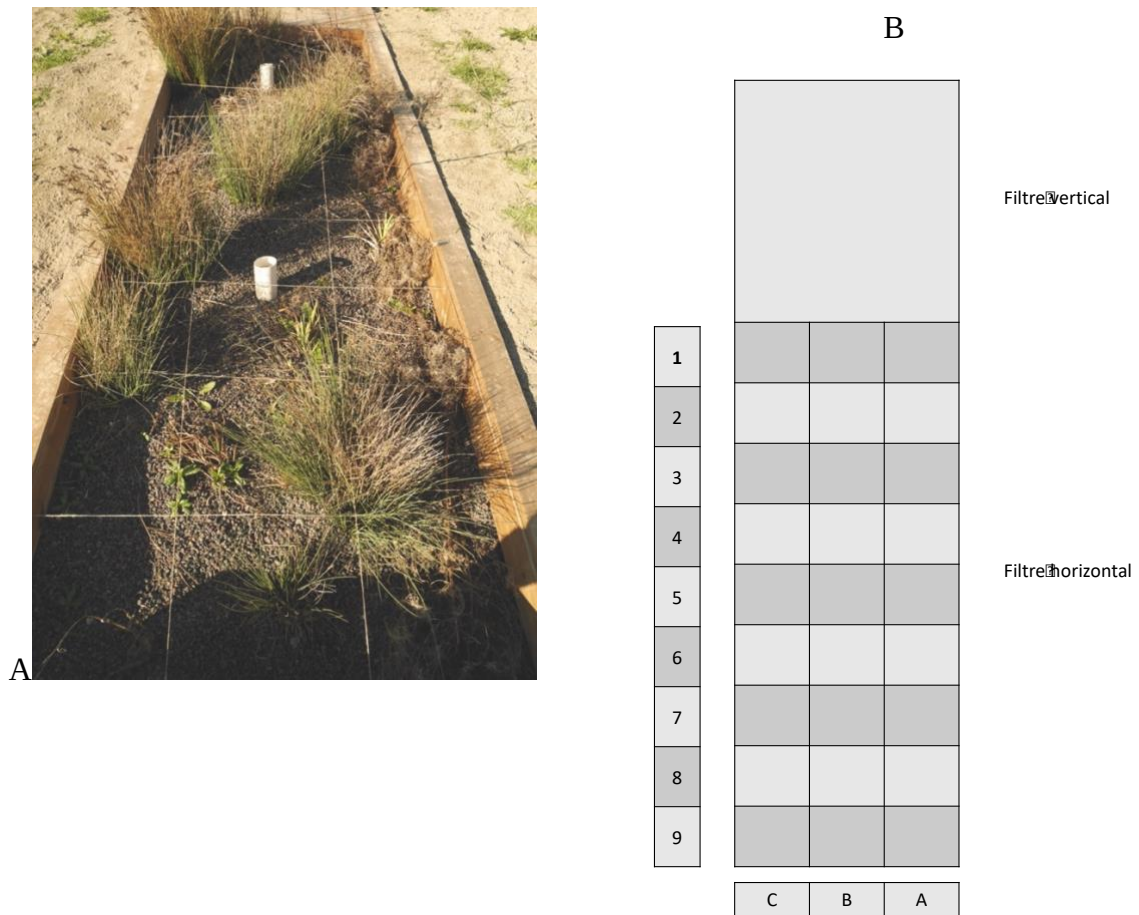


Figure 2.7 : Quadrillage des Eco-filtres (A) Exemple de quadrillage, mis en place au niveau du FH (Eco-filtre Nord) (B) Schéma du quadrillage commun aux 3 Eco-filtres en 2016.

2.5 Inventaires phytoplanctoniques

Des inventaires phytoplanctoniques ont été réalisés dans les 3 Eco-filtres directement dans chaque cheminée des Eco-filtres et en entrée du système (BIA), de juin 2015 à mai 2017, à chaque saison pour un total de huit campagnes. Les algues planctoniques ont été collectées à l'aide d'une pompe Wab® et directement envoyée dans un flacon HDPE (Polyéthylène Haute Densité) de 250 mL. Les échantillons ont été stabilisés avec du formaldéhyde (à hauteur de 35%) et ensuite stockés dans une glacière jusqu'au retour au laboratoire où ils ont été caractérisés. Les algues phytoplanctoniques sont identifiées et comptées à l'aide d'un microscope inversé « Olympus » (grossissement x400). Des échantillons de Bacillariophycées nettoyés ont été montés dans le milieu hautement réfractif Naphrax dans le but d'accentuer les détails frustulaires utilisés classiquement pour l'identification des espèces. La plupart des taxons ont été identifiés en utilisant les volumes de Süßwasserflora von Mitteleuropa

(Krammer & Lange-Bertalot, 1988, 1991a, 1991b, Komàrek & Anagnostidis 1999, 2005). La densité cellulaire des algues planctoniques a été estimée en utilisant des techniques de comptage standard (Uthermöhl, 1958, Lund et al., 1958).

2.6 Inventaires faunistiques

Un expert entomologiste de la société ECO-MED a effectué un passage de prospection sur le site pilote le 22 juillet 2014, un second passage a été réalisé par Patrick Höhener le 12 juin 2017 (*cf* Figure 2.6). Les périodes du passage ont été adaptées pour recenser les espèces estivales au niveau des trois Eco-filtres ainsi qu'aux abords de ceux-ci. Ce sont essentiellement les odonates qui ont été recherchés. Néanmoins, les lépidoptères et les orthoptères ont également été inventoriés et de façon plus opportuniste les autres groupes (dictyoptères notamment). Ils regroupent la majorité des espèces présentant un statut réglementaire et/ou pour lesquelles un enjeu local de conservation a été déterminé.

La principale méthode de prospection consiste à rechercher à vue les imagos. L'identification a été réalisée directement sur le terrain, le plus souvent après capture temporaire à l'aide d'un filet à papillons ou après photographies des critères de détermination pour une identification ultérieure. Une recherche assidue des exuvies (dépouilles larvaires des odonates) a également été entreprise, au niveau des berges des bassins ainsi que des tiges de végétaux et autres supports d'émergence (cailloux, branches mortes).

De 2015 à 2017, des prospections visuelles des différentes espèces animales ont été effectuées à chaque passage sur le pilote. Ainsi des ragondins, des canards, des chevaux, des chats et un chien de passage ont été identifiés à proximité des Eco-filtres.

2.7 Analyses des paramètres physico-chimiques au sein des Eco-filtres

Le suivi des Eco-filtres a consisté à : (1) une campagne de quantification des polluants dans les effluents en amont et en aval du système (2) à des mesures des conditions physico-chimiques (températures, conductivité et pH) dans les cheminées de prélèvement lors des inventaires phytoplanctoniques et lors de la campagne de quantification, (3) un suivi de la température dans les cheminées de prélèvement et à la surface de la pouzzolane, (4) plusieurs campagnes de quantification des éléments nutritifs (*cf*. Figure 2.6).

Les prélèvements d'eau ont été effectués à mi-hauteur de la colonne d'eau des cheminées de prélèvement, entre la surface et le sédiment. Ils ont été conditionnés dans des flacons en polyéthylène ou en verre, de contenance de 250 mL à 1 L selon le type d'analyse et conservés à 4°C aussitôt le prélèvement fait.

2.7.1 Température, conductivité et pH

La conductivité, l'oxygène dissous et la température (sonde WTW®) ainsi que le pH (Hanna Instrument – HI 9913001) ont été mesurés tous les sept jours pendant six semaines (du 13 juin au 19 juillet 2015) directement dans chaque cheminée des Eco-filtres (12 cheminées) et en entrée du système (BIA). Cette campagne de mesures a été réalisée lors de la campagne d'analyses des polluants organiques, inorganiques et de l'écotoxicologie des effluents comme présentés dans la figure 2.6.

Lors de chaque inventaire phytoplanctonique, la mesure des paramètres physico-chimiques *in situ* (pH, conductivité, température et oxygène dissous) a été réalisée à l'aide d'un multimètre WTW Multi 3430 muni de trois électrodes (pH électrode Sentix 940, conductivité TetraCon 925 et oxygène dissous FDO 925) directement dans chaque cheminée des Eco-filtres et en entrée du système (BIA).

En plus d'un suivi ponctuel lors des campagnes de quantification des polluants et lors des inventaires phytoplanctoniques, la température a été mesurée à l'aide de sondes avec enregistreurs de données Tinytag® toutes les heures de mai 2016 à avril 2017. Deux sondes ont été placées dans le BIA ; une dans la cheminée de prélèvement au l'autre à la surface de la pouzzolane. Une sonde a été placée à la surface du FM Sud, directement sur la pouzzolane, les mesures effectuées permettront d'évaluer les températures maximales à la surface de la pouzzolane sans protection de la végétation. Une sonde a été placée à la surface de la pouzzolane à proximité des cheminées de prélèvement 2 et 3 de chaque Eco-filtre.

2.7.2 Quantification du phytoplancton

La quantité de phytoplancton présente dans l'eau peut être estimée par la mesure des pigments chlorophylliens présents, soit sous forme dite active, la chlorophylle, soit sous forme dégradée, les phéopigments. Deux méthodes de lecture d'absorbance et de calcul des concentrations sont utilisées. La méthode SCOR-UNESCO est basée sur la mesure de l'absorbance de l'extrait à 750, 663, 645, 630, 430 et 410 nm. La méthode de Lorenzen

consiste à mesurer l'absorbance à deux longueurs d'onde (750 et 665 nm) sur l'extrait non acidifié puis sur le même extrait après acidification (en milieu acide, la chlorophylle a produit de la phéophytine a). Dans les deux cas, les équations pour le calcul des concentrations intègrent des facteurs empiriques (Rodier, et al 2009).

Les pigments sont quantifiés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible double faisceau (Jasco, V630) en utilisant des cuves en quartz de 10 mm de côté.

2.7.3 Éléments nutritifs

L'ensemble des analyses des éléments nutritifs a été réalisé à l'IMBE à Marseille dans l'équipe « Écologie des Eaux Continentales ».

Sur le terrain, l'eau des Eco-filtres est prélevée à l'aide d'une pompe Wab et directement envoyée dans un flacon HDPE de 1 L. Les flacons sont immédiatement stockés à 4°C en attente de filtration au laboratoire.

Au laboratoire, la moitié de l'eau du flacon HDPE est filtrée sur filtre GFF (Whatman, 0,7 µm, 47 mm) à l'aide d'un système de filtration en verre. Le filtrat est récupéré dans un flacon HDPE de 150 mL pour l'analyse des anions, des cations et de la silice dissoute. Les échantillons sont ensuite soit directement analysés, soit congelés à -20°C dans l'attente de leur analyse.

L'autre moitié du flacon est filtrée sur filtre GFC (Whatman, 1,2 µm, 47 mm) sur le même système de filtration que précédemment. Le filtre GFC est ensuite récupéré et placé 24 h à +4°C dans un tube en verre de 15 mL contenant 10 mL d'acétone 90%. Une fois le temps écoulé, le filtre est retiré, l'échantillon est centrifugé et le surnageant est analysé au spectrophotomètre dans le but de quantifier les pigments chlorophylliens.

L'analyse des anions F^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} se réalise à l'aide d'une colonne dite anionique (Metrosep A Supp 5, diamètre interne = 4 mm et L = 150 mm) contenant une phase stationnaire à base de polymère fonctionnalisé par des sites ioniques. La phase mobile est composée de Na_2CO_3 3,2 mM et de $NaHCO_3$ 1 mM. Les cations Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} ont été analysés à l'aide d'une colonne dite cationique (Metrosep C6, diamètre interne = 4 mm et L = 150 mm) contenant une phase stationnaire composée de sites échangeurs de cations, la phase mobile étant constituée d'acide dipicolinique (DPA, $C_7H_5NO_4$) 1,7 mM et d' HNO_3 2 mM. La silice dissoute quant à elle a été quantifiée à l'aide d'une colonne HAMILTON PRP-X100 (diamètre interne = 4 mm et L = 125 mm) en employant un éluant composé de NaOH 3,2 mM et de Na_2CO_3 0,5 mM.

Lors de la mise en route de l'appareil, la pression dans le système va entraîner la circulation de l'éluant au travers de la colonne. Les constituants de l'éluant vont se fixer sur les sites échangeurs de la colonne et au fur et à mesure que l'éluant parcourt la colonne, ces ions vont passer de sites échangeurs en sites échangeurs pour sortir de la colonne. Lors de l'injection d'un échantillon aqueux (boucle d'injection de 200 μL), les ions injectés vont prendre la place des ions adsorbés sur la phase mobile et passer à leur tour de site échangeur en site échangeur. La rétention étant fonction de la charge de l'ion et de sa taille, les ions présents dans un échantillon sont séparés et sortent séquentiellement de la colonne. En sortie de colonne les anions séparés passent sur un système de suppression. En effet, pour assurer une bonne séparation, les éluants ont des propriétés similaires à celles des analytes. L'utilisation d'un suppresseur est ainsi indispensable pour diminuer la conductivité de l'éluant et, conséquemment, diminuer le bruit de fond et augmenter la réponse des analytes. Les cations et la silice dissoute sont directement envoyés vers le détecteur sans suppression. Enfin, l'étape de détection est assurée au moyen d'un conductimètre. L'analyse quantitative est assurée à l'aide de la réalisation d'une gamme d'étalonnage multi élémentaire. Les ions majeurs ont été quantifiés au laboratoire à l'aide d'un chromatographe Metrohm 930 Compact IC Flex muni d'un passeur d'échantillon 863 Compact AutoSampler. Chaque analyse est validée en utilisant un matériel de référence de concentration connue en ions (CRM, ION-96.4, Canada) et des blancs (témoins de solvants).

2.7.4 Analyses des ETMM et éléments majeurs dissous

L'ensemble des analyses des ETMM et des éléments majeurs dissous ont été réalisées au Laboratoire de Chimie de l'Environnement (LCE) à Marseille dans l'équipe « Développement Métrologique et Chimie des Milieux ». Ces analyses ont été réalisées pendant la campagne de mesures d'évaluation de l'efficacité épuratoire des Eco-filtres (12 juin au 19 juillet 2016). A intervalle régulier de sept jours pendant cette campagne, 250 ml d'effluent en sortie des systèmes (BIS, BIC et BIN) et un échantillon en entrée ont été prélevés afin de mesurer, le jour même, la demande chimique en oxygène (DCO), les concentrations en ETMM dissous et particulaires, le carbone organique/inorganique, l'azote total, les anions majeurs, les Matières En Suspension (MES) et le phosphore total.

2.7.4.1 Préparations des échantillons

Les échantillons nécessaires à la quantification des ETMM ont été acidifiés directement sur le terrain : pour 250 mL d'échantillon, il a été ajouté 2 mL d'acide nitrique ultrapur. Les autres échantillons nécessaires pour la quantification des éléments majeurs dissous (prélèvement de 250 mL) ont été conservés sans acidification. Ces deux types d'échantillons ont été placés à 4°C immédiatement après le prélèvement sur le terrain.

2.7.4.2 Analyses des ETMM dissous et particulaires par ICP-AES

Tous les échantillons ont été filtrés avant analyse sur une membrane PolyEtherSulfone d'une porosité de 0,45 μm . Pour la détermination des métaux particulaires, les filtres ont été minéralisés en four à micro-ondes (Milestone Start D) dans un solvant eau régale (*aqua regia*) composée d'un mélange de 7 mL HCl et de 3,5 mL HNO₃. Les produits de la minéralisation ont été filtrés sur membrane 0,45 μm et complétés à 50 mL dans une fiole jaugée avec de l'eau déminéralisée (18,2 M Ω de résistivité). Les métaux suivis lors de cette campagne sont les suivants : aluminium (Al), arsenic (As), cadmium (Cd), chrome (Cr), cuivre (Cu), fer (Fe), nickel (Ni), plomb (Pb), silicium (Si) et zinc (Zn).

Les métaux dissous et particulaires ont été quantifiés par spectrométrie d'émission atomique à couplage plasma inductif (ICP-AES) à l'aide d'un système JY2000 Ultratrace (Jobin-Yvon, France) équipé d'une chambre de nébulisation en verre Meinhard TR50-C1.

Les analyses ont été réalisées en utilisant les paramètres suivant : puissance 1000 W, débit de pompe 20 mL.min⁻¹, débit de gaz plasma 12 L.min⁻¹, débit de gaz vecteur 0,2 L.min⁻¹, débit du nébuliseur 0,83 L.min⁻¹ and pression du nébuliseur 3,1 bars.

2.7.4.3 Azote total

L'azote total dissous (N_{total}) ont été mesurés par un analyseur NC2100S C/N (Analytik Jena, Allemagne) sur des échantillons préalablement filtrés (membranes en polyethersulfone d'une porosité de 0,45 μm). Il a été quantifié par la technique d'oxydation catalytique à haute température. Pour cela, l'échantillon (500 μl) a été injecté dans un four garni de billes de catalyseur à base de platine (Pt) pré-conditionnées. La combustion a été réalisée à 800°C et les gaz de combustion ont été transportés par un gaz vecteur d'oxygène pur (Linde Gas) vers un détecteur de chimiluminescence (CLD). Chaque analyse a été réalisée en triplicats. Le CLD a été étalonné par un mélange de sulfate d'ammonium et de nitrate de potassium.

2.7.4.4 Les anions majeurs

L'analyse des anions (H_3PO_4^- et NO_3^-) a été réalisée par chromatographie ionique haute performance suivant la méthode EN ISO 10304-2 :1996 sur un système ICS3000 (Dionex, USA) piloté par la logiciel Chromeleon® v6.80. Le système était équipé d'une colonne de garde (Dionex AG11-HC) suivie d'une colonne séparative Dionex AS11-HC (4×250 mm), d'un détecteur conductimétrique (Dionex CD-25) et d'une boucle de 25 μL montée sur une électrovanne d'injection. Les analyses ont été réalisées en mode isocratique à l'aide d'un éluant composé de soude à une concentration de 22,5 mM préparée dans de l'eau déminéralisée préalablement purgée à l'hélium. Le débit d'éluant a été fixé à 1,5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et l'ensemble du système a été thermorégulé à 30°C. Pour améliorer le rapport signal/bruit lors de la mesure de la conductivité, un suppresseur électrochimique (ACRS 500 4 mm) a été ajouté au système analytique.

2.7.4.5 La Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La DCO a été déterminée par oxydation des échantillons par le dichromate de potassium en milieu acide sulfurique concentré et à chaud suivant la norme ISO 6060:1989. L'oxydation au dichromate de potassium a été réalisée suivant la microméthode en tubes fermés (Aqualytic, gamme DCO LR 0-150 mg/L) et les mesures ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre AL800 (Aqualytic, Allemagne). Toutes les mesures ont été réalisées sur des échantillons bruts non filtrés.

2.7.4.6 Matière En Suspension (MES)

Les matières en suspension ont été quantifiées suivant la norme NF EN 872:1996. Les échantillons (250 mL) ont été filtrés sur des filtres en fibre de verre de type Whatman GF/F préalablement rincés à l'eau déminéralisée et séchés à 105°C. Après filtration, les filtres ont été placés à l'étude à 105°C pendant 1 heure puis mis à refroidir à température ambiante dans un dessiccateur pendant 2 heures. Le calcul des MES se fait par différence entre la masse initiale du filtre sec et la masse après filtration du filtre sec.

2.7.4.7 Phosphore Total

Le phosphore total a été quantifié sur les échantillons bruts non filtrés suivant la méthode NF EN ISO 6878:2005. Cette méthode repose sur la minéralisation à chaud de la matière

organique et sa conversion en phosphates ou orthophosphates solubles. Le dosage est ensuite réalisé par réaction avec le molybdate d'ammonium et le tartrate d'antimoine et de potassium qui réagissent avec les ions orthophosphate pour former de l'acide phosphomolybdique. Ce dernier est ensuite réduit par l'acide ascorbique pour former un complexe bleu mesurable par spectrophotométrie. Les mesures ont été réalisées suivant la microméthode en tubes fermés (Aqualytic, gamme Ptotal LR 0,07-3 mg P/L) et les mesures ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre AL800 (Aqualytic, Allemagne).

2.7.5 Analyses des polluants organiques

Les analyses des polluants organiques ont été réalisées au sein de deux structures différentes. Les échantillons d'eau ont été analysés par un laboratoire d'analyse accrédité (Comité Français d'Accréditation COFRAC) selon les normes françaises en vigueur pour l'analyse de HAP et des HCT. Les polluants organiques ont aussi été suivis par l'utilisation de capteurs passifs (CP) permettant ainsi d'avoir un échantillonnage continu et constant au sein des EF. De par les contraintes inhérentes à un site SEVESO, il était impossible d'installer un préleveur automatique. Pour augmenter la fiabilité des données mesurées, les concentrations ponctuelles étant généralement en dessous des seuils de détection des appareils utilisés, l'utilisation des CP a permis de pallier cet inconvénient. Ces analyses ont été réalisées avec le LCE à l'Arbois dans l'équipe « MicroPolluants Organiques ».

2.7.5.1 Extractions des polluants organiques dans les échantillons d'eau

Les échantillons d'eau ont été prélevés lors de la campagne d'analyse chimique des polluants organiques et inorganiques. Les échantillons prélevés le 13 juin et le 20 juin 2016 ont été effectués en partenariat avec le LCE et les échantillons prélevés du 27 juin 2016 au 18 juillet 2016 ont été quantifiés par la Société du Canal de Provence accrédité COFRAC.

Les échantillons ont été conditionnés dans des flacons en verre de 1 L stabilisés avec H₂SO₄ pour les HCT et dans des flacons en verre de 1 L pour les HAP (non stabilisés). Les HAP quantifiés sont les suivants : fluoranthène, acénaphène, acénaphylène, anthracène, chrysène, fluorène, naphthalène, phénanthrène et pyrène. La quantification des HAP par la SCP a été réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) selon la norme NF ISO 17-993 (AFNOR, 2003) et les HCT selon la norme NF EN ISO 93-77-2.

Pour les échantillons mesurés en partenariat avec le LCE, les échantillons ont tout d'abord été reconcentrés puis extraits. La préconcentration des eaux pour l'extraction des hydrocarbures a été faite par extraction sur phase solide (SPE) sur cartouches en silice greffée C18 (1000 mg/6mL, Supelco chez Sigma-Aldrich, USA). Les cartouches sont conditionnées avec 4 mL de méthanol puis 4 mL d'eau ultra pure. Puis un volume de 500 mL d'échantillon d'eau non filtré est percolé au travers de la cartouche à un débit de 10 mL/min. Puis la cartouche est séchée pendant une heure par tirage sous vide. Les analytes sont ensuite élués avec 6 mL d'hexane passant à un débit de 1 mL/min. Les extraits sont ensuite passés sur filtre séparateur de phase Whatman® 1PS (Sigma-Aldrich), afin d'éliminer les traces d'eau, puis reconcentrés à 1 mL sous flux d'air comprimé avant analyse.

2.7.5.2 Exposition et traitement des échantillonneurs passifs

Etant donné la fugacité des pollutions liées aux rejets industriels, l'échantillonnage ponctuel peut s'avérer assez limité et peu représentatif. C'est pourquoi, pour notre étude, nous avons employé également une seconde technique d'échantillonnage ; l'échantillonnage passif (EP), qui a été développé depuis 10-15 ans pour le suivi de la qualité du milieu aquatique. Les échantillonneurs passifs choisis sont de type Chemcatcher®, fonctionnant en mode intégratif et ayant été appliqués à différentes problématiques environnementales (Charriau, 2016 ; Lissalde, 2016). Ce sont de plus des échantillonneurs de choix pour les analytes organiques hydrophobes (De La Cal, 2008), tels que les hydrocarbures aliphatiques ou aromatiques ciblés dans ce travail. De plus, en juin 2011, l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) a produit la norme ISO 5667 portant sur l'échantillonnage des eaux et dont la partie 23 donne les lignes directrices pour l'EP dans les eaux de surface. Selon ladite norme, l'EP est défini comme une « *technique d'échantillonnage basée sur la diffusion d'un analyte du milieu échantillonné vers la phase réceptrice du dispositif d'échantillonnage passif à la suite d'une différence entre les potentiels chimiques de l'analyte dans les deux milieux : le flux net de l'analyte d'un milieu à l'autre se poursuit jusqu'à ce qu'un équilibre s'établisse entre les deux milieux ou jusqu'à ce que la période d'échantillonnage se termine* » (correspondant au mode intégratif). Pour ralentir l'accumulation des analytes (durée plus longue du mode intégratif), une membrane de diffusion peut être placée entre le milieu échantillonné et la phase réceptrice.

Dans le cadre de cette étude nous avons utilisés des Chemcatcher® de première génération (Figure 2.8 A).

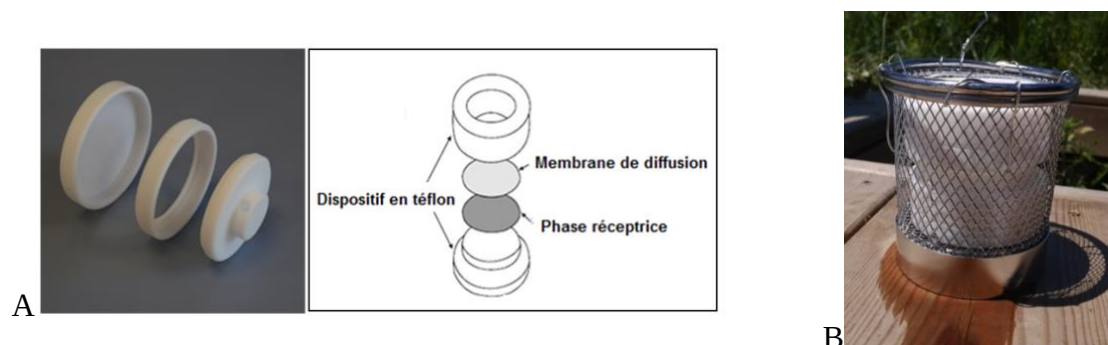


Figure 2.8. : (A) Chemcatcher® de 1^{ère} génération (Université de Portsmouth) ; (B) Dispositif installé dans les cheminées de prélèvement.

Ils sont formés d'un boîtier en téflon constitué d'un plateau de 50 mm de diamètre servant de support pour la phase réceptrice et s'il y a lieu la membrane de diffusion. Au-dessus de celui-ci est fixé un anneau qui permet de les immobiliser et de mimer un système de puits lors de leur déploiement dans le milieu naturel. La surface d'échange de chaque Chemcatcher® utilisé est de 17,5 cm². La phase réceptrice C18, de type apolaire, de chez Empores™ (Sigma Aldrich) a été sélectionnée pour son affinité avec les composés hydrophobes et a été surmontée d'une membrane de diffusion LDPE (Low Density Polyéthylène) achetées sur le site de l'Université de Portsmouth. L'ensemble constitue un montage classique de Chemcatcher® version hydrophobe pour des durées d'exposition de 3-6 semaines.

La campagne de mesure des polluants organiques a été réalisée sur 21 jours, du 27 juillet au 19 août 2016 (*cf* Figure 2.6). Quatre EPs par station ont été installés dans les cheminées de prélèvements (Figure 2.8 B) du BIA, BIS, BIC et BIN : deux CPs (C18+LDPE) (duplicat) sont exposés pendant 21 jours et deux (duplicat) EPs (C18 uniquement) sont placés à T₂, T₃, et T₄ et exposés pendant une semaine, soit 32 EPs au total.

Avant utilisation, les membranes et les phases réceptrices doivent être conditionnées. Ce conditionnement consiste à tremper les disques C18 durant une nuit (12h) dans du méthanol. Ils sont ensuite placés sur un dispositif d'extraction sous vide en veillant à ce qu'ils ne sèchent pas pour exécuter un lavage par percolation avec successivement 50 mL de méthanol puis 150 mL d'eau ultra pure. Les membranes LDPE sont trempées toute une nuit dans de l'hexane et séchées sous hotte avant utilisation. Les disques de phases réceptrices sont ensuite placés sur le dispositif Chemcatcher®, surmontée d'une membrane de diffusion si nécessaire. Les Chemcatcher® sont conservés au réfrigérateur en veillant à remplir le dispositif d'eau ultra

pure, et à le sceller grâce au capuchon adapté. Ils sont plongés dans le milieu échantillonné au temps choisi pour une durée d'une ou trois semaines.

Après récupération, les échantillonneurs doivent être traités afin d'extraire les composés accumulés sur les phases réceptrices pour leur analyse ultérieure. Les phases réceptrices et membranes sont séchées sur une rampe de filtration environ 30 minutes puis placées au congélateur. En de campagne elles ont été extraites par agitation sous ultrasons pendant 10 min dans 10 mL d'hexane, à raison de deux bains successifs. Les deux extraits d'hexane sont ensuite rassemblés puis séchés sur filtre séparateur de phase Whatman® 1PS (Sigma-Aldrich). Enfin on exécute une reconcentration à 1 mL par évaporation sous flux d'air avant analyse. Le suivi des niveaux de contamination a été effectué en calculant une masse de composés (HAP individuel ou somme de HCT) par échantillonneur.

2.7.5.3 Analyses par GC/MS et UHPLC/PFD

Les extraits d'eau et de CP sont divisés en deux volumes égaux pour doser d'une par les HAP (les 15 HAP de la liste USEPA visibles en fluorescence) par Chromatographie Liquide Ultra-Haute Performance avec Détecteur à Fluorescence Programmable en longueurs d'onde (UHPLC/PFD) et d'autre part les HCT (somme des hydrocarbures aliphatiques élués entre C₁₀ et C₄₀) par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS).

Les extraits pour analyse de HAP sont reconcentrés à sec puis repris dans 200 µL d'acétonitrile et filtrés sur filtre Chromacol, diamètre 4 mm, porosité 0,2 µm (ThermoScientific). Les HAP sont dosés en UHPLC/PFD avec un appareil Perkin Elmer Altus équipé d'un passeur d'échantillon réfrigéré à 10°C. La colonne de type phase inverse, avec une phase stationnaire C18, est une Zorbax Eclipse (Agilent, Etats-Unis) de 150 mm de longueur, 2,1mm de diamètre interne et 1,8 µm de diamètre de pores. Elle est montée avec une pré-colonne de mêmes caractéristiques exceptée sa longueur qui est de 5 mm. Le volume d'injection est de 2 µL. La pompe a un débit de 0,35 mL.min⁻¹ et l'élution est réalisée en maintenant la colonne à une température constante de 40°C, en mode gradient : 40% d'acétonitrile et 60% d'eau durant 1 minute puis passage à 100% d'acétonitrile jusqu'à 15 minutes et maintien jusqu'à 22 minutes. Puis, pour le conditionnement, passage à 40% d'acétonitrile et 60% d'eau jusqu'à 23 minutes et maintien jusqu'à 28 minutes.

La détection s'effectue par fluorescence, en mode multicanaux avec un couple longueur d'onde d'excitation (Ex) et longueur d'onde d'émission (Em) spécifique à chaque composé.

Le canal A permet de détecter le phénanthrène et l'anthracène : $E_x = 248 \text{ nm}$, $E_m = 375 \text{ nm}$ ainsi que l'indéno[1,2,3-cd]pyrène en effectuant un saut à 14 minutes : $E_x = 300 \text{ nm}$, $E_m = 466 \text{ nm}$. Le canal B détecte le naphthalène, l'acénaphthalène et le fluorène : $E_x = 270 \text{ nm}$, $E_m = 324 \text{ nm}$ puis au bout de 10 min, saut pour détecter le benzo[b]fluoranthène, le benzo[k]fluoranthène, le benzo[a]pyrène, le dibenzo[ah]anthracène et le benzo[ghi]pérylène : $E_x = 290 \text{ nm}$, $E_m = 430 \text{ nm}$. Le canal C est utilisé pour détecter le pyrène, le benzo[a]anthracène et le chrysène : $E_x = 270 \text{ nm}$, $E_m = 385 \text{ nm}$. Le canal D permet la détection du fluoranthène : $E_x = 280 \text{ nm}$, $E_m = 462 \text{ nm}$. Selon le cas, la quantification est faite à l'aide de droites d'étalonnage effectuées sur deux gammes 1-100 ng/mL et 50-1000 ng/mL, avec 5 à 7 niveaux de concentrations pour chacune. Un étalon de contrôle est injecté tous les 5 échantillons durant les séquences d'analyses. Les extraits pour analyse de HCT sont reconcentrés à 200 μL et analysés par GC/MS sur un chromatographe Autosystem XL (Perkin Elmer) interfacé avec un spectromètre de masse quadripolaire Perkin Elmer Automass. La colonne séparative est une Elite 5 MS (Perkin Elmer) de 30 m de long, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 μm d'épaisseur de phase. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à un débit constant de 1 mL/min et le four chromatographique est programmé selon le gradient de température suivant : 40°C (3 min) jusqu'à 300°C (15 min) avec une rampe de 15°C/min. L'injecteur Split/Splitless à programmation de température (PSS) fonctionne en mode « splitless » (ou sans division) avec la montée en température suivante : 50 à 250°C à 200°C/min suivi d'un isotherme de 10 min. Le volume injecté est de 1 μL . Pour la détection en spectrométrie de masse, les températures de la ligne de transfert et de la source sont respectivement de 300°C et de 250°C. L'ionisation se fait en impact électronique à 70eV. L'acquisition se fait en mode SIFI (Selected Ion Monitoring et Full Scan) en sélectionnant l'ion 71 caractéristiques des hydrocarbures aliphatiques et sur la plage de 50-450 uma.

L'ensemble du système est piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement des données « Automass ». Le dosage des hydrocarbures totaux (HCT) a été fait en utilisant un mélange gasoil/huile minérale (50/50) avec une gamme d'étalonnage à 8 niveaux allant de 0.2 à 10 mg.mL⁻¹. Le signal intégré correspond à l'UCM élué entre les temps de rétention des alcanes en C₁₀ et en C₄₀ du fragmentogramme à $m/z=71 \text{ uma}$. Un blanc est injecté en début de séquence et un étalon de contrôle est injecté tous les cinq échantillons dans une séquence d'acquisition.

2.8 Analyses écotoxicologiques

Des tests d'écotoxicologie complémentaires aux analyses chimiques ont été réalisés et adaptés afin de tester la qualité écologique des effluents lors d'une campagne déroulée sur 5 semaines (du 13 juin au 19 juillet 2016). Le premier test est le test Microtox®, c'est un outil biologique permettant d'évaluer la toxicité aiguë des effluents industriels à partir d'une bactérie luminescence. Il a été comparé au test sur *Raphanus sativus* (radis), utilisé en routine par le laboratoire pour évaluer la toxicité chronique des effluents en entrée et en sortie des Eco-filtres. Et finalement il a été testé l'outil de bioindication (HDI) développé en conditions contrôlées afin d'étudier *in situ* ses capacités de bioindication grâce à l'espèce *E. hirsutum*. Ces tests ont été comparés entre eux pour déterminer l'outil le plus pertinent dans le cadre des suivis écotoxicologiques.

2.8.1 Microtox®

Le test Microtox® (figure 2.9) est un test d'écotoxicité aquatique normalisé (AFNOR T90-320 et ISO 11348) mesurant la bioluminescence d'une bactérie unicellulaire et non pathogène nommé *Vibrio fischeri*. La souche utilisée pour ces tests correspond à une souche clonée à partir d'une bactérie marine, *V. fischeri* NRRL B-11177 conforme à la norme ISO 11348-3 dans une forme unique lyophilisée. Le principe de ce test est la mesure de la lumière produite par l'organisme *V. fischeri*. En effet, la lumière est liée au métabolisme cellulaire de l'organisme et plus précisément c'est un sous-produit de la respiration. Ainsi les modifications du fonctionnement de la bactérie provoquées par une ou des substances toxiques ou toute altération des conditions favorables à sa croissance va conduire à une diminution de l'émission de lumière. Cette diminution va permettre de calculer une EC₅₀ du polluant testé : la concentration d'une substance causant 50% d'inhibition chez les individus exposés à celle-ci.



Figure 2.9 : Appareil de mesure Microtox®

Les échantillons nécessaires à l'analyse ont été prélevés directement sur le terrain en amont (BIA) et en aval du système (à la sortie des bassins d'indication Nord, Sud et Centre). Pour chaque prélèvement, les échantillons sont contenus dans un récipient de 50 mL en verre borosilicaté (lavé à l'acide, évite l'adsorption des molécules). Il est nécessaire de remplir au maximum les récipients de façon à laisser un minimum d'air au contact de l'eau. Les échantillons ont été transportés à l'abri de la lumière entre 1 et 7°C et stockés par la suite au réfrigérateur entre 2 et 8°C. Les essais ont été réalisés dans les 48h suivant le prélèvement pour limiter les modifications de composition de l'effluent. Pour ne pas perturber les bactéries, et donc induire un biais à l'analyse, il est nécessaire de rectifier le pH des échantillons et le ramener à une valeur comprise entre 6,0 et 8,0. Cette opération n'a pas été nécessaire sur les échantillons concernés.

Lors de l'expérience, les bactéries ont été décongelées et réhydratées avec une solution de reconstitution (non saline, eau UltraPure), c'est le réactif bactérien. Elles sont mises en présence de plusieurs concentrations de l'échantillon (dans des cuvettes jetables séparées), à raison d'environ un million de bactéries dans chaque cuvette d'analyse. Il est préférable de faire des tests rapides appelés « screening test » pour connaître le degré de toxicité d'un mélange de polluants et ainsi choisir le Basic test adéquat : 45% Basic test pour une toxicité moyenne à élevée et 81,9% pour une faible toxicité (le pourcentage correspond à la proportion de solution mère testée). La mesure de luminosité a été relevée après 5, 15 et 30 minutes d'exposition bactérie/échantillon grâce à un luminomètre thermostaté (Microtox 500). Après mesure, les données ont été traitées par le logiciel MicrotoxOmni.

2.8.2 Test de germination et de croissance sur *Raphanus sativus*

Cinq essais d'un test d'écotoxicité de pollution chronique ont été réalisés en mesurant le taux de germination et le taux de croissance de radis (*Raphanus sativus*) suivant les préconisations de Laffont-Schwob *et al.* (2009) norme AFNOR X31-201 et X31-202. Cinq conditions ont été testées : une condition pour évaluer la toxicité de l'effluent brut, trois conditions pour comparer les effluents traités en sortie des Eco-filtres (Filtre Sud, Filtre Centre et Filtre Nord) et un témoin. Pour chaque condition, cinq réplicats ont été réalisés sous la forme de gobelet remplis de 15g de substrat ; le substrat utilisé est la vermiculite (substrat qui n'altère pas le pH). 10 graines de radis (marque générique Botanic®, lot n°XG395) par pot sont placées directement sur le substrat. Les graines sont réparties de manière à limiter la compétition entre elles puis les pots sont placés dans un phytotron (enceinte régulée en température, lumière et humidité) correspondant à l'environnement le plus favorable pour la croissance des radis : un apport lumineux de $0,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de 6h et 22h à 20°C et de 22h-6h à 15°C pour une humidité constante de 60%.

Suivant la condition, les pots avec la vermiculite sont arrosés avec de l'eau du robinet (témoin), un échantillon d'effluent prélevé en sortie des trois bassins d'indication des filtres plantés ou un échantillon d'effluent prélevé dans le bassin d'indication amont. Ce plan d'expérience permet de comparer les effluents en amont et en aval du système et évaluer l'efficacité épuratoire de celui-ci. Pour toutes les conditions, l'eau associée a été ajoutée jusqu'à saturation du substrat (environ 80 mL) au début de chaque test et équilibré par arrosage tous les deux jours.

Les graines germées sont dénombrées par pot tous les deux jours pendant sept jours. Au 7^e jour les individus sont récoltés et pesés pour obtenir la masse de la matière fraîche pour chaque réplicat. La masse de matière sèche des réplicats a été pesée après mise à l'étuve à 80°C jusqu'à obtention d'une masse constante.

2.8.3 Evaluation de l'espèce bioindicatrice *Epilobium hirsutum*

2.8.3.1 Design expérimental

L'espèce végétale *E. hirsutum* a été sélectionnée sur la base de travaux de recherche réalisées en conditions contrôlées. Il a été démontré que cette espèce était une bonne candidate pour évaluer la toxicité des eaux usées en situation de multipollution (Guittonny-Philippe, Masotti, et al. 2015). L'objectif de cette campagne a été d'évaluer *in situ* le potentiel d'*E. hirsutum* en tant qu'espèce bioindicatrice de l'efficacité de traitement des ZHA traitant des effluents

industriels contenant des polluants inorganiques et/ou organiques. La configuration de l'expérimentation est la suivante : des individus de cette espèce ont été placés dans le bassin d'indication en amont de la ZHA, en aval dans les bassins d'indication spécifiques à chaque filtre et finalement dans un bassin contrôle alimenté en eau potable (Figure 2.10 A). Il y a donc cinq conditions testées et pour chaque condition, trois paniers contenant cinq individus d'*E. hirsutum* sont suivis (Figure 2.10 B et C). Chaque panier mesure 45 x 18 x 15 cm (longueur x largeur x profondeur).

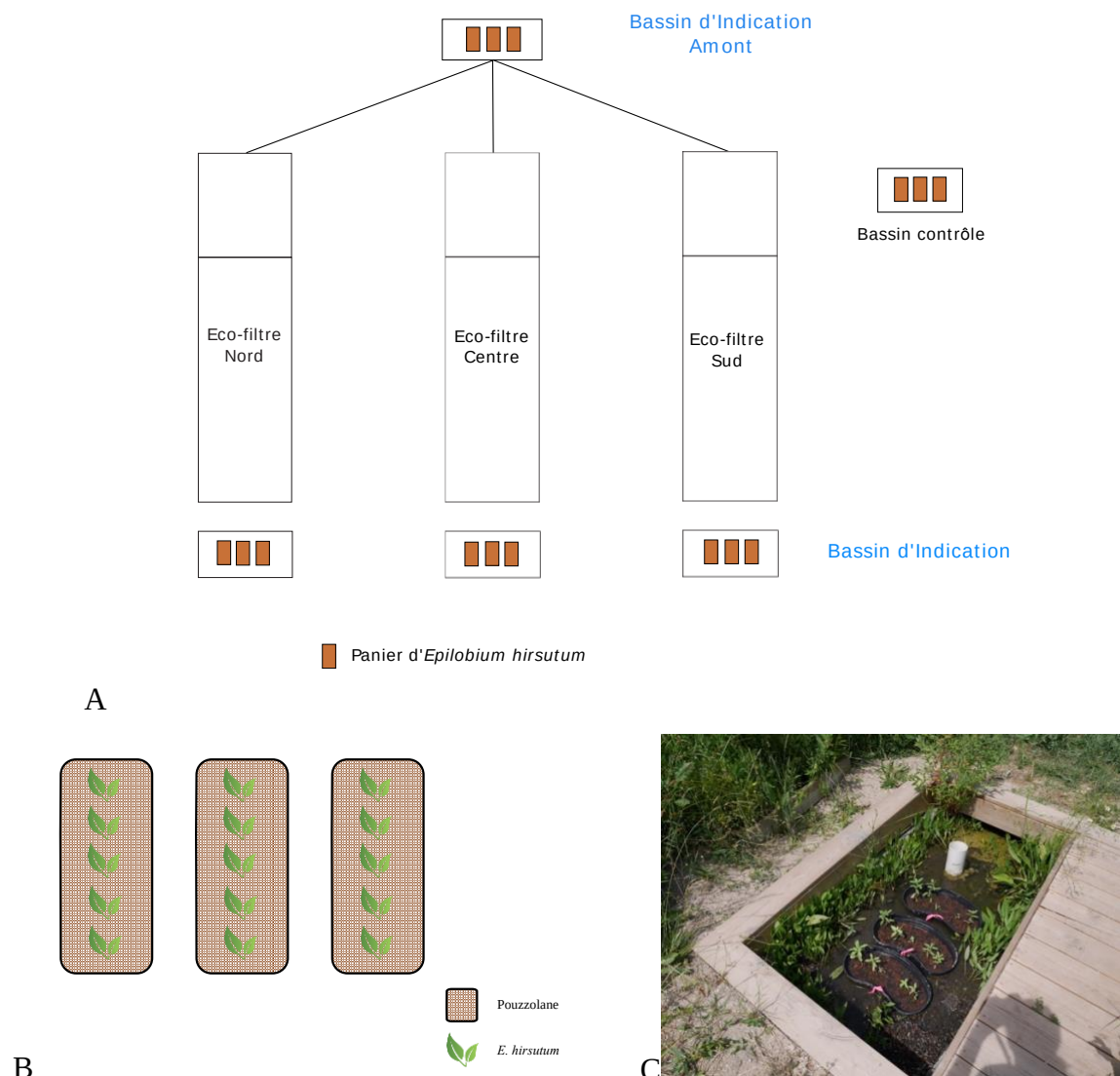


Figure 2.10 : Design expérimental (A) Schéma général agencement des paniers *in situ* (B) schéma des paniers par condition (C) Paniers installés dans le bassin d'indication de l'Eco-filtre Sud

2.8.3.2 Suivi biométrique

La hauteur des parties aériennes et le nombre de feuilles (vertes, sénescentes ou mortes) de chaque individu ont été suivis pendant cinq semaines. Les hauteurs ont été mesurées à partir de la surface du substrat et exprimées en mm. Une feuille est considérée comme sénescente lorsqu'il y a au moins trois taches nécrosées ou 1/3 de sa surface jaune ou brune (Holopainen et al. 2010). Le suivi biométrique a été réalisé toutes les semaines.

A la fin de la campagne, l'ensemble des individus a été récolté et lavé à l'eau du robinet. Chaque partie de la plante a été mesurée séparément (parties aérienne et racinaire) tout comme la biomasse fraîche, pesée séparément (parties aérienne et racinaire). Les masses de matière sèche ont été obtenues après séchage à l'étuve à 80°C pendant environ 5 jours (jusqu'à masse constante).

2.8.3.3 Suivi des biomarqueurs de stress

Un suivi non destructif de phytométabolites des parties aériennes des individus de *E. hirsutum* a été effectué à l'aide d'un instrument de mesure non destructive MULTIPLEX® 3 (FORCE-A, ORSAY, France). Cet appareil de mesure (Figure 2.11) est un fluorimètre portatif effectuant des mesures instantanées de la chlorophylle (SFR_R : Simple Fluorescence Ratio under Red excitation ; indice de chlorophylle) et de certains métabolites secondaires des couches superficielles des plantes comme les composés phénoliques : NBI_R (Nitrogen Balance Index under Red excitation) un marqueur de carence azotée. Ces paramètres sont mesurés par quatre diodes émettant dans le visibles et les ultra-violets et trois capteurs captant la lumière émise par les molécules de la couche superficielle des tissus végétaux (Rabier et al. 2014; Meyer 2003).



Figure 2.11 : Appareil portatif MULTIPLEX® 3 (FORCE-A, ORSAY, France).

Les mesures ont été réalisées *in situ* sur l'ensemble des paniers, consistant à une série de cinq flashes par individu dans le but d'obtenir un indice moyen à un temps donné pour chacun des phytométabolites suivis : chlorophylles, flavonoïdes, anthocyanes et le rapport N/C.

Des mesures ont aussi été effectuées durant cette période (cinq semaines de suivi) sur la ligne bioindicatrice longitudinale des trois filtres horizontaux (Figure 2.12). La ligne bioindicatrice a été divisée en trois gradients selon le quadrillage de la Figure 2.7 (B) installée pour les inventaires floristiques : 1^{er} gradient = ligne 1 à 3 ; 2^e gradient = ligne 4 à 6 et 3^e gradient = ligne 7 à 9. Pour chaque gradient, une série de cinq flashes a été réparties sur les individus d'*E. hirsutum* présents dans ce tronçon.



Figure 2.12 : Suivi des individus *E. hirsutum* sur la ligne bioindicatrice du FH Sud

Au temps final (T_{final}), des prélèvements de parties aériennes d'*E. hirsutum* de chaque gradient de la ligne bioindicatrice ont été effectués *in situ* pour quantifier la proline. Ce biomarqueur de stress est produit par la plante suite à des contraintes environnementales et est accumulé dans ses tissus. La détermination de la concentration de proline libre s'effectue par dosage à la ninhydrine. La ninhydrine réagit avec les acides aminés selon une suite de réactions qui permet ensuite de les doser par spectrophotométrie. En effet, à pH acide, la proline réagit avec l'acide ninhydrine pour former un chromophore rouge absorbant à 520 nm (Ábrahám et al. 2010)

Une masse de matière fraîche d'environ 200 mg de matériel végétal a été préalablement pesée puis broyée à l'azote liquide dans un mortier placé dans la glace afin de ne pas induire de stress supplémentaire (thermique notamment). De l'acide sulfosalicylique à 3% est ajouté à

un volume proportionnel à la quantité de matériel végétal ($5 \mu\text{L}.\text{mg}^{-1}$). La masse étant de 200 mg, 1 mL de cet acide est ajouté et permet la précipitation des protéines. Les échantillons sont centrifugés à 1500 g pendant cinq minutes à température ambiante pour éliminer les débris et les macromolécules. Le surnageant contenant entre autres la proline libre est ensuite récupérée.

Le dosage de proline se fait par ajout de 200 μL de surnageant d'échantillon au mélange réactionnel suivant : 200 μL d'acide sulfosalicylique, 400 μL d'acide acétique, 400 μL d'acide ninhydrine. Une gamme d'étalonnage de la proline allant de 0 à 50 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ a été réalisée. Dans ce cas, les 200 μL de surnageant d'échantillon sont remplacés par 200 μL d'étalon. Après homogénéisation dans les tubes, une incubation dans un bain thermostaté à 96°C pendant une heure permet la réaction chimique qui est alors stoppée dans la glace. Les échantillons sont extraits avec 2 mL toluène. Une phase aqueuse et une phase organique (toluène) vont alors se former. Après agitation au Vortex pendant 20 secondes, 700 μL de phase organique contenant la proline libre sont prélevés et l'absorbance est mesurée à 520 nm dans des cuves en quartz.

On exprime la concentration en proline libre en μmole de proline par gramme de masse de matière fraîche de végétal par le calcul suivant :

$$[(C_{\text{m proline}} \times V_{\text{toluène}}) \div M_{\text{proline}}] \div [m_{\text{protéine}} \div f]$$

$C_{\text{m proline}}$: exprimé en $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$, déterminé par la courbe d'étalonnage

$V_{\text{toluène}}$: volume de toluène en mL

M_{proline} : masse molaire de la proline en $\mu\text{g}.\mu\text{mol}^{-1}$

$m_{\text{protéine}}$: masse de protéine en g contenue dans d'échantillon

f : facteur de dilution (200 μL d'échantillon prélevé dans un volume total de 1000 μL)

2.9 Evaluation du temps de séjour des effluents au sein des Eco-filtres

2.9.1 Choix du traceur

L'évaluation du temps de séjour des effluents dans les Eco-filtres a été réalisée sur 12 jours ; du 12 au 23 juin 2017 (Figure 2.6). Le traceur sélectionné pour cette campagne est le bromure de sodium. En effet, ce traceur est inerte car il n'est pas consommé par les bactéries, il n'intervient pas dans les réactions d'oxydoréduction et il est présent naturellement dans les ZHA (Headley et Kadlec 2007). Ainsi il ne perturbera que très peu le fonctionnement des EF. La concentration naturellement de fond dans les trois EF a été mesurée pour la déduire des concentrations en sortie du système respectivement à chaque filtre. Lors de la campagne de suivi, il a été injecté dans chaque Eco-filtre 50 g de bromure de sodium ($\text{EC}_{50} = 5800 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$).

Pour ce faire, les 50 g ont été mélangés à 10 L de bâchée (pour maintenir la stabilité chimique des Eco-filtres) et injectés directement au moment de la bâchée dans le but de limiter les effets d'affaissement liées aux différences de densité (García et al. 2004). À l'issue de la campagne, un bilan massique a été effectué pour valider le suivi et une estimation de l'évapotranspiration (ETPMON) a été déduite (sources MétéoFrance, station météo de Marignane n°13054001) des volumes de chaque Eco-filtre.

2.9.2 Quantification par HPIC

L'analyse des anions de bromure (Br^-) a été réalisée par chromatographie ionique haute performance suivant la méthode EN ISO 10304-2 :1996 sur un système ICS3000 (Dionex, USA) piloté par la logiciel Chromeleon® v6.80. Le système était équipé d'une colonne de garde (Dionex AG11-HC) suivie d'une colonne séparative Dionex AS11-HC (4×250 mm), d'un détecteur conductimétrique (Dionex CD-25) et d'une boucle de 200 μL montée sur une électrovanne d'injection. Les analyses ont été réalisées en mode gradient (10 mM NaOH de 0 à 10 min; montée en 1 min à 37,5 mM NaOH; palier à 37,5 mM de 11 à 20 min). Le débit d'éluant a été fixé à 1,5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et l'ensemble du système a été thermorégulé à 30°C. Pour améliorer le rapport signal/bruit lors de la mesure de la conductivité, un suppresseur électrochimique (ACRS 500 4 mm) a été ajouté au système analytique.

2.9.3 Analyse des résultats

Pour traiter les résultats expérimentaux du test de traçage à débit constant Q et intervalles de temps constants Δt , l'étude repose sur une élaboration statistique de la distribution du temps de séjour. On peut définir plusieurs grandeurs :

Le moment d'ordre zéro : $\mu_0 = \Delta t \cdot \sum_{i=1}^{i=n} C_i$

Le moment d'ordre 1 : $\mu_1 = \Delta t \cdot \sum_{i=1}^{i=n} t_i \cdot C_i$

Le moment d'ordre 2 : $\mu_2 = \Delta t \cdot \sum_{i=1}^{i=n} t_i^2 \cdot C_i$

C_i correspond à la concentration du traceur en sortie du réacteur au temps t_i (g/m^3) et n correspond au nombre de points expérimentaux relevés sur la courbe de Distribution des Temps de Séjour (DTS).

La fonction de distribution des temps de séjour : $E(t_i) = C_i/\mu_0$ est calculé à partir de la courbe de DTS, c'est une description mathématique représentant la fraction des molécules dont le temps de séjour est inférieur à t (Levenspiel 1999).

Pour chaque Eco-filtre, le temps de séjour moyen t_M et la variance σ^2 (h^2) ont été calculé :

$$t_M = \mu_1/\mu_0$$

$$\sigma^2 = \frac{\mu_2}{\mu_0} - (\mu_1/\mu_0)^2$$

La variance caractérise l'étalement de la distribution autour de la moyenne : c'est un paramètre permettant d'évaluer la performance hydraulique.

Le nombre de mélangeurs en cascade j peut être déterminé expérimentalement à partir du temps de séjour moyen t_M et de la variance σ^2 grâce à la relation :

$$j = (t_M)^2/\sigma^2$$

2.10 Traitements statistiques des données

La normalité n'étant pas vérifiée (test de Shapiro-Wilk et test de Levene) pour l'ensemble des paramètres, des tests non paramétriques ont été réalisés pour le traitement statistiques des données à l'aide du logiciel JMP® Pro 12 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Les échantillons ont été considérés comme étant indépendants.

Les comparaisons de moyennes ont été réalisées à l'aide du test de Wilcoxon testant l'hypothèses selon laquelle les deux moyennes sont égales (Hollander et Wolfe, 1973). Ce test a utilisé dans le cadre de comparaisons multiples de moyennes. Lorsque les résultats du test indiquaient qu'au moins une des moyennes différait des autres, le test post hoc de Dunn (Dunn, 1964) a été réalisé. Pour chaque test les p-value ont été spécifiées dans le titre des figures et des tableaux. Les représentations graphiques ont été réalisées suite aux tests statistiques sur le logiciel Microsoft® Excel version 15.37.

Pour les inventaires floristiques des indices de biodiversité ont été calculés en utilisant la fonction « DiversitySampler » du package ade4 sous R version 3.3.1. (R Core Team, 2016) et notamment la richesse spécifique correspondant au nombre d'espèces végétales dans chaque EF et l'indice de Shannon (formule correspondant à la partie 2.4).

Deux types d'analyses multivariées ont été réalisés sur les paramètres physico-chimique, les éléments majeurs dissous et les concentrations en ETMM dissous, particulaires, la DCO, les MES, le nitrate, le phosphate et l'azote total.

L'analyse en composante principale (ACP) est une méthode de représentations d'individus par rapport à un ensemble de variables qui permet de décrire un jeu de données à plusieurs variables et d'en déduire la dimensionnalité (Mardia et al., 1979). L'ACP a été réalisée sur deux lots de données en 2015 et 2016 sur les paramètres physico-chimique et les éléments majeurs dissous pour mettre en évidence les liaisons entre les individus et la variabilité existant entre les différents prélèvements. Les représentations des cercles de corrélations de l'année 2016 ont été réalisées à l'aide du logiciel JMP® Pro 12. Les représentations de 2015 ont été réalisés sous R version 3.2.4 (R Core Team, 2016) et Factoextra (version 1.0.3 ; Kassambara et Munt, 2016).

Une analyse discriminante est un outil, principalement graphique, utilisé pour déterminer les variables qui permettent de discriminer deux ou plusieurs groupes (Tabachnick et Fidell, 2007). Une analyse discriminante a été réalisée sur les paramètres physico-chimiques obtenus lors de la campagne d'évaluation de l'efficacité épuratoire. Une deuxième analyse a été effectuée sur les concentrations ETMM dissous et particulaires ainsi que la DCO, les MES, le nitrate, le phosphate et l'azote total. Les données manquantes pour ces analyses (*e.g.* des teneurs en ETM particulaires inférieurs à la limite de détection) n'ont pas été prises en compte pour ne pas biaiser les résultats. Les représentations graphiques et les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel JMP® Pro 12.

Partie 3

Chapitre 1 :

Changement d'échelle et mise en activité des Eco-filtres

L'étude en microcosmes précédemment réalisée au laboratoire a été conçue dans le but d'éprouver la validité des théories sur la tolérance et les capacités de bioindication, de phytostimulation et de phytoaccumulation d'écotypes de macrophytes prélevés à proximité directe des rejets industriels. Ainsi, cette étude a permis de démontrer que des macrophytes autochtones sélectionnées à proximité des rejets d'eaux usées industrielles avaient un fort potentiel pour la phytoépuration ou la bioindication de contaminants inorganiques (ETMM) et organiques (HAP et HCT) (Guittonny-Philippe, 2014). Cependant, les microcosmes et mésocosmes manquent généralement de représentativité vis à vis de la complexité des écosystèmes, de sorte que des paramètres tels que les échanges air/eau, sédiments/eau et les interactions entre organismes ne peuvent pas toujours être pris en compte (Schindler, 1998). Le passage à un essai pilote est souvent l'étape nécessaire pour valider les expérimentations menées en conditions contrôlées ou semi-contrôlées. C'est l'approche que nous nous sommes fixé pour évaluer les cinq hélophytes sélectionnées, soumises à des effluents industriels pré-traités.

Toutefois, un changement d'échelle peut présenter quelques verrous, par exemple un dimensionnement inapproprié, une colonisation par une faune/flore pouvant perturber les suivis, un suivi dans le temps trop court, des facteurs environnementaux non mesurés perturbant les suivis, etc ... De plus, la conception de ZHA à moyenne et grande échelle nécessite généralement une approche multidisciplinaire, intégrant des connaissances en sciences biologiques et écologiques, en chimie de l'eau, en architecture paysagère, en ingénierie hydrologique et en hydraulique des flux (Persson et Wittgren, 2003). Le passage de l'échelle du laboratoire à l'échelle de site-pilote a été réalisé en partenariat avec le bureau d'études BlueSET, expert en phytoépuration, intervenant sur le secteur méditerranéen.

Il y a deux types de variabilité structurelle à prendre en compte pour la compréhension du fonctionnement et la conception d'une ZHA. Il s'agit tout d'abord de la variabilité intra-système, elle comprend des changements saisonniers, stochastiques, et au fil des années (variations dans les communautés floristiques, charges hydrauliques ou des conditions météorologiques). D'autre part, il existe une variabilité inter-système lorsque plusieurs ZHA sont comparables (dimensionnement de départ identique et traitement des mêmes effluents). Les causes de cette dernière variation peuvent être liées à plusieurs facteurs tels que les espèces végétales, la configuration du système et les micro-conditions environnementales (Kadlec et Wallace, 2008). Afin de pouvoir étudier en conditions réelles les cinq hélophytes sélectionnées, et valider les outils développés en conditions contrôlées, il est donc

indispensable de considérer ces différents types de variabilité structurelle, pouvant être présentes au sein (ou entre) les ZHA étudiées.

La persistance des individus des cinq espèces végétales installées a été évaluée *in situ* pour déterminer leur capacité de résilience face aux contraintes biotiques et abiotiques. Un des facteurs pouvant altérer la persistance des plantes dans les ZHA est celui lié à la compétition interspécifique. Cela se révèle notamment dans l'accès à la ressource lumineuse pour leur croissance, compétition ne se manifestant pas dans les microcosmes selon Brisson et Chazarenc (2009). En conditions réelles, nous pouvons également nous attendre à des interactions (compétitions ou facilitations) entre les espèces sélectionnées et des espèces exogènes colonisant le milieu. C'est pourquoi des inventaires floristiques ont été menés sur les trois Eco-filtres (EF) construits *in situ* et ont permis de déterminer les dynamiques d'installation d'espèces adventives au cours des trois années de suivi.

3.1.1 Variabilité Structurelle des Eco-filtres

L'analyse bibliographique a mis en évidence de fortes fluctuations en termes de conception et de dimensionnement des ZHA (Vymazal, 2009) dont les caractéristiques restent inféodées aux sites sur lesquels elles sont installées. Il est donc difficile de comparer ces systèmes entre eux. Dans le cas des EF, ils ont été conçus et construits comme des répliqués et sont alimentés par les mêmes effluents. Or, pour comparer l'efficacité de systèmes soumis à différentes conditions, il est important de déterminer si la variabilité structurelle des EF est négligeable face aux modifications de fonctionnements au sein des EF, et donc des différences d'assainissements de l'effluent que peuvent générer ces différentes conditions.

Durant les trois ans de suivis, des mesures physiques ont été réalisées dans le but d'identifier les différences structurelles existant entre les EF, tels que des hauteurs du niveau d'eau dans les EF, des mesures de débit à l'entrée et sortie des ouvrages, et une évaluation de la Distribution du Temps de Séjour (DTS).

3.1.1.1 Dimensionnement et caractéristiques physiques des EF

À partir des publications scientifiques internationales (*c.f.* analyse bibliographique, tableau 1.3), les études sur la phytoépuration regroupent un ensemble d'expérimentations à différentes échelles. Les méthodes de prélèvement, le fonctionnement, le dimensionnement, les analyses et les données issues des publications sont très hétérogènes et ne permettent pas la généralisation d'un système universel. De plus, les expériences en microcosmes à petite

échelle utilisant seulement quelques espèces et évoluant dans des conditions contrôlées sont souvent simplistes et n'englobent pas la complexité d'un écosystème réel. Ainsi le changement d'échelle du microcosme au site pilote est complexe. S'ajoute à cela que dans le cas d'expérimentations menées à l'échelle de pilote dans des conditions réelles, il est souvent difficile de reproduire des systèmes sous forme de répliat (De Szalay et al., 1996). Ainsi, suite à la construction des EF, des mesures ont été effectuées pour connaître les dimensions réelles des systèmes par rapport à celles théoriques. Chaque compartiment des systèmes a été mesuré et représenté dans la Figure 3.1.1. ci-dessous :

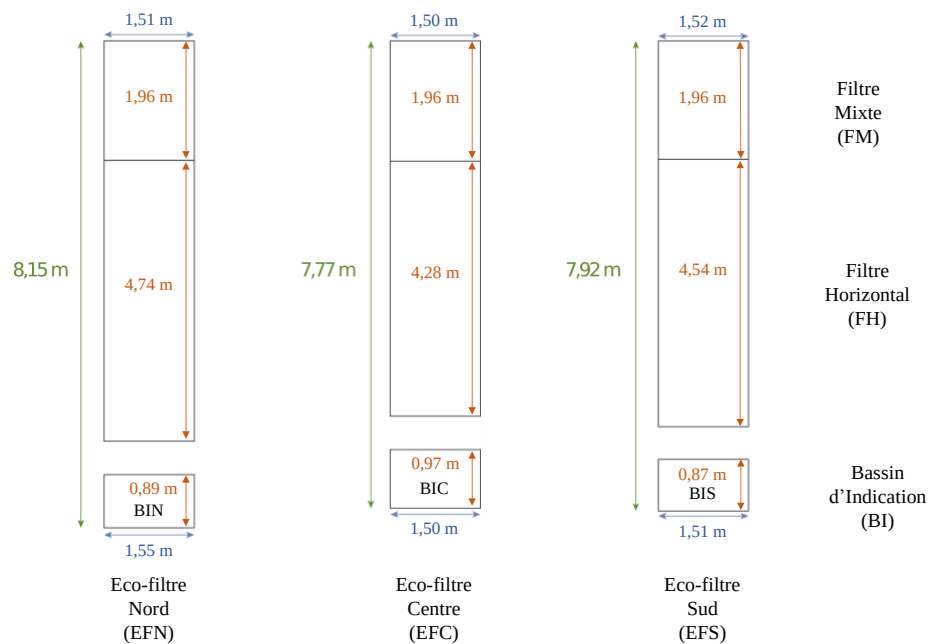


Figure 3.1.1 : Représentation schématique des trois EF en vue aérienne avec leurs dimensions réelles.

Les EF présentent des variations dans les dimensions : l'Eco-filtre Nord (EFN) est légèrement plus grand (8,15 m) que les autres EF, il est suivi par le Eco-filtre Sud (EFS) (7,92 m) et finalement l'Eco-filtre Centre (EFC) (7,77 m). Notre questionnaire a donc été de savoir si ces écarts pouvaient engendrer des fonctionnements différents au sein des EF, notamment des modifications de la DTS (c.f. 3.1.1.3).

En conditions contrôlées, l'étude a été réalisée dans des systèmes de petite taille ayant pour volume exactement $0,036 \text{ m}^3$. Pour chaque Eco-filtre, nous avons un volume, calculé à partir des dimensions de chaque Eco-filtre, de :

- Sud : $7,064 \text{ m}^3$ un changement d'échelle équivalent à 198 x.
- Centre : $7,878 \text{ m}^3$ un changement d'échelle équivalent à 221 x.
- Nord : $8,336 \text{ m}^3$ un changement d'échelle équivalent à 234 x.

Notre hypothèse de départ est que les variations de taille entre Eco-filtres dues au terrassement et à l'installation des structures en bois et des géotextiles et géomembranes sur le terrain par la société BlueSET n'entraînent pas de variations significatives en terme de fonctionnement permettant d'avoir trois vrais réplicats.

Les cheminées de prélèvement qui ont permis de faire des prélèvements chimiques, physiques et biologiques sont présentées dans la Figure 3.1.2.

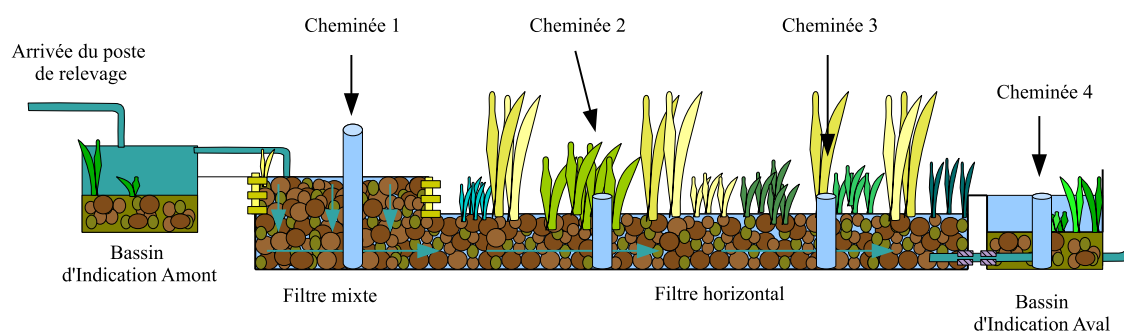


Figure 3.1.2 : Représentation schématique d'une coupe longitudinale d'un Eco-filtre et des quatre cheminées de prélèvements.

Les hauteurs de la lame d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre ont été mesurées en 2015 et 2016 et sont présentées dans le Tableau 3.1.1. Les filtres ont été construits en 2014, ces mesures ont donc été effectuées à minima un an et demi après leur mise en route.

Tableau 3.1.1 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) en 2016. Dans une même colonne, une lettre (a et/ou b et/ou c) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn). Une * indique une différence significative de valeur entre 2015 et 2016 pour une même cheminée ($p \leq 0,05$, test de Dunn).

Date	Filtre	Hauteur de l'eau dans les cheminées de prélèvement (cm)			
		1	2	3	4
2015	EFS	41 ± 0,6a	43 ± 0,5a	46 ± 0,4c	45 ± 0,7a
	EFC	39 ± 0,6ab	43 ± 0,6a	49 ± 0,2b	49 ± 1,2a
	EFN	38 ± 0,3b	42 ± 0,3a	51 ± 0,3a	45 ± 0,7a
2016	EFS	41 ± 0,4a	44 ± 0,3a	47 ± 0,2b	45 ± 0,5b
	EFC	40 ± 0,5a	44 ± 0,3a	50 ± 0,1a	50 ± 0,3a
	EFN	32 ± 0,8b*	35 ± 0,8b*	44 ± 0,8c*	40 ± 1c*

En 2015 (Tableau 3.1.1), EFS et EFN présentent des hauteurs d'eau significativement différentes au niveau de la cheminée 1 et au niveau de la cheminée 3, les trois Eco-filtres sont significativement différents. L'EFN est légèrement moins profond en cheminée 1 que l'EFS contrairement à la cheminée 3 où l'EFN présente une hauteur d'eau plus importante que l'EFS et l'EFC. D'autre part, pour les cheminées 2 et 4 aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les cheminées des trois Eco-filtres. Au vu de ces résultats, il semble qu'il n'y ait pas de régularité dans la pente de l'EFN. En effet la cheminée 3 présente une hauteur d'eau plus importante que la cheminée 4. Un affaissement du FH pourrait expliquer cette augmentation de la hauteur de l'eau. La nappe phréatique, affleurante une grande partie de l'année, a certainement creusé le FH et ainsi modifié la profondeur du géotextile et de la bâche. Il est admis que la distance entre une ZHA et la nappe phréatique doit être à minima environ 1 m de sol insaturé (Kadlec et Wallace, 2008) pour limiter les infiltrations d'eau usées en cas de fuite du système et/ou soulèvement des ouvrages. Cette prescription technique est mentionnée dans l'arrêté du 7 septembre 2009 fixant les prescriptions techniques applicables aux installations d'assainissement non collectif recevant une charge brute de pollution organique inférieure ou égale à $1,2 \text{ kg.j}^{-1}$ de DBO₅.

Ainsi, il a été constaté que l'EFN était soumis à l'incidence du contact avec la nappe phréatique.

Ce suivi de hauteur de la lame d'eau a été réitéré en 2016 et les résultats sont présentés dans le tableau 3.1.1. : en 2016, l'EFN est significativement différent des EFS et EFC pour toutes les cheminées. Aucune différence significative n'a été relevée pour les cheminées 1 et 2 au niveau de l'EFS et de l'EFC. En revanche une différence a été mesurée pour les cheminées 3 (déjà observée en 2015) et 4, la hauteur d'eau dans l'EFC est significativement plus élevée que celle dans l'EFS.

Les résultats obtenus pour la campagne de mesures de 2016 laissent penser que les variations se sont accentuées dans l'EFN. Pour valider cette hypothèse, l'évolution de la hauteur d'eau dans les cheminées de chaque Eco-filtre entre 2015 et 2016 a été comparée (Tableau 3.1.1).

Entre les deux dates, il n'y a pas de différences significatives pour l'EFS et l'EFC sauf pour la cheminée 3 (la hauteur d'eau augmente significativement pour EFC au cours du temps). La hauteur d'eau est donc à peu près stable entre les deux dates alors qu'une réduction significative de la hauteur d'eau est identifiée dans le filtre Nord. Pour chaque cheminée de l'EFN, la hauteur d'eau a diminué au minimum de 5 cm. L'apport en eau ayant été augmenté au cours de l'année 2016, cette diminution du niveau d'eau dans l'EFN pourrait être

expliquée par la présence d'une fuite au niveau du système. De plus, lors des campagnes de mesures de 2016, la théorie de la fuite a été déjà soulevée en observant les coudes de sortie des effluents à la fin du système de traitement. Ces coudes de sortie, appelés « structure de contrôle hydraulique » contrôlent la profondeur de l'eau dans les EF. Plus ils seront hauts, plus le niveau de l'eau dans les EF sera élevé. En 2016, le niveau de l'eau dans le coude de l'EFN était en-dessous de la limite supérieure ce qui suggérait une fuite. L'analyse des hauteurs d'eau dans les cheminées de prélèvement a pu donc confirmer cette observation effectuée sur le terrain.

De plus, en 2015, la bâche s'est affaissée augmentant certainement les effets de bordures autour des EF. Des travaux ont donc été menés à la fin de l'année 2015 pour installer une structure en bois permettant le maintien structurel des EF. Suite à cette intervention, cet affaissement de la bâche n'a plus été constaté. Cependant, les variations de hauteur d'eau et les affaissements de bâche ont pu impacter le fonctionnement des EF.

Face au constat d'une différence structurelle entre les EF, une étude bibliographique a été menée pour réajuster le protocole expérimental de suivi des EF. Il existe quelques études dans la littérature menées côte-à-côte (« side-by-side ») pour déterminer les effets possibles du type de végétation, de la taille du substrat et d'autres facteurs. En général, ces études concernent plutôt des mésocosmes, et n'impliquent pas de réplicat en raison des dépenses occasionnées par la construction de filtres supplémentaires et par le suivi plus conséquent (Kadlec et Wallace, 2008). Il en ressort que les ZHA de même taille et de type identique fonctionnent de manière similaire si elles reçoivent des quantités et des concentrations d'eau identiques. Ainsi nous avons décidé de suivre les trois EF en parallèle et d'identifier les effets de ces différences structurelles sur leur fonctionnement et leur performance à partir de 2016.

De plus, la structure des ZHA peut évoluer au cours du temps et/ou subir des dommages non prévisibles (*e.g.* faune) pouvant impacter les performances épuratoires. Ainsi nous avons établi un protocole de suivi incluant des contrôles périodiques afin de mettre en évidence d'éventuels dysfonctionnements et de mettre en œuvre des travaux si nécessaire et le plus rapidement possible.

3.1.1.2 Modulation de l'alimentation en eau

Le schéma hydraulique à l'entrée des systèmes d'épuration par filtres plantés est conditionné par le débit, la pente et par le type d'hydropériode sélectionné lors du dimensionnement

(Zhang et al. 2012). Lors de la conception des trois EF, le type d'hydropériode sélectionné est une alimentation par bâchée, motivé par l'amélioration de l'épuration des ETMM et MPO par rapport à un régime en continu précédemment démontrée (Sinicrope et al., 1992 ; Wang et al., 2017).

En mars 2014, une différence d'alimentation en eau a été identifiée entre les trois EF, due à une modification structurelle du regard de dispersion (affaissement). Ce problème de fonctionnement est devenu une opportunité pour évaluer les effets d'apports différenciés en effluents sur le fonctionnement des EF. Les différences d'apport entre les EF ont été quantifiées grâce à la mesure des débits en entrée des filtres. L'évolution de l'alimentation en eau entre 2015 et 2017 est ainsi présentée dans le tableau 3.1.2. En décembre 2015 des travaux ont été entrepris pour rééquilibrer le débit entre les trois EC (*cf* Figure 2.6). Entre 2016 et 2017, l'alimentation en eau journalière est à peu près stable, seul l'EFN est légèrement plus élevé.

Tableau 3.1.2 : Evolution de l'apport journalier en effluent pour les trois EF, en litre et en pourcentage de bâchée, par rapport à une alimentation normale de 1000 L.jour⁻¹.

Filtre	Volume de l'apport en effluent (L) et proportion de bâchée (%)		
	2015	2016	2017
EFS	1230 (+23%)	900 (-10%)	960 (-4%)
EFC	1080 (+8%)	900 (-10%)	930 (-7%)
EFN	690 (-31%)	1170 (+17%)	1110 (11%)

Ainsi en 2015, les hauteurs d'eau sont similaires et seule la charge hydrique est légèrement différente entre les trois systèmes. Les EF ont été dimensionnés pour traiter 1 m³/jour, or des variations de l'apport en eau peuvent occasionner des différences de fonctionnement des écosystèmes (Wong et al., 1999) et impacter l'efficacité du traitement des eaux usées (Persson et Wittgren, 2003). Dans un contexte de changement climatique modifiant le cycle hydrologique global, l'alimentation en eau des EF par le bassin versant peut être compromise de plusieurs manières (*cf.* partie 3 chapitre 2). En 2016 et 2017, l'EFS et l'EFC ont un apport en effluent similaires, mais différent de celui d'EFN.

L'alimentation en eau des ZHA est très variable et déterminée en fonction de la composition en polluants de l'effluent, leurs concentrations et des volumes à traiter quotidiennement. Ainsi il est souvent difficile de comparer des systèmes traitant des polluants différents (exemple traitement des nutriments et des métaux). Les ZHA nécessitent généralement un faible taux de charge hydraulique et un long TRH pour éliminer efficacement les polluants (Lin et al., 2005). Parmi les travaux sur les ZHA, le système étudié par Hadad et al. (2006) est proche en termes de fonctionnement des trois EF étudiés au cours de la thèse : la charge hydraulique est de $1 \text{ m}^3 \cdot \text{jour}^{-1}$ pour un filtre mesurant 6 m de long pour 3 m de large. Mais les contaminants traités ne sont pas identiques. Ainsi il apparaît difficile de pouvoir se référer à des travaux antérieurs pour discuter les résultats obtenus dans les 3 EF.

3.1.1.3 TRH : évaluation du temps de rétention après 42 mois d'activité

L'évolution des concentrations en bromure (Br^-) durant les 12 jours de suivi lors la campagne de détermination de temps de séjour moyen dans les 3 EF est présentée dans la Figure 3.1.3 par les courbes de Distribution de Temps de Séjour (DTS) ; les valeurs des paramètres définissant le comportement hydraulique des trois EF est indiqué dans le Tableau 3.1.3

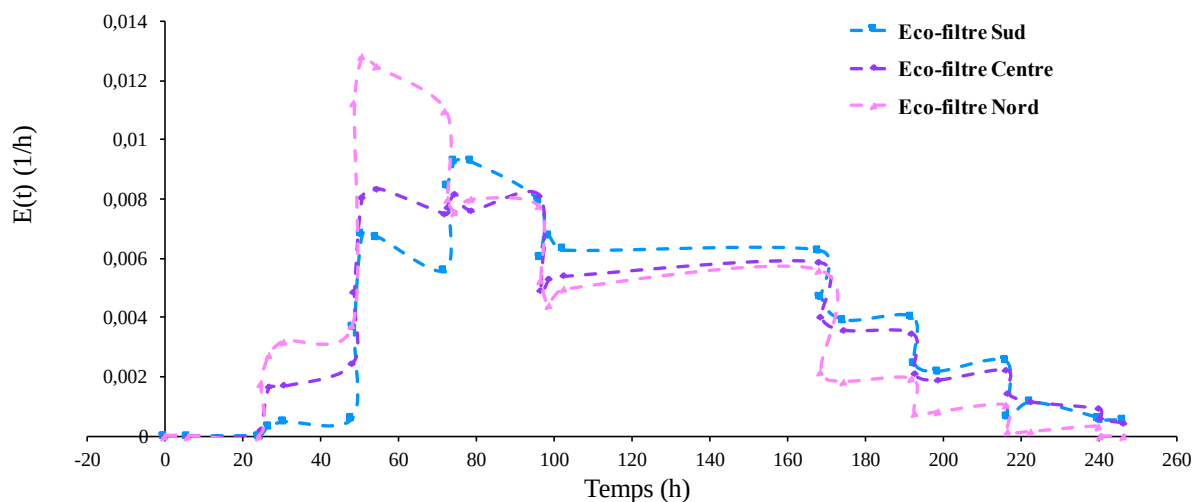


Figure 3.1.3 : Évolution en fonction du temps de séjour $E(t)$ du bromure modélisée à partir des concentrations de bromure mesurées en sortie des trois EF.

Tableau 3.1.3 : Valeurs des paramètres définissant le comportement hydraulique des trois EF : TRHt : Temps de Rétention Hydraulique théorique basé sur les dimensions des filtres au moment de la construction exprimé en jours ; t_M : Temps de séjour moyen exprimé en heures ; σ^2 : étalement de la distribution autour de la moyenne (h^2) et j : nombre de mélangeurs en cascade calculé à partir d'une simplification de l'équation de Levenspiel.

	Eco-filtre Sud	Eco-filtre Centre	Eco-filtre Nord
TRHt (jours)	2,4	2,3	2,7
$t_M(h)$	138,8	133,3	115,2
$\sigma^2 (h^2)$	2542,2	3003,1	2704,3
J (n°réacteurs)	10	7	6
Bilan massique (%)	85,7	98,7	81,9

Pour valider le test de traçage, le bilan massique à l'issue de l'expérimentation doit être supérieur à 80%. En-dessous de ce seuil, le test est invalide (Headley et Kadlec 2007). Dans notre étude, le bilan massique s'est avéré correct pour les trois EF (85,7 à 98,7%). À l'issue du test de traçage ($t_{\text{final}} = 246$ h), l'ensemble du traceur semble sorti de l'EFN. En effet la fonction du temps de séjour est égale à zéro (concentration en bromure nulle). Or le bilan massique est de 81,9% (Tableau 3.1.3). Ceci suggère une potentielle perte de matière. Le suivi des hauteurs d'eau dans cet EF a révélé l'existence d'une fuite suite à un abaissement du niveau d'eau trop important pour n'être que de l'évapotranspiration. Le bilan massique à l'issue de la campagne corrobore cette théorie. À T_{final} , l'EFC a pour bilan massique 98,7%, la quasi-totalité du bromure a été récupérée en sortie de système. Pour le filtre Sud, le bilan massique est plus faible, il est de l'ordre de 85,7%. La concentration à l'issue de l'expérimentation est proche de zéro, de ce fait il semble donc rester du bromure dans le système et il est possible qu'une partie du bromure soit piégé dans un « volume mort » (Bonner et al., 2017). Afin de valider cette théorie lors d'une prochaine campagne, le temps de suivi peut être allongé de quelques jours. L'EFS présente un pic de sortie en décalage, entre 80 et 100 heures, par rapport aux autres EF. Le flux hydraulique est donc visiblement ralenti. De ce fait, il est cohérent que la totalité du bromure en fin d'expérimentation ne soit pas sortie. Le pic principal des courbes DTS normalisées des trois EF n'est pas identique en fonction des EF, il est suivi de la dispersion axiale, phénomènes de mélange au sein des EF. Le pic principal de l'EFS est à 74 heures (environ 3,1 jours), pour l'EFC à 54 heures (2,3 jours) et pour l'EFN à 50 heures (2,1 jours). A noter que le pic principal est nettement plus élevé que dans les autres filtres. Ils peuvent être comparés aux TRH théoriques au moment de la

construction (Tableau 3.1.3) de l'EFS, EFC et EFN : 2,4, 2,3 et 2,7 respectivement. Suite à 42 mois d'activité, l'EFS présente une augmentation du temps de rétention expliquée par l'apport de matière organique (cycle de la végétation et dégradation des contaminants), l'EFC reste constant et l'EFN présente une diminution du temps séjour expliquée par l'existence d'une fuite de l'eau hors de l'EF.

Les fonctions de DTS (Figure 3.1.3) correspondent à un transport de l'eau en flux dispersif avec des phases de rétention illustrées par les plateaux. Les EF Sud et Centre présentent un profil de courbe identique et symétrique. Les temps de séjour moyen (t_M) sont similaires (138,8 h et 133,3 h respectivement) et plus élevé que ceux d'EFN (115,2 h) (Tableau 3.1.3). Historiquement dans la littérature, les ZHA sont présumées être des réacteurs « piston », ainsi les molécules d'eau le traversant ont le même temps de séjour (EPA, 1988). Dans ce cas, la DTS correspond donc à un temps de séjour moyen (t_M) sans dispersion autour de la moyenne c'est à dire une variance très faible. Or dans la réalité, les flux internes ne sont pas optimaux et homogènes (Werner et Kadlec 2000), se rapprochant plus d'un flux dispersif. L'EFS présente la variance la plus faible ainsi que la richesse spécifique végétale la plus élevée ($15 h^2$) et un recouvrement floristique de 100% (*c.f.* partie 3.1.4.). Ainsi la végétation facilite un écoulement homogène favorisant un comportement d'écoulement piston. Les EF Centre et Nord présente une variance plus élevée ($54,8 h^2$ et $52 h^2$ respectivement) ainsi les écoulements sont moins uniformes. Une différence de distribution et diversité des espèces ou de densité des plantes peut affecter les performances hydrauliques des ZHA (Guo et al., 2017). De plus, les plantes vont avoir un rôle majeur dans le coefficient de rugosité qui conditionne les voies d'écoulement (Chazarenc et al., 2003). L'EFC présente une surface de recouvrement de l'ordre de 100% et une richesse spécifique de 11 espèces végétales différentes de l'EFS (valeur), pouvant expliquer les différences de temps de séjour notées entre les deux EF. L'EFN présente une surface de recouvrement de 77% et une richesse spécifique végétale de 12 espèces.

Enfin, l'EFS présente également le plus grand nombre de réacteurs (8). Il est suivi par l'EFC (Tableau 3.1.3). A l'inverse, l'EFN présente le nombre de réacteurs le plus bas, soit 5. Plus le nombre de réacteurs (J) est grand, plus les flux sont uniformes entraînant une diminution des mélanges au sein des ZHA. L'EFS, de ce fait, présente le flux hydraulique le plus uniforme, à l'inverse de l'EFN ou les flux hydrauliques sont moins uniformes et peuvent engendrer des courts circuits. Les courts circuits peuvent être problématique car ils limitent l'épuration des

polluants en diminuant le temps de séjour nécessaire à leur épuration complète (Headley et Kadlec 2007).

La comparaison des critères structurels étudiés dans les EF Sud et Centre suggère qu'ils fonctionnent de manière identique. Néanmoins, certaines différences observées entre ces deux EF peuvent s'expliquer par une différence de distribution et de diversité des espèces ou de densité des macrophytes. En effet, il est maintenant admis que les ZHA diversifiées assurent une répartition homogène des systèmes racinaires et de la rhizosphère contribuant ainsi à la diminution des diamètres des pores et donc à un écoulement plus uniforme (Knowles et al., 2011). L'EFS étant légèrement plus diversifié que l'EFC, il se rapproche d'un écoulement piston. A la différence de l'EFN pour lequel les résultats issus de l'analyse des paramètres hydrauliques corroborent les analyses d'hauteur d'eau et confortent l'existence d'une fuite et une possibilité de court-circuit.

Pour valider ces hypothèses, il est nécessaire de réitérer l'expérimentation au cours de chaque saison. En effet, on peut observer des différences en fonction des périodes de mesures : en été, l'évapotranspiration des plantes sera plus importante qu'en hiver et donc augmentera les temps de séjour (Chazarenc et al., 2003).

La méta-analyse basée sur 39 articles a permis de déterminer une fourchette de TRH comprise entre 4 et 15 jours (*c.f.* analyse bibliographique 1.2.3) pour des filtres plantés observés en conditions réelles ; le TRH est lié aux dimensions de la ZHA et aux concentrations de contaminants (Headley et Kadlec 2007). Ainsi, il est difficile de les comparer entre elles. Dans notre cas, l'alimentation et la concentration en contaminants est identique entre les EF. Une différence de TRH induit un mode de fonctionnement différent dans les ZHA (Ansola et al. 2003 ; Tao et al., 2006).

Différents types de zones humides (*e.g.* la configuration des zones humides, la communauté végétale) fonctionnent différemment. Par conséquent, l'analyse comparative d'un ensemble de paramètres « universels » pour décrire les performances du traitement n'est pas réalisable (Kadlec et Wallace, 2008). Par exemple, Wolverton (1983) a testé des *Phragmites spp.* et des *Scirpus spp.* en microcosmes de type FH. Dans ce contexte, les *Phragmites spp.* ont démontré une performance épuratoire nettement supérieure à celle de *Scirpus spp.*. D'autre part, Gersberg et al. (1986) ont testé ces deux types de végétation en mésocosmes de type FH et en conditions réelles (en plein air en Californie). Contrairement à l'étude précédente, les *Scirpus*

spp. ont démontré une performance épuratoire supérieure à celle des *Phragmites spp.* De plus, une étude conduite par Liebowitz et al. (2000) a permis de tester les mêmes plantes dans un système à grande échelle à New-York et aucune différence n'a été trouvée entre les performances épuratoires de chacune des espèces. Ces analyses montrent que le changement d'échelle peut être problématique et les résultats, peu prédictibles.

Le suivi de la hauteur d'eau des structures de contrôle hydraulique et l'installation de piézomètres externes autour des ouvrages permet d'avoir une visibilité sur la variabilité des niveaux d'eau au sein de la ZHA et à l'extérieur des ouvrages (permettant de détecter rapidement une fuite). Ces précautions d'installations vont permettre d'intervenir rapidement.

L'EFN est nettement différent des autres EF ; l'analyse des hauteurs d'eau et de la DTS confirment l'existence d'une fuite. De plus, il y réside des écoulements non uniformes pouvant perturber l'épuration. FC et FS se ressemblent : quelques différences minimes dans les patrons de sortie sont certainement liées au recouvrement et à la diversité des espèces végétales.

Il est difficile de comparer notre système avec des ZHA existantes (analyse bibliographique). Les contaminants à traiter sont différents et spécifiques de chaque installation. De ce fait, les dimensions et les facteurs opérationnels sont rarement comparables.

3.1.2 Mise en fonctionnalité du filtre vertical

Le FV est la partie supérieure du filtre mixte (Figure 3.1.4). Il n'est pas saturé en eau contrairement à la partie inférieure du filtre mixte (FH, conditions anaérobies) mais présente l'avantage d'être au contact direct de l'air et favorise l'oxygénation de l'effluents (par pénétration du vent latéralement). Le FV a pour vocation de favoriser les conditions aérobies, la rétention des ETMM (par différents processus géochimiques), d'une partie des MPO non dégradables et l'initiation de la biodégradation aérobie des MPO hydrophobes retenus par sorption dans le FV (HAP et HCT). Des dysfonctionnements ont été constatés sur le site pilote et plusieurs tentatives ont été réalisées pour maintenir les caractéristiques de conception.

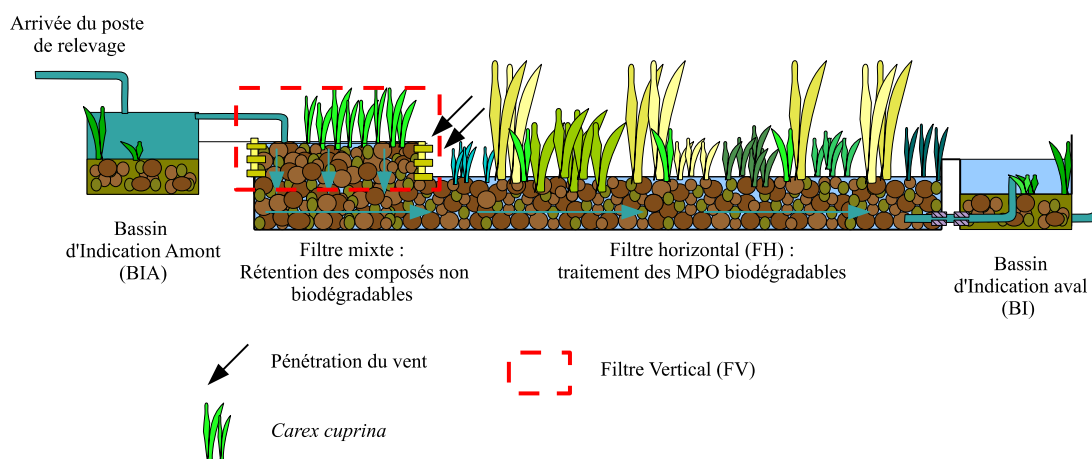


Figure 3.1.4 : Représentation schématique du filtre mixte et du filtre horizontal en coupe longitudinale

3.1.2.1 Végétalisation du FV

Le diagnostic du site d'étude effectué en amont de l'expérimentation en conditions contrôlées a qualifié *Carex cuprina* d'espèce la plus abondante en sortie des rejets d'eaux usées industriels (SAFEGE, 2009). Ainsi, lors de l'expérimentation en conditions contrôlées (Guittonny-Philippe et al., 2015), l'espèce *C. cuprina* a montré une tolérance à la multipollution (ETMM et MPO). De plus, cette espèce présente un système racinaire dense avec de nombreuses racines secondaires favorisant la rétention des ETMM dans la biomasse racinaire et stimulant le développement de communautés microbiennes anaérobies en situation de multipollution (Guittonny-Philippe, 2014). Ainsi, suite à l'expérimentation en conditions contrôlées, *C. cuprina* a été sélectionné pour être planté de façon monospécifique dans le filtre vertical au vu de ses capacités d'accumulation et de phytostimulation.

Les EF ont été construits et végétalisés en octobre 2013 (cf. Figure 2.6). Après 4 mois de fonctionnement, les individus de l'espèce *C. cuprina* plantée dans le FV étaient tous morts (Figure 3.1.5).

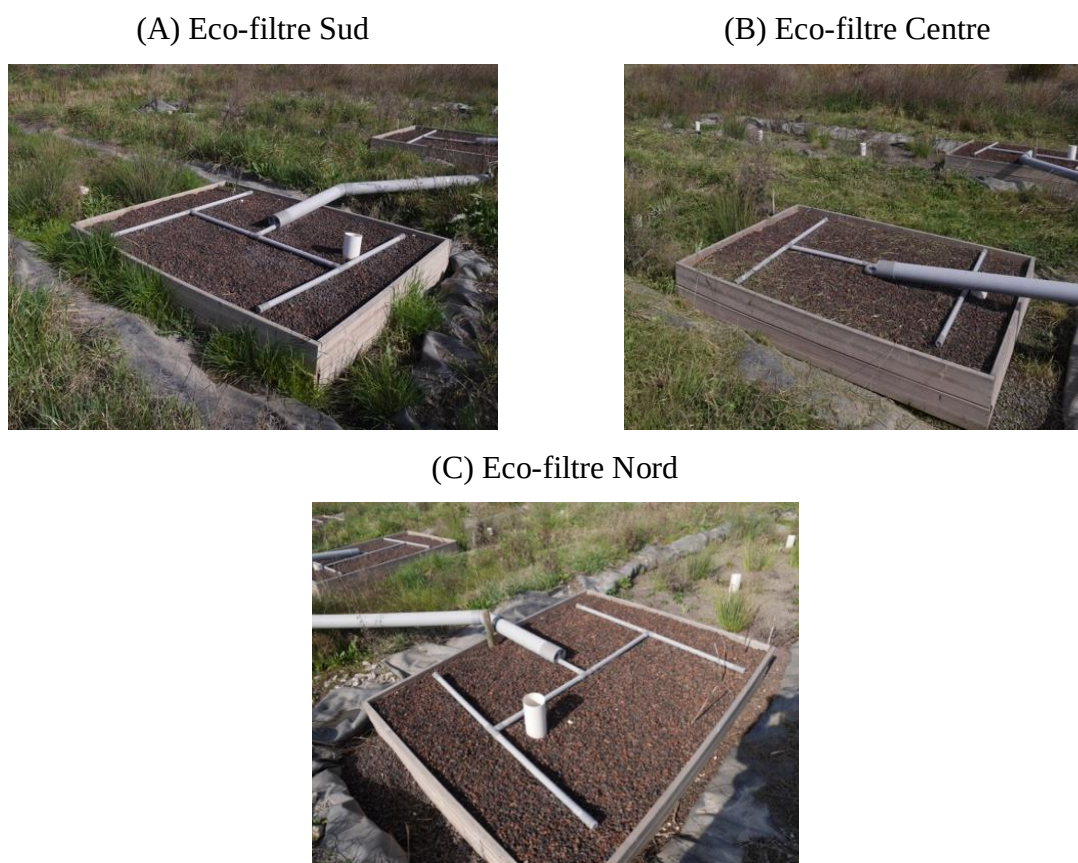


Figure 3.1.5 : Photographies des filtres verticaux des trois EF : (A) Eco-filtre Sud, (B) Eco-filtre Centre et (C) Eco-filtre Nord le 19 mars 2015.

Dans le but de remplacer les individus morts, une campagne de prélèvement a été réalisée à proximité du site d'étude suivi d'une période en serre de deux mois. Les individus récoltés ont été transplantés dans des pots profonds (environ 30 cm) dans le but de favoriser le développement en profondeur du système racinaire, en particulier la rhizosphère. Un mois après la transplantation des *C. cuprina* dans le FV (juin 2014), l'ensemble des individus étaient morts. Ainsi le FV ne fournit pas les éléments essentiels à la pérennité de l'espèce *C. cuprina*. N'étant pas saturé en eau, le FV ne semble pas retenir suffisamment d'eau pour permettre à l'espèce de croître. Suite à cette impossibilité de maintenir les espèces ciblées, le FV ne bénéficie plus de la rhizofiltration et donc ne se réfère plus à l'approche consistant à utiliser la biomasse végétale pour l'élimination des contaminants des eaux usées (Yadav, 2011) tout comme la facilitation de microorganismes capables de dégrader les MPO en anaérobie (Guittonny-Philippe 2014). Nous avons donc décidé de suivre son fonctionnement sans la végétalisation.

3.1.2.2 Propriétés du substrat du FV

Suite à la mortalité totale des individus de l'espèce *C. cuprina*, les propriétés du filtre vertical ont été modifiées. Le FV est seulement composé de pouzzolane et s'enrichit des MES de grandes tailles présentes dans l'effluent. Néanmoins malgré la perte de certaines propriétés, les propriétés abiotiques sont certainement maintenues. Comme le montrent Truu et al. (2009), des propriétés telles que la filtration physico-chimique des eaux usées (adsorption, stabilisation et précipitation), l'oxygénation des effluents par percolation à travers le substrat et le maintien d'un habitat propice au développement d'une flore microbienne peuvent être conservés. De plus, selon Dorman et al. (2009), la partie inférieure des filtres reste fonctionnelle et entraîne par exemple la précipitation des sulfures métalliques dans le FH ainsi seule la partie supérieure du filtre mixte serait touchée par la mortalité des plantes.

Pour déterminer quels sont les processus en jeu dans le filtre mixte sans l'espèce *C. cuprina*, des tests complémentaires devront être effectués : identification de la flore bactérienne (biofilm sur la pouzzolane), suivi physico-chimique, détermination et quantification des contaminants fixés sur la pouzzolane.

3.1.2.3 Alternatives à l'utilisation de *C. cuprina* en FV

Si le maintien de cultures au sein d'un FV n'est pas envisageable, il existe d'autres systèmes assurant des fonctions similaires. Les traitements des eaux usées par radeaux flottants sont des variantes innovantes des technologies d'assainissement par ZHA. Les macrophytes sont enracinés sur une structure flottante (souvent de la matière végétale flottante) placées à la surface de l'eau. Ils ont la propriété de tolérer de grandes fluctuations de niveau d'eau sans risque de mortalité (Headley et Tanner, 2008). Les racines sont directement au contact de l'eau et des polluants, le réseau racinaire filtre les particules fines pour lesquelles la sédimentation est plus lente que les particules plus grosses. Le potentiel en structures flottantes de l'espèce *Carex riparia* a été étudié en mésocosme par Ladislav et al. (2015). Ces auteurs ont observé une production de biomasse importante et un transfert de métaux de l'eau vers les racines tout comme pour *Carex cuprina* lors de notre expérimentation en conditions contrôlées (Guittonny-Philippe et al., 2015). La partie inférieure des ZHA en radeaux flottants est une zone pauvre en oxygène favorisant ainsi la précipitation des sulfures métalliques

(Borne et al., 2014). Cette partie peut donc remplacer la partie inférieure de filtre mixte des Eco-filtres. De plus, une partie des individus de *C. cuprina* pourra être éliminée annuellement pour augmenter l'efficacité épuratoire. Cette excavation doit être réalisée en rotation pour maintenir les processus microbiens associés à la biodégradation des polluants organiques (Ijaz et al. 2015). L'export de matière végétale est facilité dans ces systèmes et permet de limiter l'utilisation de la pouzzolane (substrat non renouvelable et chargé en ETMM (Guitttonny-Philippe, 2014)) ainsi que de prolonger la durée de vie du filtre.

Cependant, avant toutes installations sur le site pilote, les radeaux flottants devront être testés en mésocosmes avec l'espèce *Carex cuprina* puis en conditions réelles dans un contexte méditerranéen.

Notre conception du filtre mixte ne permet pas la végétalisation du filtre vertical par l'espèce C. cuprina. Les fonctions abiotiques du filtre vertical sont probablement maintenues (c.f. partie caractéristique physico-chimique de l'eau) et peuvent agir sur la rétention des ETMM et HCT. Par ailleurs, le traitement par radeaux flottants peut être une alternative au filtre mixte dans un contexte méditerranéen.

3.1.3 Caractéristiques physico-chimiques de l'eau : comparaison entre les Eco-filtres

L'étude des caractéristiques physico-chimiques de l'eau a été conduite en deux temps : un suivi annuel (mesure à chaque saison) en 2015 et 2016 et un suivi sur un mois traité dans le chapitre 3 (c.f. Figure 2.6). Compte tenu du fait qu'en 2015, les EF étaient alimentés en eau différemment, ces résultats seront traités dans le chapitre 2.

Dans un premier temps, nous étudions l'évolution de la température dans les EF grâce aux sondes enregistrant des mesures toutes les heures dans les cheminées de prélèvement. Puis, l'étude de l'évolution des conditions physico-chimiques et des éléments nutritifs est traitée.

Les conditions physico-chimiques de l'eau sont liées à la composition des effluents industriels prétraités comme la présence de nombreux composés sous forme ioniques. La lecture de la conductivité donne une visibilité quant à la teneur en ions dans l'eau (Kar et al. 2008). Ainsi les processus d'épuration des contaminants sont liés aux conditions physico-chimiques de l'eau.

3.1.3.1 Température

Les évolutions de la température moyenne journalière de l'eau (°C) mesurées dans les cheminées de prélèvements des Eco-filtres sur la période de août 2016 à avril 2017 (soit 9 mois de suivi) lorsque l'alimentation en eau est identique entre les trois EF sont présentées dans la figure 3.1.6.

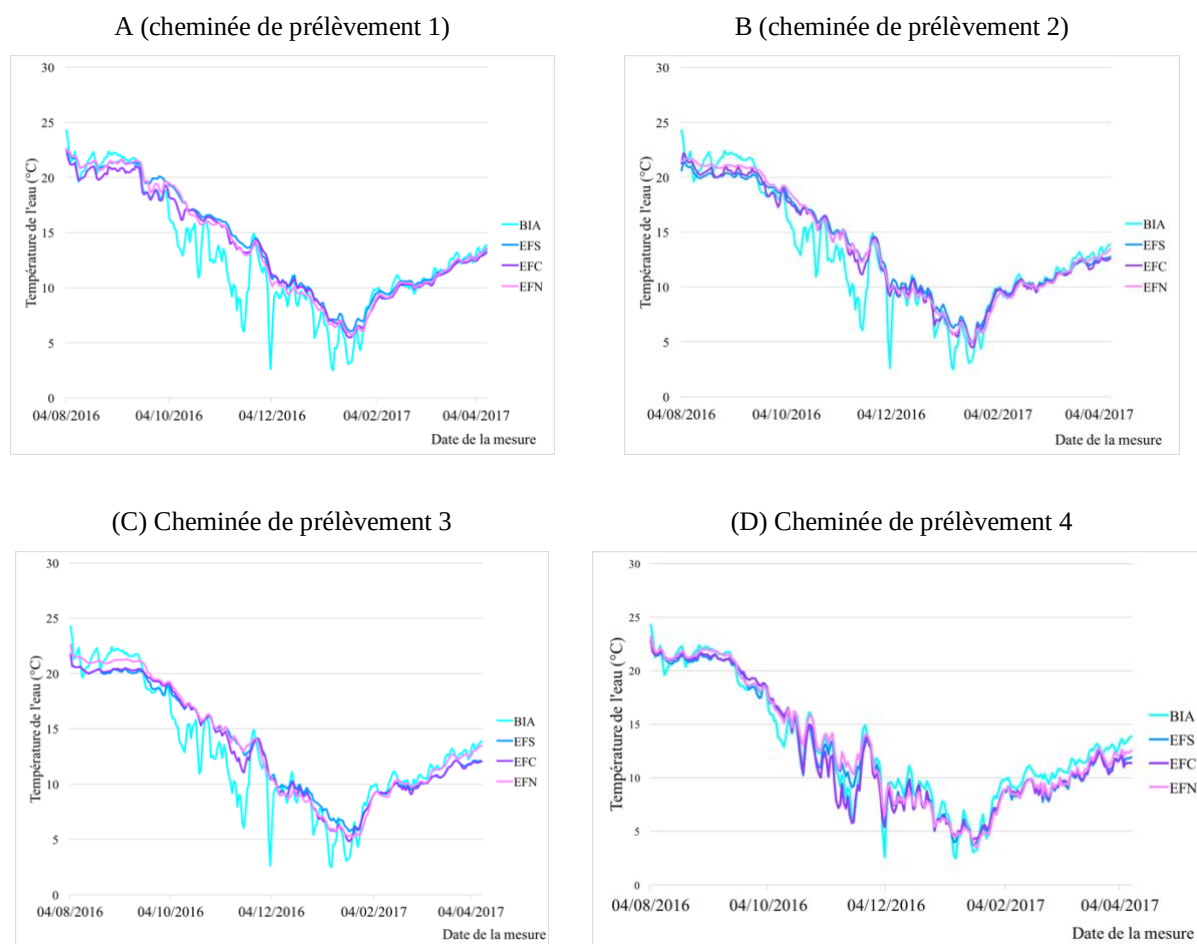


Figure 3.1.6 : Température moyennes journalières de l'eau (°C) mesurée dans les cheminées de prélèvement du BIA et des 3 Eco-filtres sur la période d'août 2016 à avril 2017, (A) cheminée de prélèvement 1 de chaque Eco-filtre et la cheminée de prélèvement du BIA, (B) cheminée de prélèvement 2 et du BIA, (C) cheminée de prélèvement 3 et du BIA et (D) cheminée de prélèvement 4 et du BIA.

Les tendances des mesures de température varient de façon similaire entre les Eco-filtres et présentent logiquement un abaissement de la température lors de la saison hivernale puis un réchauffement lors de la saison estivale (Figure 3.1.6). La cheminée 1 est située au niveau du filtre mixte, le niveau de la lame d'eau par rapport à la surface de la pouzzolane est à une profondeur plus importante que le BIA. De ce fait, en hiver, les températures moyennes journalières dans les Eco-filtres sont plus élevées par rapport au BIA. Cette différence

pourrait être expliquée par l'effet isolant de la couche de pouzzolane lors des baisses de température. Au printemps, la température de l'eau dans les Eco-filtres est similaire à celle dans le BIA. Les températures de l'eau dans la cheminée de prélèvement 2 suivent les mêmes tendances que la cheminée 1.

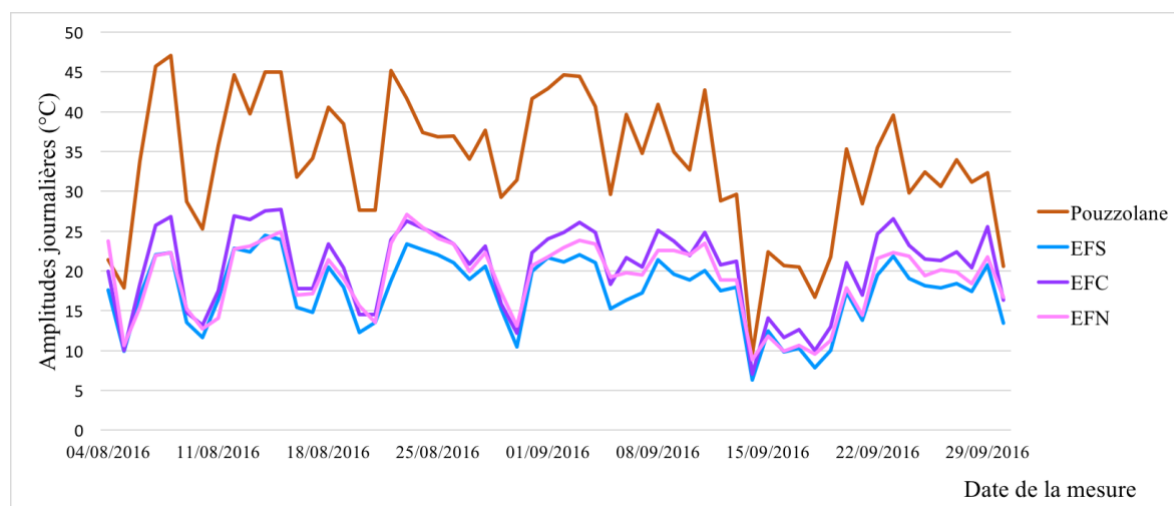
La cheminée 3 se situe en fin de FH, les mesures de température sont similaires à la cheminée 1 sauf pour le EFN pour lequel la température de l'eau est légèrement plus élevée que dans les autres Eco-filtres en août et au printemps et se rapproche de celle du BIA.

Les températures enregistrées dans les cheminées 4 sont similaires à celles enregistrées dans le BIA. La cheminée 4 se situe dans les BI des Eco-filtres. Il y a au-dessus de la pouzzolane une lame d'eau limitant l'isolation thermique de l'eau dans les BI.

Ces résultats montrent que la température de l'eau des Eco-filtres est relativement variable dans le temps et est liée à la température extérieure. Cependant, la pouzzolane (FM cheminée 1) et la végétation (FH cheminée 2 et 3) jouent un rôle d'isolant modulant ces variations. Ainsi, sans pouzzolane ou végétation, la température de l'eau augmente et se rapproche de celle du BIA.

Des sondes ont été installées à la surface de la pouzzolane sur le FH des trois Eco-filtres : une sonde près de la cheminée de prélèvement 2 et une autre près de la cheminée de prélèvement 3. Une autre sonde a été installée en plein soleil directement sur la pouzzolane au niveau du FV Sud pour évaluer l'impact de l'absence de végétation sur la température de la pouzzolane des FH. Les évolutions des amplitudes journalières de la température de l'air (°C) mesurées à la surface de la pouzzolane à proximité de la cheminée 2 des Eco-filtres sur les périodes de août à septembre 2016 et de décembre 2016 à janvier 2017 (soit quatre mois de suivi) lorsque l'alimentation en eau est identique entre les trois EF, sont présentées dans la Figure 3.1.7.

A Période estivale



B Période hivernale

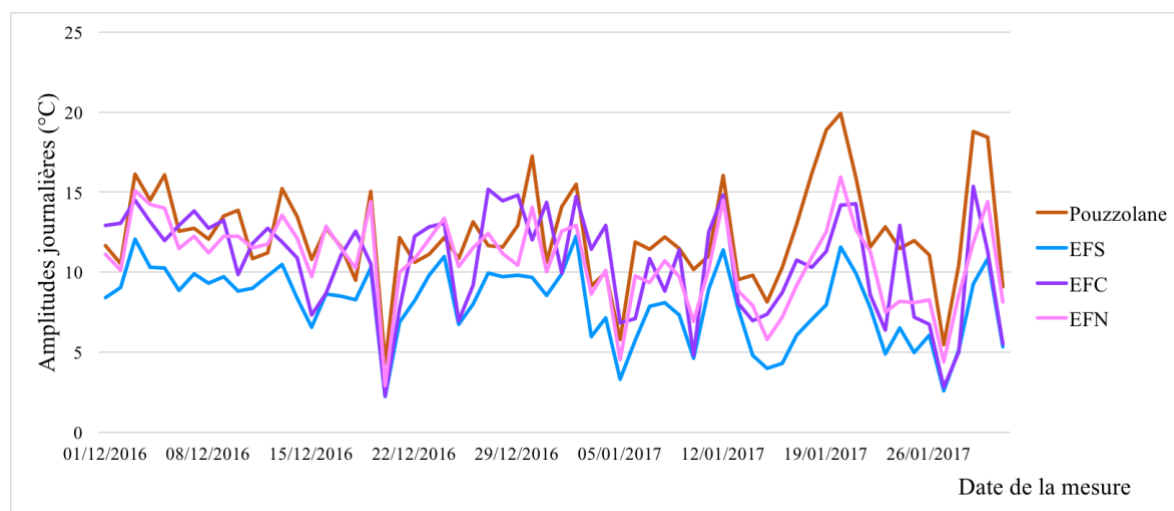


Figure 3.1.7 : Amplitudes journalières de la température de l'air (°C) à proximité de la cheminée de prélèvement 2 des trois EF et de la surface de la pouzzolane sur les périodes (A) estivale d'août à septembre 2016 et (B) hivernale de décembre 2016 à janvier 2017.

Les variations journalières d'amplitudes thermiques en été à la surface des EF concordent avec celle de la température en surface de la pouzzolane avec cependant un décalage à la hausse récurrent au niveau de la pouzzolane. Les comparaisons entre les courbes des amplitudes journalières enregistré à la surface des EF lors de la période estivale et celle enregistrée à la surface de la pouzzolane montrent un effondrement simultané pour une période proche du 15/09/2016, un épisode climatique intense peut justifier cette événement (fortes pluies). En hiver (Figure 3.1.7 B), les similitudes de variations journalières d'amplitude sont nettement moins visibles. Seul les effondrements d'amplitudes journalières sont similaires à proximité du 22/12/2016, du 05/01/2017 et le 26/01/2017. Ces résultats

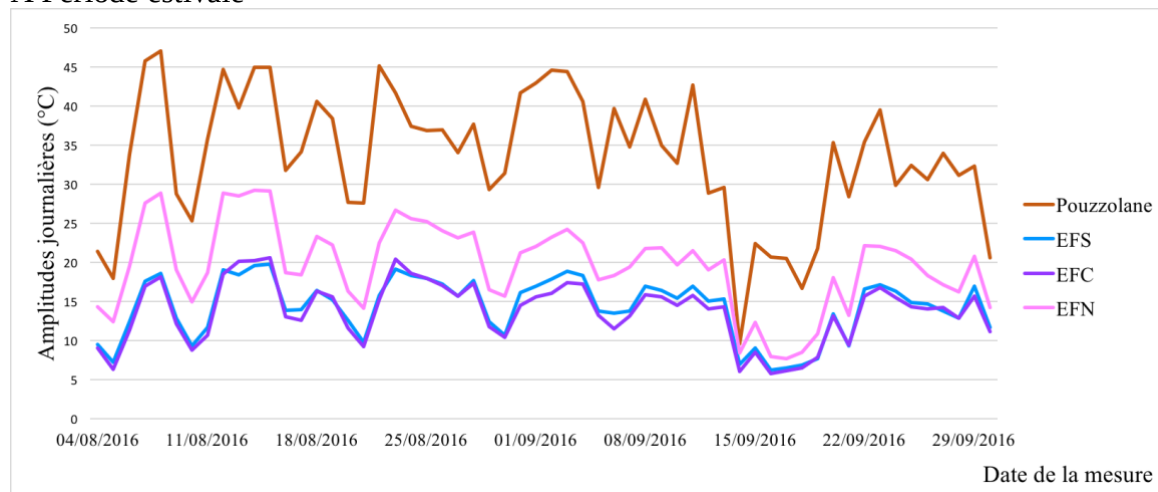
montrent que la surface des EF est directement sous l'influence de la température de l'air en été.

L'écart estival de températures entre les trois EF et la pouzzolane nue (pour le 08/08/2016 une différence de 20°C est relevée) peut s'expliquer par le fait que les sondes ont été posées sous la couverture végétale au niveau des Eco-filtres, ainsi le recouvrement de la végétation a pu atténuer les variations de la température à la surface de la pouzzolane (Figure 3.1.7 A). Les légères différences notées entre les EF pourraient donc se justifier par des différences de densité végétale, d'espèces et de distribution des plantes. Les variations journalières hivernales (Figure 3.1.7 B) sont nettement moins similaires : l'amplitude des températures mesurées sur l'EFS sont plus réduites. L'EFN et EFC se rapprochent des amplitudes journalières mesurées par la sonde à la surface de la pouzzolane. Les différences observées entre la période estivale et hivernale peuvent s'expliquer par la dormance des plants en hiver auquel cas elles sont en état de vie ralenti pour certaines ou par la fin de leur cycle de vie pour les plantes annuelles. Les plantes vont donc limiter leur effet isolant.

Les évolutions des amplitudes journalières de la température de l'air (°C) mesurées à la surface de la pouzzolane à proximité de la cheminée 3 des Eco-filtres sur les périodes de août à septembre 2016 et de décembre 2016 à janvier 2017 (soit 4 mois de suivi) lorsque l'alimentation en eau est identique entre les trois EF, sont présentées dans la Figure 3.1.8.

Tout comme la cheminée 2, les variations d'amplitudes journalières de température des sondes à proximité de la cheminée 3, en été à la surface des EF concordent avec celle de la température en surface de la pouzzolane. Leurs amplitudes varient selon la température de l'air mais de façon atténuée. Les amplitudes journalières estivales de l'EFN à proximité de la cheminée 3 sont légèrement supérieures aux autres EF (une différence comprise entre 5 et 10°C). En hiver les amplitudes journalières sont similaires aux amplitudes mesurées à la surface de la pouzzolane ainsi le recouvrement de la végétation ne protège que faiblement la surface de l'EFN.

A Période estivale



B Période hivernale

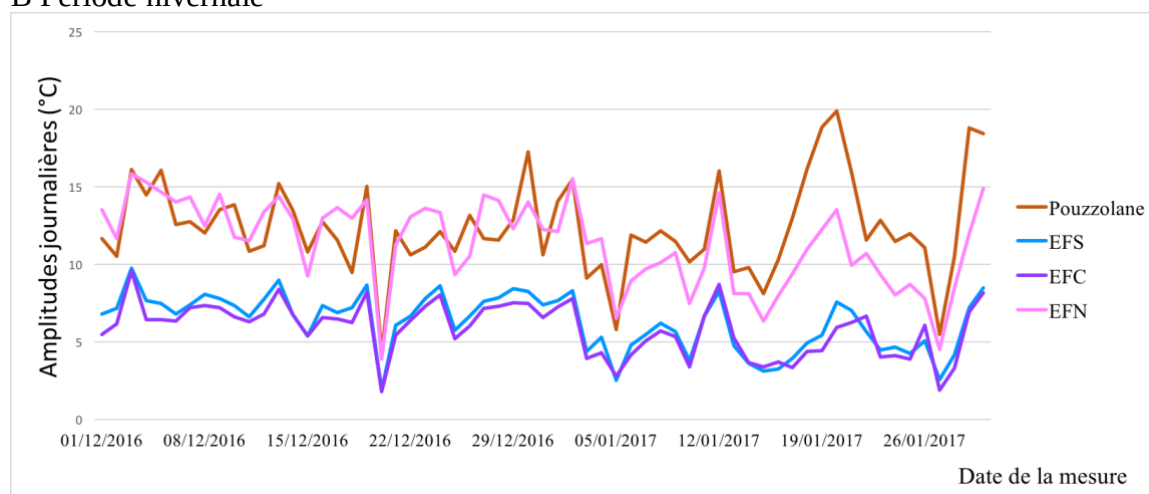


Figure 3.1.8 : Amplitudes journalière de la température de l'air (°C) à proximité de la cheminée de prélèvement 3 des trois Eco-filtres et de la surface de la pouzzolane sur les périodes (A) estivale d'août à septembre 2016 et (B) hivernal de décembre 2016 à janvier 2017.

Il a été démontré que l'épuration des polluants était perturbée lorsque les températures sont inférieures à 0°C, une augmentation du temps de séjour pouvant améliorer l'épuration lors de la période hivernale (Akratos et Tsihrintzis, 2007). Ainsi, il serait judicieux de moduler en fonction des saisons les temps de séjour, un long en hiver et un court en été.

La présence d'une lame d'eau à la surface du filtre vertical et horizontal limite l'isolation thermique de l'eau.

La pouzzolane permet de conserver une inertie thermique et de compenser des variations de températures liées aux conditions climatiques. La végétation va isoler la surface du filtre horizontal et limiter les variations journalières.

3.1.3.2 Variations saisonnières des paramètres physico-chimiques

Afin d'étudier les variations des paramètres physico-chimiques de l'eau dans les cheminées de prélèvement sur l'année 2016, une Analyse en Composantes Principale (ACP) a été réalisée. Les résultats graphiques de cette ACP sont représentés dans la figure 3.1.9.

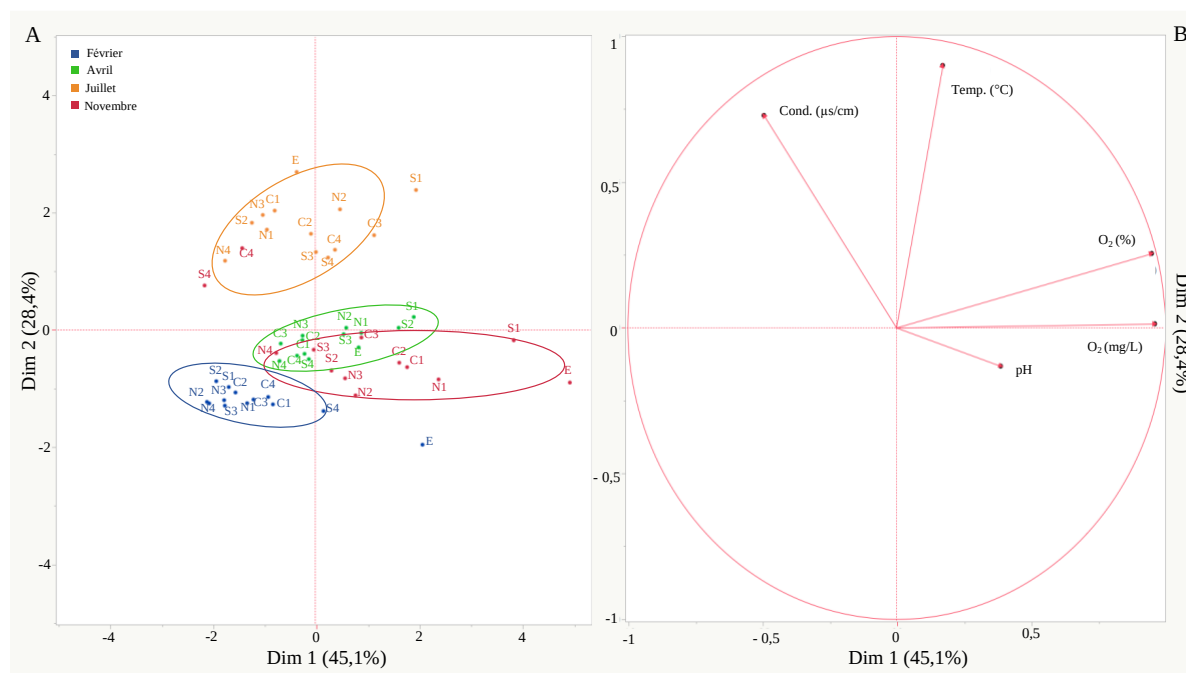


Figure 3.1.9 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des données physico-chimiques des quatre cheminées de prélèvement des EF. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = effluent chiminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; Cond. (μs/cm) = conductivité électrique; Temp. (C°) = température ; O₂ (%) = pourcentage d'oxygène dissous ; O₂ (mg/L) = concentration en oxygène dissous.

L'étude des valeurs propres révèle un jeu de données équilibré entre les deux premières composantes principales (respectivement 45,1% et 28,4%). Les trois premières composantes principales totalisent une inertie supérieure à 90%. Seul le premier plan factoriel Dim1xDim2 de l'ACP est étudié (Figure 3.1.9). La première composante (Dim1) explique 45,1% ; la température et la conductivité électrique de l'eau y contribuent positivement. La seconde composante (Dim2) explique 28,5% ; le pourcentage d'oxygène dissous et la concentration en oxygène y contribuent positivement.

Compte tenu des relations entre les coordonnées des cheminées de prélèvements de chaque EF et celles des variables en ACP, on distingue une variabilité saisonnière des paramètres physico-chimiques mise en avant par les cercles de couleurs associés aux dates respectives.

L'effluent présente donc une variabilité saisonnière. En novembre, le patron de projection des cheminées est plus étalé que pour les autres saisons ainsi d'un gradient positif de la conductivité au sein de chaque EF (de la cheminée 1 vers la 4). Les cheminées 4 de l'EFS et l'EFC se distinguent et présentent une conductivité plus importante et une concentration en oxygène dissous plus faible que les autres cheminées et sont opposées à la cheminée 1 des trois EF et de l'effluent. En février, les données des cheminées de prélèvement des EF sont très homogènes et opposées à celles de l'effluent. Elles présentent les températures les plus basses par rapport aux autres dates ce qui est cohérent avec la saison hivernale. En juillet, l'ACP met en évidence des conductivités et des températures plus élevées que pour les autres saisons.

Cette ACP a mis en évidence une variabilité saisonnière des paramètres physico-chimiques de l'eau dans les EF mais également visible dans l'effluent. Lors de l'été 2016 et ce jusqu'en octobre 2016, les cours d'eau du site (nommés roubines) n'étaient plus alimentés en eau par le bassin versant et les effluents industriels n'étaient pas suffisants pour soutenir l'alimentation des roubines. A cela s'est ajouté une sécheresse importante de plusieurs mois. Une augmentation de la conductivité électrique de l'eau en juillet peut être expliquée par un phénomène de concentration des eaux dans les EF.

3.1.3.3 Variations saisonnières des éléments majeurs dissous

L'analyse des concentrations en éléments majeurs dissous dans l'eau permet de caractériser la composition de l'eau et de faire le suivi de la qualité de l'eau (phosphates, nitrates, ...). De plus, la quantification de la chlorophylle permet de déterminer la biomasse totale du phytoplancton car c'est le pigment photosynthétique présent chez toutes les espèces de phytoplancton (Gregor et Maršálek, 2004).

Afin d'étudier les variations des éléments majeurs dissous dans l'eau des cheminées de prélèvement sur l'année 2016, une ACP a été réalisée. Les résultats graphiques de l'ACP réalisés sur les données des éléments dissous dans l'eau sont représentés dans la figure 3.1.10. L'étude des valeurs propres révèle un jeu de données équilibré entre les deux premières composantes principales (respectivement 31,8% et 27%). Les trois premières composantes principales totalisent une inertie supérieure à 70%. Seul le premier plan factoriel Dim1xDim2 de l'ACP est étudié (Figure 3.1.10). La première composante (Dim1) explique 31,8%. La

chlorophylle a, a active, b, c et les phéopigments y contribuent positivement. La seconde composante (Dim2) explique 27%. Le sulfate et le chlorure y contribuent positivement.

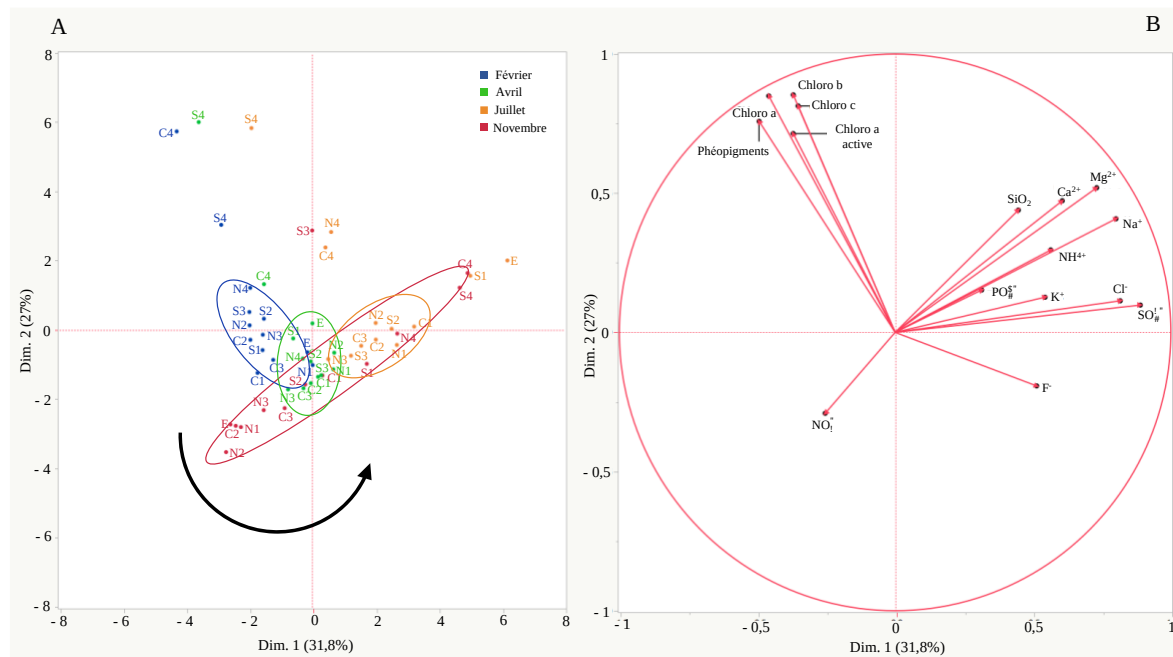


Figure 3.1.10 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des éléments dissous dans l'eau des quatre cheminées de prélèvement des EF. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = Effluent cheminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; F⁻ = fluor (mg/L); NO₃⁻ = nitrate (mg/L); NO₂ = dioxyde d'azote (mg/L); K⁺ = potassium (mg/L); Ca²⁺ = calcium (mg/L); PO₄³⁻ = phosphate (mg/L); Cl⁻ = ion chlorure (mg/L); Na⁺ = sodium (mg/L); Mg²⁺ = magnésium (mg/L); SO₄²⁻ = sulfate; SiO₂ = dioxyde de silicium (mg/L); NH₄⁺ = ammonium (mg/L); Phéopigments (µg/L); Chloro a = chlorophylle a (µg/L); Chloro b = chlorophylle b (µg/L); Chloro c = chlorophylle c (µg/L); Chloro a active = chlorophylle a active (µg/L).

Compte tenu des relations entre les coordonnées des cheminées de prélèvements de chaque EF et celles des variables en ACP, on distingue une variabilité saisonnière des éléments majeurs dissous mis en avant par les cercles de couleurs associés aux dates respectives. Contrairement aux paramètres physico-chimiques, certaines cheminées ne suivent pas le même profil que les autres cheminées. En février, en avril et en juillet, les cheminées de prélèvement 4 de l'EFS et EFC présentaient des concentrations en chlorophylle plus importantes que les autres cheminées. En février et en avril les concentrations en chlorophylle étaient basses. Les cheminées 4 de l'EFS et l'EFC présentaient en novembre (Figure 3.1.9) une conductivité importante. Ces cheminées présentaient une importante concentration en sels minéraux (Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+) pouvant expliquer la conductivité élevée. Le mois de juillet présentait une concentration en éléments majeurs dissous plus importante que les autres mois.

Tout comme pour les paramètres physico-chimiques, en novembre le modèle de projection des cheminées en lien avec les éléments majeurs dissous est plus étalé que les autres saisons. Ainsi les éléments majeurs dissous fluctuent au cours du temps et des saisons.

Il existe une variabilité saisonnière pour les paramètres physico-chimique et les éléments majeurs dissous pour les trois EF. Une augmentation de la conductivité et de la concentration en éléments majeurs au mois de juillet (épisode de sécheresse) a été relevée pouvant être expliquée par un phénomène de concentration des eaux dans les EF.

3.1.4 Évolution des compositions biotiques des filtres à écoulement horizontal

Dans les ZHA, les macrophytes sont une composante essentielle des processus épuratoires et permettent une augmentation de l'abattement des polluants (Brisson et Chazarenc, 2009 ; Tanner, 2001 ; Vymazal, 2011). Longtemps les systèmes de ZHA ont été plantés en culture monospécifique. Il est cependant de plus en plus reconnu que favoriser la diversité végétale au sein des ZHA permet d'augmenter les performances épuratoires de ces systèmes (Guittonny-Philippe et al., 2014 ; Karathanasis et al., 2003). Or la majorité des expérimentations réalisées sur la capacité épuratoire des ZHA est réalisée en microcosmes ou mésocosmes or ces échelles d'expérimentations ne permettent pas d'évaluer la compétition entre espèces végétales en conditions réelles.

Le choix des espèces végétales est un facteur déterminant dans la mise en place d'une ZHA. Il est conditionné par les capacités des plantes à épurer des polluants et/ou par leurs traits fonctionnels comme un fort développement du système racinaire et aérien (Brix 1994 ; Faulwetter et al. 2009). L'expérimentation réalisée précédemment au laboratoire en conditions contrôlées a permis de valider la sélection de cinq espèces végétales (*Alisma lanceolatum*, *Carex cuprina*, *Iris pseudacorus*, *Epilobium hirsutum* et *Juncus inflexus*) pour épurer des mélanges de polluants (ETMM et MPO) émis aux seuils réglementaires des rejets industriels. Afin de pouvoir valider l'utilisation de ces hélrophytes autochtones pour la phytoépuration ou la bioindication de mélanges de polluants, une première phase d'évaluation de la pérennité de ces espèces en conditions réelles doit être réalisée.

Dans un premier temps, la pérennité des espèces plantées sur le FH de chaque EF a été suivie. Puis dans un second temps, un suivi floristique des espèces végétales qui se sont installées spontanément dans les FH a été effectué.

3.1.4.1 Pérennité des espèces introduites

La fréquence des cinq espèces végétales installées sur les EF en 2013 suite à l'implantation du site pilote sur la parcelle de STOGAZ et après trois années de fonctionnement (2016) est présentée dans le Tableau 3.1.4. La fréquence a été calculée sur les FH sur la base du quadrillage installé. L'espèce *E. hirsutum* présente une fréquence plus importante que celles des autres espèces. Mais il est à noter que la ligne de bioindication (*c.f.* partie 2 : matériels et méthodes) a été comptabilisée dans la fréquence.

D'une façon générale, après trois ans de fonctionnement, ces cinq espèces se divisent en deux catégories. Les espèces ayant une fréquence qui a diminué (*A. lanceolatum* et *C. cuprina*) et les espèces dont la fréquence a nettement augmenté (*E. hirsutum*, *I. pseudacorus* et *J. inflexus*).

Tableau 3.1.4 : Fréquence des cinq espèces végétales introduites sur les EF

Taxon	Fréquence des espèces installées (%)								
	2013			2015			2016		
	EFS	EFC	EFN	EFS	EFC	EFN	EFS	EFC	EFN
<i>A. lanceolatum</i>	17	17	17	25	13	25	4	15	15
<i>C. cuprina</i>	17	17	17	18	3	23	22	33	11
<i>E. hirsutum</i>	33	33	33	53	63	38	74	70	63
<i>I. pseudacorus</i>	17	17	17	53	45	30	67	56	44
<i>J. inflexus</i>	17	17	17	63	50	38	67	67	63

L'espèce *E. hirsutum* (figure 3.1.11) présente la fréquence la plus importante suite aux trois années de fonctionnement. Cette fréquence est à minima doublée sur les trois EF (Tableau 3.1.4). Il est important de noter qu'elle présentait aussi la fréquence la plus importante au début de l'installation du site pilote. Cette espèce a tendance à coloniser naturellement les entrées des ZHA sans être invasive en zone méditerranéenne (Vymazal, 2009) ce qui explique la pérennité des individus dans les EF.



Figure 3.1.11. : Individu représentatif de l'espèce *E. hirsutum* (cliché J. De Vos).

L'espèce *E. hirsutum* a été sélectionnée pour les EF pour sa sensibilité aux mélanges d'ETMM et de MPO. En conditions contrôlées, les individus testés de cette espèce ont présenté des symptômes de toxicité quantifiables par la mesure de biomarqueurs de stress tel que les variations des teneurs en composés phénoliques des feuilles (Guittonny-Philippe et al., 2015). Un outil de bioindication a donc été développé en conditions contrôlées et l'évaluation de cet outil sur le site pilote est présentée dans le chapitre 3.



Figure 3.1.12. : Individu représentatif de l'espèce *I. pseudacorus* (cliché H. Zell).

L'espèce *I. pseudacorus* (figure 3.1.12) présente une augmentation de sa fréquence au cours des trois années de fonctionnement des EF (Tableau 3.1.4). Tout comme l'espèce *E. hirsutum*, sa fréquence est à minima doublée sur les trois FH des EF entre 2013 et 2016. L'espèce *I. pseudacorus* avait été sélectionnée pour sa tolérance aux ETMM suite aux résultats obtenus

en conditions contrôlées (Guittonny-Philippe, 2014). Une augmentation de sa fréquence au fil du temps confirme cette tolérance aux polluants et aux conditions environnementales *in situ*. En effet, lors d'une étude (Larue et al., 2010), il a été démontré que cette espèce en présence de xénobiotiques a la capacité d'activer des mécanismes de défense en produisant des composés phénoliques au niveau racinaire. Ces composés peuvent piéger les MPO (Imfeld et al., 2009) et les ETMM (Dietz et Schnoor, 2001) et ainsi limiter la biodisponibilité de ces xénobiotiques. Par ailleurs, *I. pseudacorus* a déjà prouvé sa tolérance au climat méditerranéen sur une ZHA à grande échelle (Ávila et al., 2015). Nos résultats confirment ceux de la littérature sur la pérennité de cette espèce en conditions réelles et aux contacts d'effluents traités multipollués.



Figure 3.1.13. : Individus représentatifs de l'espèce *J. inflexus* (cliché J. Maréchal).

L'espèce *J. inflexus* (figure 3.1.13) présente une augmentation de sa fréquence de 3,7 fois par rapport au départ pour l'EFN et de plus de quatre fois pour les EF Sud et Centre (Tableau 3.1.4). Pourtant en conditions contrôlées, cette espèce a présenté des symptômes de toxicité en présence d'ETMM et de MPO. Elle a été sélectionnée pour ces capacités élevées de phytoaccumulation des ETMM (Guittonny-Philippe et al., 2015). Comme le souligne la littérature, *J. inflexus* est une espèce ayant une croissance rapide et a la capacité d'accumuler des ETMM dans les racines en limitant la translocation dans les parties aériennes (Syranidou et al., 2017). Les résultats obtenus en conditions réelles valident l'utilisation de cette espèce dans un contexte méditerranéen (alternance entre assec et milieu saturé en eau) et aux contacts de multipollution. Des tests complémentaires pourront être effectués pour déterminer ses capacités quant à l'accumulation d'ETMM dans les parties racinaires *in situ*.



Figure 3.1.14. : Individu représentatif de l'espèce *A. lanceolatum* (cliché J. Maréchal)

L'espèce *A. lanceolatum* (figure 3.1.14) présente dans un premier temps une légère augmentation (de 17 à 25) de sa fréquence pour l'EFS et l'EFN en 2015 puis une forte diminution en 2016 (à 4) (Tableau 3.6). Pour l'EFC, dès 2015, la fréquence de cette espèce diminue (de 17 à 13). Cette espèce a été sélectionnée pour sa tolérance aux polluants organiques et favoriser la phytostimulation (Guittonny-Philippe et al., 2015). Or cette espèce ne s'est pas maintenue dans les FH des EF. Elle n'a certainement pas été compétitive par rapport aux autres espèces présentes dans le FH pour perdurer dans les EF. Une compétition a lieu lorsque plusieurs individus utilisent les mêmes ressources (lumière, eau, etc...) pour leur développement (Grime, 2006 ; Pilet, 2009). Il peut également s'avérer que les conditions environnementales et la présence d'une multipollution n'ont pas été propices à son développement. Les résultats en conditions réelles ne permettent donc pas de valider la sélection de cette espèce pour son implantation en FH dans une ZHA en conditions méditerranéennes et au contact de multipollution d'origine industrielle.

Et finalement l'espèce *C. cuprina* (figure 3.1.15) comme pour l'espèce *A. lanceolatum*, présente dans une premier temps une légère augmentation (de 17 à 23) de sa fréquence dans les FH de l'EFS et l'EFN en 2015 suivi d'une diminution en 2016 (7) (Tableau 3.1.4). Cette espèce a été sélectionnée pour sa capacité à accumuler des ETMM dans sa biomasse racinaire supérieure aux autres espèces testées lors de l'expérimentation en conditions contrôlées ainsi que sa capacité à phytostimuler les communautés microbiennes (Guittonny-Philippe et al., 2015).



Figure 3.1.15. : Individu représentatif de l'espèce *C. cuprina* (cliché par M.E. Petit).

Or malgré ses compétences et son fort potentiel phytoépurateur, cette espèce n'a pas perduré dans les FH des trois EF. Tout comme l'espèce *A. lanceolatum*, *C. cuprina* n'est peut-être pas assez compétitive comparée aux autres espèces présentes dans les EF ou n'est pas tolérante aux conditions présentes dans les EF. La compétition entre espèces peut être à trois niveaux : racinaire, foliaire ou totale (racinaire et foliaire en même temps). La compétition racinaire est inversement liée à la compétition aérienne, une compétition racinaire très tôt dans le développement de la plante induisant une diminution de la compétitivité aérienne (Grime, 2006). Ainsi si la compétition est de nature racinaire, une période d'acclimation plus longue pour les espèces telles que *A. lanceolatum* et *C. cuprina* que pour les autres espèces peut être suggérée. Le réseau racinaire aura le temps de se développer plus longuement et permettra de limiter la pression induite par les espèces voisines.

Un nombre relativement élevé d'espèces végétales dans une ZHA signifie qu'une multitude de tolérances environnementales est représentée. Comme la ZHA peut connaître des fluctuations du niveau de l'eau, de la température et des dommages par la faune, certaines espèces végétales ne survivront pas mais d'autres peuvent prospérer en fonction des conditions environnementales au fil du temps. L'implantation d'une diversité d'espèces augmente donc les chances de succès d'au moins une ou plusieurs espèces. Une perspective serait de comparer des EF monospécifiques et des EF avec différents assemblages d'espèces végétales.

La fréquence des espèces I. pseudacorus, E. hirsutum et J. inflexus a augmenté au cours des trois années, elles répondent ainsi favorablement aux conditions environnementales et physico-chimiques. A l'inverse, la fréquence des espèces A. lanceolatum et C. cuprina a diminué au cours du temps, l'utilisation de ces espèces en conditions réelles ne peut être validée.

3.1.4.2 Dynamique écologique

Le suivi de la dynamique écologique a été effectué dans chaque EF. Dans un premier temps, l'évolution des espèces végétales a été suivie sur les FH de chaque EF, puis dans un second temps l'évolution de la population phytoplanctonique a été suivie.

3.1.4.2.1 Inventaires floristiques

Des inventaires floristiques ont été réalisés en 2015 et en 2016. Dans ce chapitre, seuls les inventaires datant de l'année 2016 sont traités, lorsque les trois EF étaient alimentés de manière identique.

La richesse spécifique au sein des trois EF au mois de mai et au mois d'octobre est présentée dans le Tableau 3.1.5

Tableau 3.1.5 : Richesse spécifique au sein des FH des trois EF au mois de mai et d'octobre (nombre d'espèces présentes).

Eco-filtre	Richesse spécifique	
	Mai 2016	Octobre 2016
EFS	19	15
EFC	13	11
EFN	10	12

La richesse spécifique initiale était de 5 en 2013. En 2016, suite à trois années de fonctionnement, la richesse spécifique a augmenté pour les trois EF. Ainsi il y a une installation d'espèces exogènes (que l'on peut qualifier d'adventices) dans les trois EF. En mai 2016 (Figure 3.1.16), les trois EF ont une richesse spécifique différente. En effet, l'EFS est l'EF ayant la richesse spécifique la plus élevée (19) suivi de l'EFC (13) et finalement de l'EFN (10). En octobre 2016, ces différences s'amointrissent mais l'EFS reste néanmoins

l'EF ayant la richesse spécifique la plus élevée (15) suivi par l'EFN et EFC (12 et 11 respectivement). Des études ont démontré que favoriser la diversité spécifique dans les ZHA permet d'améliorer l'efficacité de l'épuration des polluants en particulier dans un contexte de multipollution (Guittonny-Philippe et al., 2014 ; Zhang et al., 2010 ; Zhang et al., 2010). Il serait donc intéressant de déterminer si l'EFS présente une efficacité épuratoire plus importante que les autres systèmes. L'efficacité épuratoire des EF sera traitée dans le chapitre 3.



Figure 3.1.16 : Vues des FH des trois Eco-filtres (FH) prises le 24 mai 2016 (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN (clichés M.-E. Petit).

Les espèces recensées au mois de mai dans les différents FH de chaque EF sont présentées sous forme de fréquence et le recouvrement total des espèces sont reportés dans le Tableau 3.1.6.

Tableau 3.1.6 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en mai 2016 et recouvrement total des espèces végétales pour chaque EF.

Taxon	EFS	EFC	EFN	Espèce introduite	Espèce adventive
<i>Alisma lanceolatum</i> L., 1796	4	15	15	x	
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl, 1819	7	7	0		x
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R.Br., 1810	26	19	63		x
<i>Carex cuprina</i> (Sandor ex Heuff.) Nendtv. ex A. Kern., 1863	22	33	11	x	
<i>Convolvulus arvensis</i> L., 1753	4	7	0		x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers., 1805	0	0	0		x
<i>Daucus carota</i> L., 1753	15	15	19		x
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter, 1973	7	0	0		x
<i>Epilobium hirsutum</i> L., 1753	74	70	63	x	
<i>Geranium robertianum</i> subsp. <i>robertianum</i> , 1753	4	0	0		x
<i>Helminthotheca echioides</i> (L.) Holub, 1973	0	0	7		x
<i>Helosciadium nodiflorum</i> (L.) W.D.J.Koch, 1824	48	37	0		x
<i>Holcus lanatus</i> L., 1753	0	0	0		x
<i>Hordeum secalinum</i> Schreb., 1771	0	0	0		x
<i>Iris pseudacorus</i> L., 1753	67	56	44	x	
<i>Juncus inflexus</i> L., 1753	67	67	63	x	
<i>Lysimachia arvensis</i> (L.) U. Manns & Anderb.	4	0	0		x
<i>Persicaria bistorta</i> (L.) Samp., 1913	4	0	0		x
<i>Plantago coronopus</i> L., 1753	0	0	4		x
<i>Plantago media</i> L., 1753	4	0	0		x
<i>Poa pratensis</i> L., 1753	19	11	0		x
<i>Poa trivialis</i> L., 1753	22	19	0		x
<i>Polypogon maritimus</i> Willd., 1801	0	0	0		x
<i>Ranunculus marginatus</i> d'Urv., 1822	19	0	0		x
<i>Rumex crispus</i> L., 1753	7	7	11		x
<i>Tripolium pannonicum</i> (Jacq.) Dobrocz., 1962	0	0	4		x
<i>Verbena officinalis</i> L., 1753	0	0	0		x
Recouvrement total (%)	100	98	63		

Les espèces majeures diffèrent entre les EF. Néanmoins l'EFS et l'EFC présentent des similitudes. Les quatre espèces majeures dans ces deux EF sont *E. hirsutum*, *H. nodiflorum*, *I. pseudacorus* et *J. inflexus*. Parmi ces espèces majeures, trois sont des espèces introduites

intentionnellement qui avaient été sélectionnées en conditions contrôlées. *H. nodiflorum* est une espèce commune présente en sortie de effluents industriels. Cette espèce faisait partie de la présélection des espèces à tester en condition contrôlées mais elle n'a pas été retenue car elle est potentiellement envahissante (Benelli et al., 2017). Les quatre espèces majeures dans l'EFN sont *C. sepium*, *E. hirsutum*, *I. pseudacorus* et *J. inflexus*. Tout comme pour les autres EF, parmi ces espèces majeures, trois sont des espèces introduites dans les EF et sélectionnées en conditions contrôlées. *C. sepium* est une espèce hygrophile et eutrophe (Julve, 2017). L'EFN présenterait donc des teneurs en substances nutritives supérieures aux autres EF. Le recouvrement total entre les EF sud et centre est presque identique (100% et 98% respectivement) contrairement à l'EFN qui présente un recouvrement de 63%. Les conditions physico-chimiques de cet EF n'apparaissent pas optimales pour un recouvrement total de la surface du FH.

Les espèces recensées au mois d'octobre dans les différents FH de chaque EF sont présentées sous forme de fréquence et le recouvrement total des espèces sont reportés dans le Tableau 3.1.7. (page suivante)

Les espèces majeures entre les EF sont identiques sauf pour l'EFS qui en compte une supplémentaire *P. trivialis*. Les quatre espèces majeures communes sont *E. hirsutum*, *C. sepium*, *I. pseudacorus* et *J. inflexus*. Parmi ces espèces majeures, trois sont des espèces sélectionnées en conditions contrôlées. Pour l'EFS et l'EFC, les espèces *H. hirsutum* et *J. inflexus* ont une fréquence très élevée et proche de 1, elles sont donc présentes dans la majorité des carreaux du quadrillage. Les fréquences des espèces majeures sont plus basses pour l'EFN. Le recouvrement total des espèces végétales de l'EFS et l'EFC sont similaires comme au mois de mai. En revanche, il est important de noter que le recouvrement total de l'EFN a augmenté entre le mois de mai et le mois d'octobre.

Les monocultures sont souvent considérées comme ayant une valeur écologique limitée. Les avantages écologiques des communautés diversifiées sont nombreux étant donné que le nombre d'espèces végétales et la complexité structurelle des écosystèmes naturels sont généralement en corrélation avec la richesse des espèces animales en particulier les oiseaux (Kadlec et Wallace, 2008). Par conséquent, une diversité d'espèces végétales dans une ZHA augmente la valeur de la faune sauvage. De plus, l'association d'espèces végétales diverses augmentent la résistance du système aux conditions environnementales et potentiellement l'épuration.

Tableau 3.1.7 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en octobre 2016 et recouvrement total des espèces végétales pour chaque EF.

Taxon	EFS	EFC	EFN	Espèce introduite	Espèce adventives
<i>Alisma lanceolatum</i> L., 1796	4	4	4	x	
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl, 1819	0	0	0		x
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R.Br., 1810	22	48	41		x
<i>Carex cuprina</i> (Sandor ex Heuff.) Nendtv. ex A .Kern., 1863	7	4	7	x	
<i>Convolvulus arvensis</i> L., 1753	0	0	0		x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers., 1805	0	0	0		x
<i>Daucus carota</i> L., 1753	4	4	7		x
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter, 1973	11	0	0		x
<i>Epilobium hirsutum</i> L., 1753	81	85	67	x	
<i>Geranium robertianum</i> subsp. <i>robertianum</i> , 1753	0	0	0		x
<i>Helminthotheca echioides</i> (L.) Holub, 1973	4	11	11		x
<i>Helosciadium nodiflorum</i> (L.) W.D.J.Koch, 1824	11	0	0		x
<i>Holcus lanatus</i> L., 1753	0	0	0		x
<i>Hordeum secalinum</i> Schreb., 1771	0	0	0		x
<i>Iris pseudacorus</i> L., 1753	52	37	44	x	
<i>Juncus inflexus</i> L., 1753	78	74	63	x	
<i>Lysimachia arvensis</i> (L.) U. Manns & Anderb.	0	0	0		x
<i>Persicaria bistorta</i> (L.) Samp., 1913	4	4	4		x
<i>Plantago coronopus</i> L., 1753	0	0	4		x
<i>Plantago media</i> L., 1753	4	0	0		x
<i>Poa pratensis</i> L., 1753	19	0	0		x
<i>Poa trivialis</i> L., 1753	22	0	0		x
<i>Polypogon maritimus</i> Willd., 1801	0	0	0		x
<i>Ranunculus marginatus</i> d'Urv, 1822	0	0	0		x
<i>Rumex crispus</i> L., 1753	0	4	4		x
<i>Tripolium pannonicum</i> (Jacq.) Dobrocz., 1962	0	4	4		x
<i>Verbena officinalis</i> L., 1753	4	0	0		x
Recouvrement total (%)	100	98	77		

L'EFS présente une richesse spécifique plus importante que les autres EF mais avec le temps cette différence entre les EF s'atténue. De plus, la pérennité de l'ensemble des espèces végétales installées dans les EF n'a pu être maintenue. Trois espèces (I. pseudacorus, E. hirsutum et J. inflexus) semblent s'être accoutumées aux conditions environnementales et physico-chimiques.

3.1.4.2.2 Inventaires phytoplanctoniques

Le phytoplancton joue un rôle central dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce. Les organismes qui le constitue sont au centre des services écologiques et biogéochimiques des écosystèmes aquatiques (Reynolds, 2006). L'écologie phytoplanctonique est liée aux concentrations en nutriments dans l'eau et aux changements abiotiques de l'environnement. Par conséquent, le suivi du phytoplancton est fréquemment utilisé comme indicateur de la qualité biologique et écologique de l'eau (Souza et al., 2008). Sur une période de février à novembre 2016, des inventaires ont été réalisés sur les trois EF (tableau 3.1.8).

Tableau 3.1.8. Espèces les plus abondantes dans chaque EF et dans le BIA ainsi que le phylum associé à chaque espèce pour l'inventaire de février, avril, juillet et novembre.

EF	Espèce dominante (phylum)			
	Février	Avril	Juillet	Novembre
BIA	<i>Nitzschia acicularis</i> (diatomées)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)	<i>Pseudoanabaena sp.</i> (cyanobactéries)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)
EFS	<i>Fragilaria ulna</i> (diatomées)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)	<i>Oscillatoria sp.</i> (cyanobactérie)
EFC	<i>Chaetophora sp.</i> (chlorophycées)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)	<i>Melosira varians</i> (diatomées)	<i>Pseudoanabaena sp.</i> (cyanobactéries)
EFN	<i>Chaetophora sp.</i> (chlorophycées)	<i>Mallomonas sp.</i> (chrysophytes)	<i>Oscillatoria sp.</i> (cyanobactéries)	<i>Oscillatoria sp.</i> (cyanobactéries)

Au mois de février, l'espèce majeure pour le BIA (arrivée des effluents industriels) est *N. acicularis*. C'est une espèce vivant dans des milieux intermédiaires mésotrophes dans lesquels la disponibilité des nutriments est moyenne (Hermany et al., 2006). Les espèces majoritaires dans les EFS, EFC et EFN sont *F. ulna* pour l'EFS et *Chaetophora sp.* pour l'EFC et l'EFN. Ces deux espèces sont ubiquistes et souvent présentes dans des milieux intermédiaires mésotrophes (Biggs, 1995 ; Reynolds, 2006). En avril, l'espèce dominante est *M. varians* pour le BIA, l'EFS et l'EFC. Cette espèce est une diatomée épiphyte au niveau des racines des macrophytes. Tout comme les espèces précédentes, elle est présente dans les milieux intermédiaires mésotrophes (Eminson et Moss, 1980). L'espèce dominante dans l'EFN appartient au genre *Mallomonas*. Ce genre est typique des milieux oligotrophes pauvres en éléments nutritifs (Reynolds, 2006) et tolérant au stress (Reynolds et al., 2002). En juillet 2016, l'espèce majeure dans le BIA est *Pseudoanabaena sp.* Il s'agit d'une cyanobactérie. Or il est connu que l'eutrophisation progressive d'un milieu se traduit par des changements dans la composition des espèces phytoplanctoniques favorisant l'installation des

cyanobactéries (Reynolds, 2006). De plus, ces changements entraînent des effets consécutifs négatifs sur la qualité de l'environnement (bloom et/ou production de cyanotoxines). En juillet, l'apport en eau diminue dans les roubines réceptionnant les effluents industriels ainsi ces eaux sont de plus en plus concentrées en éléments nutritifs et en polluants, ce qui pourrait expliquer la présence d'espèces dominantes telles que *Pseudoanabaena sp.* Néanmoins, dans l'EFS et l'EFC, l'espèce dominante reste *M. varians*. Il apparaît donc un maintien du milieu mésotrophe. Les autres espèces présentes dans le phytoplancton de ces EF ont probablement œuvré à limiter la prolifération des cyanobactéries. Concernant l'EFN, l'espèce dominante est une cyanobactérie *Oscillatoria sp.* L'EFN se transforme donc en milieu eutrophe, riche en nutriments et pauvre en oxygène. En novembre, suite à un été très sec et une alimentation en eau presque inexistante, les trois EF ont pour espèce dominante des cyanobactéries *Oscillatoria sp.* et *Pseudoanabaena sp.*

L'EFS et l'EFC présentent les mêmes espèces majeures de phytoplancton au même moment. Ainsi ils partagent des similitudes en termes de propriétés chimiques et biologiques de l'eau.

3.1.4.3 Faune

Un inventaire des insectes a été réalisé par le bureau d'étude ECO-MED représenté par Marielle Tardy le 22 juillet 2015. La période de passage n'a pas permis d'inventorier des espèces précoces (printanières). Les espèces recensées à enjeu local de conservation modéré et faible sont présentées dans la Figure 3.1.17. Le leste verdoyant méridional a été notamment observé. C'est une espèce à enjeu local de conservation modéré et un total de trois individus ont été observés dans les BI des EF. Ces individus étaient tous posés au repos dans la végétation au moment de l'observation. Le Sphinx de l'Epilobe a également été identifié. C'est une espèce à enjeu local de conservation faible. Ses chenilles se nourrissent des feuilles de l'espèce *Epilobium hirsutum*. Il est important de noter qu'il a été précédemment démontré que les parties aériennes de cette espèce végétale ne contiennent pas ou très peu d'ETMM (Guittonny-Philippe et al., 2015). Le risque de transfert de ce type de polluants au réseau trophique est donc limité pour cette espèce. Le Sphinx au cours des trois années de suivi a été observé plusieurs fois.



Figure 3.17 : (A) le leste verdoyant méridional (*Lestes virens* ssp. *virens* Charpentier, 1825) (cliché M. Tardy) et (B) le Sphinx de l'Epilobe (*Proserpinus proserpina* Pallas, 1772) (cliché M.-E. Petit).

D'autres espèces d'insectes ont été observées aux abords et dans les EF et présentées dans la figure 3.1.18. (page suivante)

De nombreux animaux ont aussi été observés ponctuellement dans les ZHA tels que des grenouilles, des dytiques (larves et adultes), différents types d'araignées et d'escargots, des vers de terre, des lézards... Des excréments d'oiseau ont été observés sur le pourtour en bois des EF, les oiseaux semblent y séjourner. Des excréments de ragondin ont été retrouvés dans les EF, certains *E. hirsutum* ont été arrachés et leurs racines consommées. Il semblerait que les ragondins se nourrissent de ses racines.

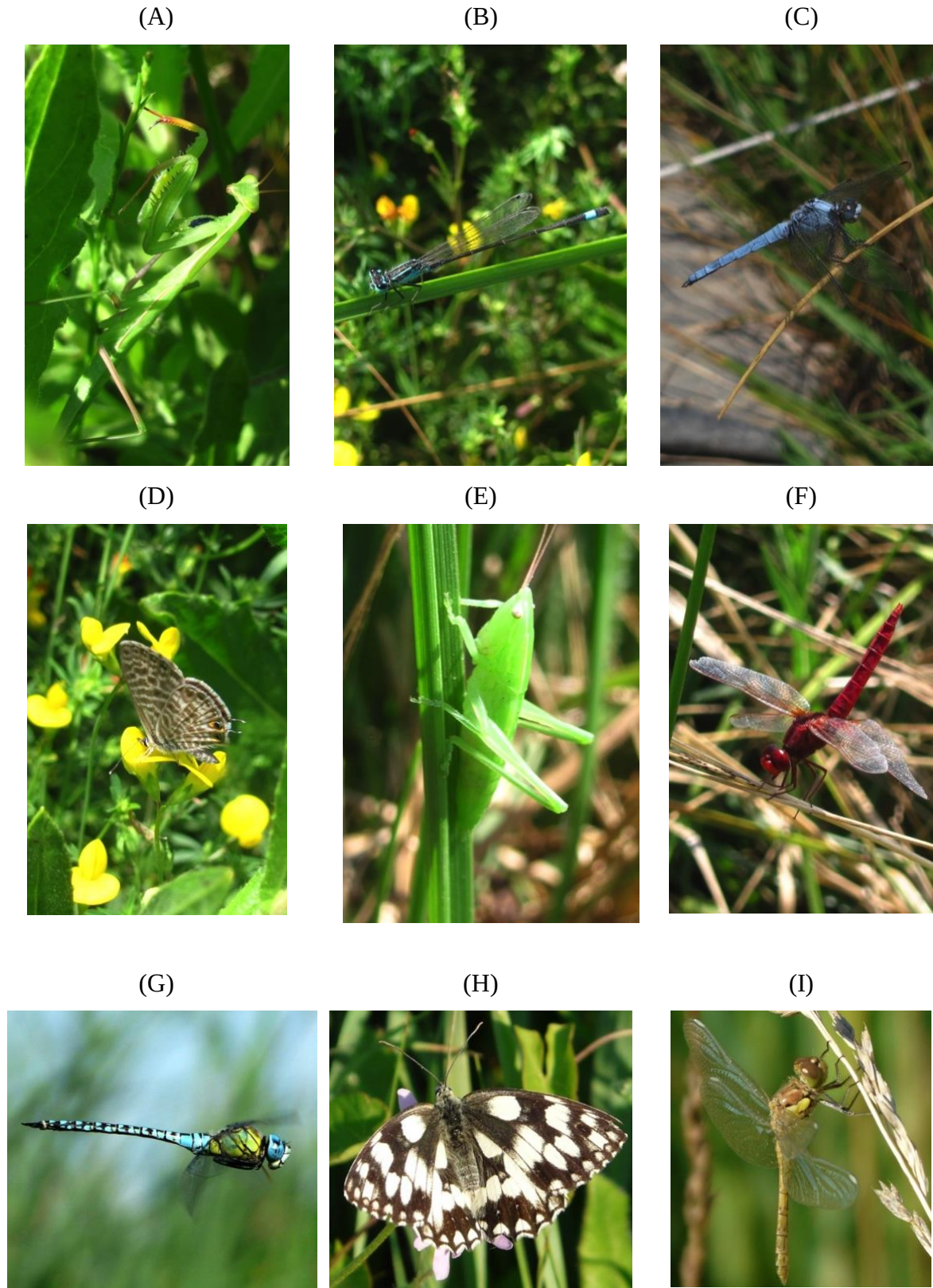


Figure 3.1.18. : (A) *Mantis religiosa*, (B) *Ischnura elegans*, (C) *Orthetrum brunneum*, (D) *Leptotes pirithous*, (E) *Ruspolia nitidula* juvenile et (F) *Crocothemys erythraea* (clichés M. Tardy et M.E. Petit) observés le 22 juillet 2015 ; (G) *Aeshne* affine (*Aeshna affinis*), (H) Demi-Deuil (*Melanargia galathea*) et (I) Sympétrum strié (*Sympetrum striolatum*) (identifications et clichés par P. Höhener) observés le 12 juin 2017.

Les ZHA constituent donc un habitat d'une riche diversité d'invertébrés et de vertébrés. Il est fort probable qu'ils en assurent certaines fonctionnalités. Les insectes et les vers contribuent au processus de traitement en fragmentant les détritux et en consommant de la matière organique (Davis, 1995). Les larves de nombreux insectes sont aquatiques et consomment des quantités importantes de matière organique lors de leurs stades larvaires. Les invertébrés remplissent également un certain nombre de rôles écologiques : par exemple, les nymphes de libellules sont des prédateurs importants de larves de moustiques (Benke, 1978). Bien que les invertébrés soient les animaux les plus importants en ce qui concerne l'amélioration de la qualité de l'eau, les ZHA attirent également une variété d'amphibiens, d'oiseaux et de mammifères. Suite à cette étude préliminaire, il apparaît que des études plus poussées sur l'action d'autres compartiments biotiques que les plantes et le phytoplancton devraient être réalisées.

3.1.5 Coordination entre Maitre d'Ouvrage et Maitre d'Œuvre dans la mise en place d'une ZHA

Compte-tenu des nombreux problèmes rencontrés lors du suivi des EF révélant des défauts de conception, il apparaît nécessaire de mener une réflexion sur la mise en place du site pilote afin de tirer parti des erreurs commises et de ce retour d'expérience, pour pouvoir en retirer une méthodologie évitant ces écueils.

Dans le cadre de deux thèses, une convention entre Aix-Marseille Université, la société ECO-MED, la société STOGAZ et le bureau d'étude BlueSET a été signée. Ces différents acteurs se sont mobilisés pour développer un outil d'ingénierie écologique pour contribuer à la restauration écologique du marais des Paluns, une étape consistant à installer un site pilote constitué par les EF. Pour réaliser les EF de ce site pilote, le maître d'ouvrage (laboratoire IMBE d'Aix-Marseille Université) a collaboré avec le bureau d'étude BlueSET, le maître d'œuvre. Conjointement, ils ont dimensionné et conçu ces ouvrages pour un suivi scientifique et l'étude du fonctionnement des ZHA en milieu méditerranéen. Une fois les plans réalisés, la construction du site pilote est l'étape suivante. Pour établir une coordination entre les acteurs, le maître d'ouvrage doit définir précisément les besoins scientifiques nécessaires pour l'étude des EF et le maître d'œuvre doit aussi définir précisément les contraintes techniques liées à la réalisation de cet outil. En effet, la réalisation d'un site pilote pour une demande scientifique

par un bureau d'études de maîtrise d'ouvrage classique augmente les contraintes techniques (e.g. réalisabilité, prise en compte des dispositifs de suivi). La rédaction d'un cahier des charges détaillé commun peut être un outil d'échanges répondant à ce besoin. Or un partenariat entre une entreprise privée et un laboratoire de recherche n'est pas chose aisée. Il y a un besoin de retour d'expériences sur le terrain entre les différents acteurs de la recherche et les entreprises partenaires (Petit et al., 2016).

3.1.5.1 Besoins de retours d'expériences sur le terrain

Les difficultés techniques liées au site et à la mise en place des systèmes d'assainissement par ZHA sont rarement mis en commun. Il serait fort intéressant de faire un état des lieux des ouvrages existants et un retour d'expérience en apportant d'avantage de précisions sur la maintenance et l'entretien de ces systèmes.

Dans le cadre de cette étude des effets de la multipollution sur les espèces végétales, divers suivis des effets engendrés par le stress ont été effectués (campagnes de mesures biométriques, suivis des phytométabolites). Or divers problèmes ont été rencontrés mettant en défaut les conditions semi-contrôlées permettant des comparaisons entre les EF : affaissement de la bâche et un déséquilibre du regard de dispersion. Pour maintenir les conditions semi-contrôlées nécessaire au suivi scientifique, des travaux ont dû être effectués sur le site pilote. Pour se faire la société BlueSET a proposé de mettre en place une structure en bois autour des filtres plantés pour maintenir la bâche. Or ceci imposait une contrainte technique qui est de retirer des plantes des filtres. Le déplacement des plantes peut induire un stress potentiellement létal (travaux réalisés en décembre 2015) et mettre en péril les suivis réalisés sur les EF. Ainsi s'est posée la question du choix de l'intervention. Les bénéfices des opérations de maintenance vont-elles contrebalancer les perturbations que leur mise en place engendre ? Un besoin de retour d'expérience semble indispensable. Pour répondre aux besoins du maître d'ouvrage, le maître d'œuvre doit connaître et être sensibilisé aux attentes de celui-ci tel que limiter l'introduction de contaminants exogènes ou l'impossibilité de déplacer les plantes pour la pérennité du suivi. Les solutions déterminées conjointement sont les suivantes : pour limiter l'introduction de contaminants, la provenance et l'origine des matériaux doivent être inventoriées. De plus un protocole lié à la gestion des plantes doit être fourni avec les travaux. Pour faciliter les échanges, un cahier des charges doit être alimenté régulièrement, consignait les choix et capitalisant le savoir-faire entre les deux partenaires.

3.1.5.2 Définir les besoins : cahier des charges

Lors des différentes phases du projet, le maître d'œuvre et le maître d'ouvrage peuvent émettre tous les deux des besoins. Le cahier des charges sert à formuler ces besoins et les expliquer aux différents acteurs du projet. Cet outil est un document décrivant les détails de projet partagé entre les partenaires. Il va décrire de la manière la plus précise et la plus compréhensive les besoins, les attentes et les contraintes en lien avec le projet. Or l'émetteur d'une information peut communiquer en message codé : filtre du langage, filtre de l'interprétation, filtre de la compréhension, etc (figure 3.1.14). Par exemple les universitaires ont l'habitude de communiquer de manière scientifique (e.g. article scientifique en anglais, protocole expérimental) avec un vocabulaire bien précis qui n'est pas forcément compréhensible de tous. Or pour qu'un projet se déroule sans encombre, le taux de perdition d'une communication verbale ou écrite doit être le plus bas possible.

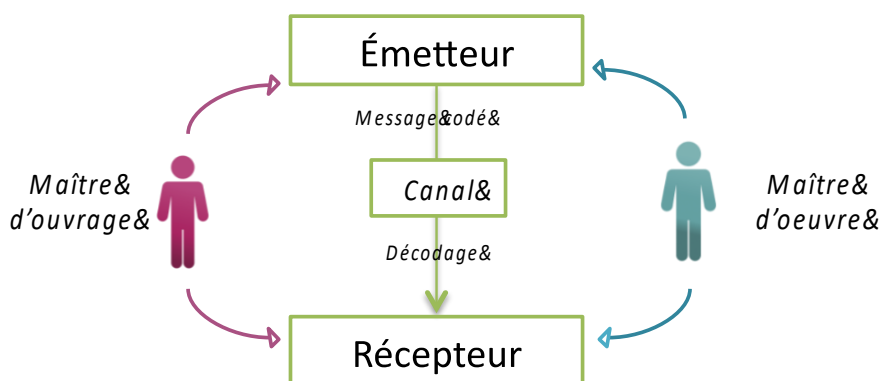


Figure 3.1.19 : Représentation des échanges entre le maître d'ouvrage et le maître d'œuvre (selon le modèle de Riley et Riley ; Picard, 1992).

Suite à ce partenariat, nous avons constaté un besoin de sensibiliser les acteurs aux contraintes de chacun par des formations ou des immersions dans les locaux (stage chantier, réalisation d'une expérimentation en laboratoire). Des formations à l'entretien, à la sécurité, destinées au personnel exploitant, données par les constructeurs sont vivement conseillées et doivent être intégrées dans les projets. La problématique d'intégration vise à l'accompagnement des ouvrages. Une attention particulière de la transmission de savoir lors de la phase de construction des ZHA et lors de leur exploitation devra être accordée.

3.1.5.3 Contraintes site SEVESO

Le site pilote a été construit sur une parcelle de terrain appartenant à la société STOGAZ S.A.S. C'est un site SEVESO (ICPE soumise à autorisation). L'installation des trois Eco-filtres sur une parcelle de STOGAZ présente plusieurs avantages. De fait, la parcelle est clôturée et donc protégée des risques de vandalisme (dans une zone géographique hautement soumise à ce risque). De plus, la proximité directe du site industriel STOGAZ a permis de raccorder électriquement le poste de relevage (gestion de pompe d'arrivée d'eau). Mais un site SEVESO présente aussi des contraintes. L'accès aux EF est limité et soumis à autorisation. L'accès au site est conditionné par une formation régulièrement actualisée consistant au visionnage d'une vidéo présentant les règles de sécurité à respecter dans l'enceinte et une validation des acquis. Le maître d'œuvre doit avant toute intervention déclarer l'ensemble de son matériel (limiter les appareils électroniques ou privilégier le matériel ATEX) et son plan de charge. De plus, il a une impossibilité d'intervenir seul, les entreprises extérieures à STOGAZ doivent être accompagnées d'un agent, ce qui représente un coût pour la société STOGAZ accueillant le site pilote. La conséquence directe de ce contexte est par exemple, qu'il n'a pas été possible d'installer de préleveur automatique ou tout équipement scientifique de mesure doté d'une batterie empêchant tout suivi en continu sur le site.

Il y a un réel besoin de retour d'expériences sur le terrain entre les différents acteurs de la recherche et les entreprises partenaires pour un partenariat productif. Des outils peuvent être mis en place pour améliorer les échanges entre les partenaires tel qu'un cahier des charges ou la mise en place d'un vocabulaire commun.

3.1.6 Conclusion

Les EF ont été conçus pour être identiques et construits pour être des répliqués. Lors des trois années de fonctionnement, ils ont été alimentés par des effluents identiques : ceci les rend donc comparables. Or l'étude de la variabilité structurelle a démontré des différences physiques entre les EF. Suite à leur installation, les dimensions de chaque EF ont été mesurées. Une différence a pu être mise en évidence. L'EFN est l'EF le plus grand des trois,

suivi de l'EFS et enfin de l'EFC. De plus le suivi des hauteurs d'eau a démontré que l'EFN est impacté par la nappe phréatique, cette dernière modifiant la pente du filtre. En conditions réelles, il est donc difficile de reproduire des systèmes identiques et de maîtriser l'ensemble des paramètres environnementaux. Il y a néanmoins la possibilité de limiter leur impact. En effet pour limiter la pression exercée par la nappe phréatique sur les EF, il aurait été préférable de construire une ZHA à minima à 1 m de la nappe phréatique. L'étude de la DTS des trois EF a mis en évidence des différences de fonctionnement après plus de trois années d'activité. L'EFN se démarque des deux autres EF. L'hypothèse d'une fuite relevée en fin 2015 a pu être démontrée grâce à cette étude. L'EFC et l'EFS se ressemblent malgré quelques différences minimales dans les patrons de sortie qui sont certainement liées au recouvrement et à la diversité des espèces végétales les colonisant. L'étude des paramètres physico-chimiques et des éléments majeurs dissous a démontré une variabilité saisonnière de ces paramètres dans les trois EF. Des expériences complémentaires pourraient compléter ce travail notamment des prélèvements selon un gradient vertical dans chaque cheminée de prélèvement pourraient être effectués pour déterminer si la végétation influence les caractéristiques de l'eau. Certaines déconvenues peuvent devenir des opportunités : la modification de l'alimentation en eau en 2015 a permis d'évaluer les effets d'un régime en effluent différencié sur le fonctionnement des EC (traité dans le chapitre 2). La phase de caractérisation des EF a donc permis de constater que même si dans un premier temps les EF ont été construits de façon identique, des différences peuvent s'accroître avec le temps et limiter leur répliquabilité.

Lors des expérimentations en conditions contrôlées, l'espèce *C. cuprina* présentait de nombreux avantages, le changement d'échelle a mis en évidence l'importance du maintien de certains paramètres pour la pérennité de cette espèce en conditions réelles. Le FV n'étant pas alimenté en eau de manière appropriée, les individus plantés dans le filtre mixte n'ont pas survécu. Le FV sous cette forme n'est donc pas fonctionnel. Pour bénéficier des propriétés liées aux FV, d'autres agencements devront être testés. De plus, les cinq espèces végétales implantées dans le filtre à écoulement horizontal ont présenté des différences de développement. Les espèces *C. cuprina* et *A. lanceolatum* n'ont pas survécu ou très peu contrairement aux espèces *I. pseudacorus*, *J. inflexus* et *E. hirsutum*. Les fréquences de ces dernières ont augmenté au cours du temps, elles se sont donc bien installées dans les FH des trois EF. Ces différences sont liées au fait que le développement et la persistance des espèces végétales sont contrôlés par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques. Ces facteurs incluent notamment la compétition pour la lumière intra et interspécifique pouvant favoriser

certaines espèces au dépend d'autres (Weihe et Neely, 1997). Les résultats obtenus en conditions réelles confortent donc le choix d'un cortège diversifié d'espèces végétales pour assurer la pérennité d'un certain nombre d'espèces, permettant d'assurer les fonctionnalités épuratrices du système. De plus l'EFS et l'EFC présentent les mêmes surfaces de recouvrement végétal (100%) contrairement à l'EFN (77% après trois années d'activité). Il a été démontré qu'un recouvrement plus dense permettait de limiter les variations de température à la surface de la pouzzolane. Ainsi les EF Sud et Centre isolent le filtre et permettent de limiter les perturbations des fonctionnalités épuratoires (Garfi et al., 2012). De plus le suivi de la population phytoplanctonique a montré que l'EFS et l'EFC ont une résilience plus importante que l'EFN face à la prolifération de cyanobactéries lors du stress hydrique estival. L'étude du phytoplancton est rarement envisagée au sein des ZHA mais les résultats obtenus dans les EF montrent l'intérêt d'étudier ce compartiment biotique.

Cette partie de la thèse a donc permis d'étudier les variabilités au sein de EF et faire un retour d'expérience quant à la création d'une ZHA. La suite de thèse aborde l'utilisation de ZHA dans un contexte de changement global. La seconde partie de la thèse consiste à analyser les résultats en conditions réelles en rapport avec la performance épuratoire et l'évaluation de l'outil de bioindication *E. hirsutum*.

Partie 3 :

Chapitre 2 : Réponse structurelle d'un filtre dans un contexte de changement hydrique

Une des conséquences des changements globaux ces dernières années, notamment en lien avec les activités anthropiques, est la transformation des régimes de précipitations dans le monde entier générant ainsi des changements climatiques (IPCC, 2014). Or les précipitations sont une ressource importante pour de nombreux écosystèmes, en particulier pour les zones humides. Le cycle hydrologique est un facteur clé pour maintenir l'intégrité des zones humides (Fossey et Rousseau, 2016). Selon la plupart des prédictions sur le changement climatique, au cours des prochaines décennies, il devrait y avoir des flux hydrologiques croissants (et par voie de conséquence des modifications des cycles hydrologiques), une intensification des phénomènes climatiques extrêmes qu'ils soient pluvieux ou de sécheresse (Fischer et Knutti, 2014, Roads et al., 2005) et aussi des changements dans la variabilité des précipitations interannuelles (Polade et al., 2015). Parallèlement, de nombreuses études ont identifié la région méditerranéenne comme l'une des régions les plus sensibles aux changements globaux (El Haité et al., 2016, Giorgi, 2006, Giorgi et Lionello, 2008). Cette vulnérabilité dépend principalement du cycle hydrologique, de sorte que les changements climatiques auront un effet décisif sur les sociétés et les écosystèmes (García-Ruiz et al., 2011). Les conséquences des changements de précipitations sont toutefois encore mal appréhendées.

Ainsi, il apparaît nécessaire de connaître les éléments structurants pour mieux prédire la réponse des écosystèmes aux futurs régimes de précipitation (Gerten et al., 2008) et de trouver des solutions pour adapter les ZHA aux évolutions climatiques (Guittonny-Philippe et al., 2014). Les ZHA utilisées pour le traitement des eaux usées provenant de bassins versants industrialisés dépendent en partie des précipitations. Ces systèmes d'ingénierie sont conçus pour fonctionner pleinement pour le volume de ruissellement, la taille du captage et les caractéristiques polluantes des eaux usées traitées (Greenway, 2004). Les changements dans les régimes de précipitation pourraient avoir des effets néfastes sur l'efficacité de l'élimination des polluants car le compartiment biotique (par exemple, la végétation et les assemblages microbiens) est lié à des conditions hydrologiques clairement définies. Dans le contexte du traitement secondaire des effluents industriels, les volumes et les débits peuvent déjà varier considérablement et ne pas compenser une perte de niveau d'eau. En outre, les projections du changement climatique sur la région méditerranéenne montrent que l'intensité des précipitations diminuera entre 7 et 25% en 2100 (Giorgi et Lionello, 2008).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été de fournir une étude préliminaire de l'effet de la variation de l'approvisionnement en eau (correspondant aux scénarios extrêmes de changement climatique) sur la charge nutritive, les plantes et les communautés de phytoplancton. L'hypothèse est qu'une interaction spécifique existe entre « approvisionnement en eau » et « charge nutritive », conduisant à des changements significatifs dans la composition de la communauté des phytoplanctons et des plantes ; pour cela, les deux paramètres ont été testés conjointement. Par conséquent, nous avons évalué expérimentalement l'effet de différents régimes d'eau sur la biocénose des ZHA du site pilote en conditions méditerranéennes.

Chaque Eco-filtre (EF) a été conçu pour traiter et recevoir 1 m³ par jour d'effluent industriel. Après quatre mois de fonctionnement régulier (pour obtenir des EF stabilisés), différents volumes du même effluent pré-traité ont été répartis de manière inégale dans chacun des trois EF pendant 21 mois, afin de mimer deux scénarios différents par rapport à un EF de référence : l'EFC a reçu 1 m³ par jour (approvisionnement normal en eau), l'EFS a reçu 23% d'eau de plus que la normale (régime pluviométrique accru) et l'EFN a reçu 30% moins d'eau que la normale (régime de stress hydrique accru).

3.2.1 Variations des paramètres environnementaux

La chimie de l'eau est un déterminant majeur de la composition des communautés dans les habitats des zones humides et les pics de richesse des espèces végétales au pH intermédiaire (El Haité et al., 2016). Cependant, sous le climat méditerranéen, les flux sont physiquement, chimiques et biologiquement définis par des événements séquentiels, prévisibles et saisonniers d'inondations et de sécheresses au sein du cycle hydrologique (Delgado et al., 2012) qui modifient la chimie de l'eau.

Afin d'étudier les variations des paramètres physico-chimiques et des éléments majeurs dissous de l'eau dans les cheminées de prélèvement lors d'un régime hydrique différencié, une Analyse en Composantes Principale (ACP) a été réalisée. Les résultats graphiques de cette ACP sont représentés dans la figure 3.2.1.

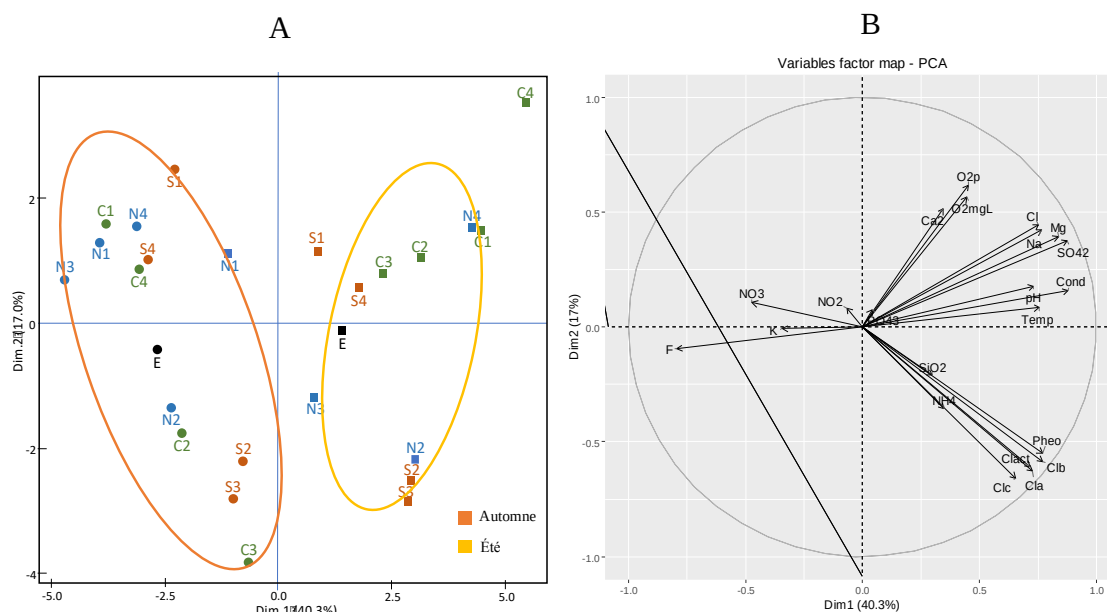


Figure 3.2.1 : Représentations graphiques des résultats de l'ACP des données physico-chimiques et des éléments majeurs dissous des quatre cheminées de prélèvement des EF en hiver et en été 2015. (A) Projections des individus dans le plan factoriel Dim1 et Dim 2, (B) le cercle des corrélations des variables associées à l'ACP. E = Effluent cheminée de prélèvement du BIA ; S = EFS ; C = EFC ; N = EFN ; 1, 2, 3 et 4 = n° des cheminées de prélèvement ; ● = automne ; ■ = été Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}$) = conductivité électrique ; Temp. ($^{\circ}\text{C}$) = température ; O_2 (%) = pourcentage d'oxygène dissous ; O_2 (mg/L) = concentration en oxygène dissous ; F = fluor (mg/L); NO_3^- = nitrate (mg/L); NO_2 = dioxyde d'azote (mg/L); K^+ = potassium (mg/L); Ca^{2+} = calcium (mg/L); PO_4^{3-} = phosphate (mg/L); Cl^- = ion chlorure (mg/L); Na^+ = sodium (mg/L); Mg^{2+} = magnésium (mg/L); SO_4^{2-} = sulfate; SiO_2 = dioxyde de silicium (mg/L); NH_4^+ = ammonium (mg/L); Pheo = phéopigments ($\mu\text{g}/\text{L}$); Cla = chlorophylle a ($\mu\text{g}/\text{L}$); Clb = chlorophylle b ($\mu\text{g}/\text{L}$); Clc = chlorophylle c ($\mu\text{g}/\text{L}$); Clact = chlorophylle a active ($\mu\text{g}/\text{L}$).

L'étude des valeurs propres révèle un jeu de données équilibré entre les deux premières composantes principales (respectivement 40,3% et 17%). Les trois premières composantes principales totalisent 67,6%. Seul le premier plan factoriel Dim1xDim2 de l'ACP est étudié. Une analyse en composante principale (ACP) des facteurs environnementaux aquatiques a souligné les principales tendances entre les Eco-filtres et entre les distributions spatiales des espèces végétales dans les Eco-filtres (figure 3.2.1). La première composante (Dim1) explique 40,3%. L'oxygène dissous et le calcium y contribuent positivement. La seconde composante (Dim2) explique 17%. Des corrélations positives ont été trouvées entre la conductivité, le pH et la température et les corrélations négatives entre la conductivité et le fluor, mais ces paramètres n'étaient pas corrélés avec les teneurs en pigments (chlorophylles actives, phéopigment, Chlorophylles a, b et c), dioxyde de silicium, ammonium et oxygène dissous.

Les deux campagnes d'échantillonnage ont été regroupées en fonction de la température, du pH et de la conductivité : faible en automne et haute en été même si dans C4J (échantillon mesuré en été dans EFC, cheminée 4 : BI) les conditions physico-chimiques étaient légèrement différentes des autres. On distingue une variabilité saisonnière des paramètres suivis, mise en évidence par les cercles de couleurs associés aux saisons respectives. Le suivi de la conductivité semble être un paramètre important pour évaluer le devenir des métaux lourds en raison de leur précipitation ou de leur concentration pendant de longues périodes de sécheresse telles que rapportées par Mulamoottil et al. (1998). En été, les effluents sont plus concentrés, de sorte que la conductivité est plus élevée qu'en automne. En ce qui concerne les paramètres de l'effluent, il n'y a aucune différence de qualité de l'eau entre l'été et l'automne, en raison de sa grande stabilité.

L'été a été caractérisé par une température, un pH et une conductivité élevés et par de faibles concentrations de fluor, en potassium et en nitrate. En hiver, les conditions physico-chimiques dans les Eco-filtres étaient parfois très différents de l'été ; par exemple, dans les échantillons d'été, les concentrations de chlorophylle étaient bien plus élevées qu'en hiver. La concentration en chlorophylle est généralement mesurée comme une représentation de la dynamique du phytoplancton et c'est un indice de la productivité et des conditions trophiques de l'eau douce (Sala et al., 2013). En conséquence, nous avons observé un développement plus élevé du phytoplancton en été qu'en hiver au sein des Eco-filtres.

En automne, dans les cheminées 2 et 3 (c'est à dire celles localisées dans le FH), l'oxygène dissous était faible. En effet l'oxygène a pu être consommé pendant les processus de dégradation avec pour conséquence une chute de la teneur en oxygène dans les ZHA (Bulc, 2006). Au cours de la saison hivernale, le transfert réduit d'oxygène, dû à une diminution de l'activité des plantes, comme l'échange de gaz est influencé par la température, peut être réduit dans les FH (Ouellet-Plamondon et al., 2006).

En été, les cheminées 2 et 3 de l'EFC ont montré des concentrations d'O₂ et Mg²⁺ plus élevées et des concentrations inférieures en chlorophylle que dans les autres EF. Mg²⁺ joue un rôle important dans les processus physiologiques et biochimiques dans la croissance et le développement des plantes en tant que constituant essentiel de la biosynthèse des chlorophylles (Cakmak et al., 2010). Une concentration plus élevée de Mg²⁺ dans l'EFC peut indiquer sa moindre utilisation par rapport à celles dans l'EFS et l'EFN pour la biosynthèse des chlorophylles chez les plantes et/ou le phytoplancton. De plus, l'absorption de Mg²⁺ par

les plantes et le phytoplancton est très dépendante des espèces (Reuter et Robinson, 1997), une communauté végétale différenciée peut induire une assimilation différente de Mg^{2+} . *Spirogyra* sp., une des espèces principales de EFN (c.f. partie 3.2.2.), est riche en chlorophylles a et b (qui sont une de ces caractéristiques d'identification). Pour produire ces pigments, ces espèces doivent assimiler le Mg^{2+} dans l'eau douce ce qui fait diminuer sa concentration dans l'EFN.

Les valeurs optimales de la plage de température et de l'intensité de la lumière pour une libération maximale d'oxygène au niveau des racines des hélophytes varient selon les espèces et en fonction des conditions environnementales spécifiques (Rehman et al., 2017). En été, EFC semble avoir les meilleures conditions environnementales pour la libération maximale d'oxygène par les communautés végétales. EFC, avec l'approvisionnement en eau de référence, pourrait potentiellement fonctionner de manière optimale pour un processus d'assainissement contraire à EFN et EFS où la diffusion d'oxygène était perturbée.

Il existe une variabilité saisonnière des paramètres physico-chimiques et des éléments majeurs dissous pour les trois EF. De plus l'EFC, EF de référence, semble présenter les meilleures conditions environnementales pour la libération d'oxygène contrairement aux EF dont le régime hydrique est perturbé

3.2.2 Effet sur le phytoplancton

Comme il l'a été souligné dans le chapitre précédent, le phytoplancton joue un rôle central dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Il est notamment utilisé comme indicateur de la qualité biologique et écologique de l'eau (Directive 2000/60/CE).

3.2.3.1 Variation de la diversité phytoplanctonique

Le nombre d'espèces phytoplanctoniques identifiées dans les EF et le pourcentage de richesse spécifique totale sont présentés dans le tableau 3.2.1.

Tableau 3.2.1 : Nombre d'espèces phytoplanctoniques identifiées dans chaque éco-filtre et pourcentage de richesse spécifique totale (41 taxa)

Groupe phytoplanctonique	Nombre d'espèces identifiées dans chaque EF et pourcentage de richesse spécifique totale (%)			
	BIA	EFS (apport en eau augmenté)	EFC (Référence)	EFN (stress hydrique)
Bacillariophycées	20 (49%)	22 (54%)	21 (51%)	18 (44%)
Euglenophycées	4 (10%)	5 (12%)	6 (15%)	4 (10%)
Chlorophycées	2 (5%)	3 (7%)	3 (7%)	1 (2%)
Cyanobactéries	1 (2%)	1 (2%)	0	1 (2%)
Dinophycées	0	1(2%)	1 (2%)	0
Richesse spécifique	27 (66%)	32 (78%)	31 (75%)	24 (59%)

Quarante et un taxons d'algues appartenant à cinq divisions c'est-à-dire les Bacillariophycées (Diatomées), les Chlorophycées, les Cyanophycées, les Euglénophycées et les Dinophycées ont été identifiés et comptés à partir de 26 échantillons prélevés.

Après 14 mois de conditions hydriques différentielles, les groupes Dinophycées, Euglenophycées, Chlorophycées et Cyanophycées ne diffèrent pas significativement entre les trois Eco-filtres (test de Dunn, $p > 0,05$). La densité cellulaire des diatomées diffère significativement avec celle des autres groupes ($p < 0,001$). Les diatomées correspondent au groupe le plus diversifié de la communauté phytoplanctonique dans les EF avec 27 taxons identifiés représentant environ 66% de la richesse taxonomique totale. Dans les autres groupes, six espèces appartenant aux Chlorophycées (algues vertes) représentent environ 15% de la biodiversité totale, six taxons pour Euglenophycées et, un chacun, pour les Cyanophycées, les Chrysophycées et les Dinophycées (tableau 3.2.1).

Le nombre d'espèces de phytoplancton est le plus élevé dans le EFS dans lequel 32 espèces (78% du total des espèces) appartenant aux cinq groupes ont été trouvées. Parmi ceux-ci, les Bacillariophycées, les Euglénophycées, les Chlorophycées et les Cyanophycées représentent respectivement 54%, 12%, 7% et 2% du nombre total d'espèces. Dans l'EF de référence (EFC), le nombre d'espèces était de 31, principalement des Bacillariophycées (51% du total des espèces) et les Euglénophycées (15%). Le nombre d'espèces de phytoplancton était le plus bas dans l'EF recevant le moins d'eau (EFN) dans lequel seules 24 espèces (58,5% du total

des espèces) appartenant à quatre groupes ont été observées nominativement : les Bacillariophycées, les Euglénophycées, les Chlorophycées et les Cyanophycées représentant 44%, 10%, 2% et 2% respectivement. Par conséquent, la richesse en espèces du EFN semble être inférieure aux deux autres.

Il est connu que le phytoplancton joue un rôle central dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes humides : par exemple, c'est le principal producteur primaire des plans d'eau douce et il est au centre des services écologiques et biogéochimiques des écosystèmes aquatiques (Reynolds, 2006). Par conséquent, les espèces de phytoplancton constituent le fondement du réseau trophique et sont l'un des principaux moteurs du cycle des éléments. L'échelle et la fréquence des changements dans les conditions lumineuses, les concentrations de nutriments, la structure physique et la prédation affectent la croissance et sont liées à l'écologie du phytoplancton (qualité et quantité). Par conséquent, la surveillance du phytoplancton est fréquemment utilisée comme indicateur de qualité biologique et chimique de l'eau dans les étangs méditerranéens (Blanco et al., 2004) pour la corrélation de sa diversité avec les facteurs environnementaux (Souza et al., 2008).

L'EFS présente une diversité phytoplanctonique plus grande que l'EF de référence (EFC) et l'EFN.

3.2.3.2 Variation de la densité du phytoplancton

La densité cellulaire des espèces majoritaires par groupe dans chaque EF et le pourcentage d'abondance associé sont présentés dans le tableau 3.2.2.

Les quatre espèces ayant les pourcentages de contribution les plus élevés pour chaque EF sont *Achnanthes minutissimum*, *Fragilaria ulna*, *Melosira varians* et *Spyrogyra* sp. (Tableau 3.2.2 ; figure 3.2.2).

Tableau 3.2.2 : Densité cellulaire des espèces majoritaires par groupe dans chaque éco-filtre et pourcentage d'abondance

Espèces (phylum)	Densité cellulaire (cellule.L ⁻¹) dans chaque éco-filtre et pourcentage d'abondance		
	EFS (apport en eau augmenté)	EFC (Référence)	EFN (stress hydrique)
<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Bacillariophycées)	1080 (<1%)	15240 (24%)	2120 (4%)
<i>Fragilaria ulna</i> (Bacillariophycées)	53670 (19%)	6203 (10%)	10050 (17%)
<i>Melosira varians</i> (Bacillariophycées)	174450 (63%)	16855 (27%)	4055 (7%)
<i>Spirogyra</i> sp. (Chlorophycées)	0 (0%)	2100 (3%)	21000 (36%)

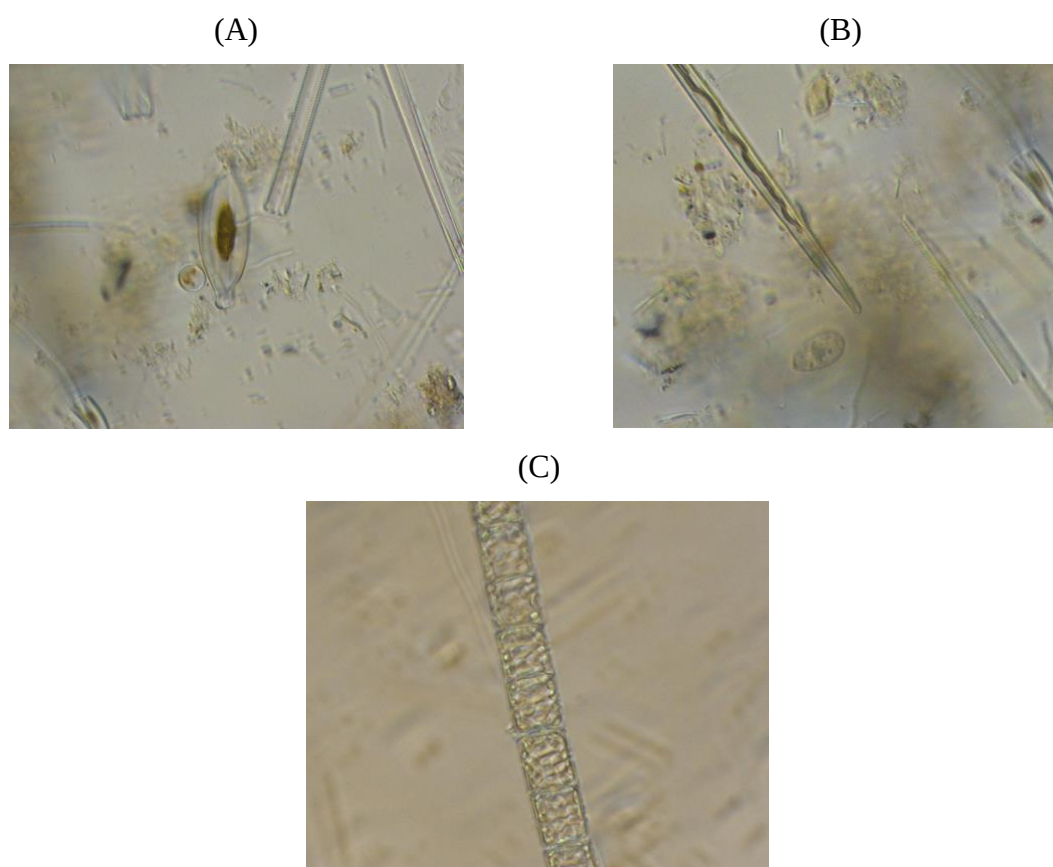


Figure 3.2.2. : Photographies des trois espèces majeures observées dans les EFC au microscope inversé (grossissement 400X) (A) *Achnanthydium minutissimum*, (B) *Fragilaria ulna* et (C) *Melosira varians*.

M. varians est l'espèce principale dans l'EFS (densité cellulaire moyenne de 174450 cellule.L⁻¹) et le CEF (16855 cellule.L⁻¹). Cette espèce de diatomées est un tychoplancton (Reynolds 2006) spécifique d'habitats peu profonds et perturbés, exposés à l'action des houles, avec des ressources élevées (Passy, 2007). *M. varians* est un organisme vivant libre ou attaché à des hôtes de type macrophytes (diatomées épiphytes) et c'est une diatomée tolérante qui est plus influencée par des facteurs environnementaux que par des organismes non planctoniques (Eminson et Moss, 1980). Cette espèce a des fluctuations saisonnières distinctes en abondance (dominant l'été et l'hiver) et n'est pas spécifique à l'hôte (Passy et al., 1999).

La deuxième espèce majeure dans l'EFC est *A. minutissimum*, avec 15240 cellule.L⁻¹. Dans l'EFS et l'EFN, cette espèce est peu présente. Elle présente une abondance <1% et 4% respectivement pour chaque EF. Cette diatomée est utilisée pour évaluer les impacts anthropiques à cause de sa sensibilité aux eaux polluées (Passy et Bode, 2004) et est souvent dominante dans les rivières oligo/mésotrophes (Kelly et Whitton, 1995). *A. minutissimum* est donc proportionnellement plus abondant dans des eaux de meilleure qualité (Delgado et al., 2012).

La deuxième espèce majeure dans les EFS et EFN est *Fragilaria ulna* (19% et 17% du total des individus, respectivement) mais représentant seulement 10% du total des individus dans EFC. Cette diatomée commune montre une tolérance élevée à de nombreux environnements et est abondante dans les systèmes soumis à des perturbations multiples (Biggs, 1995). Ce n'est pas un bioindicateur de perturbations.

Spirogyra sp. est la principale espèce dans l'EFN. Cette macroalgue verte filamenteuse est omniprésente dans les habitats d'eau douce. Ce genre se trouve communément dans de petits ruisseaux ou fossés d'eaux peu profondes stagnantes (Hoshaw et McCourt, 1988). L'identification des espèces du genre *Spirogyra*, basée uniquement sur des caractéristiques morphologiques, est difficile, prend beaucoup de temps, requiert des compétences élevées et reste peu fiable en raison de sa complexité (Hainz et al., 2009). Cependant, certaines espèces de *Spirogyra* ont un fort potentiel en tant qu'indicateur de la qualité biologique de l'eau douce, comme *S. majuscula*, qui préfère des eaux pauvres en nutriments alors que *S. granulata* tolère la pollution (Simons et Van Beem, 1990). Dans notre étude, nous n'avons pas pu aller en-deça du genre, ce qui limite la capacité à conclure sur le potentiel indicateur dans les EF.

Les taxons tolérants comme *M. varians* et *F. ulna* sont connus pour augmenter au fur et à mesure que les nutriments augmentent, alors que les taxons sensibles (comme *A. minutissimum*) diminuent (Delgado et al., 2012). *M. varians* et *F. ulna*, taxons tolérants, ont une abondance élevée dans le EFS et *F. ulna* et *Spirogira* sp. ont une abondance élevée dans le EFN. Ces réponses mettent donc en évidence un phénomène correspondant à une transition d'espèces par rapport à l'EF de référence (EFC) lorsqu'il y a des environnements modifiés (EFN et EFS) au lieu de changements au sein des assemblages d'espèces sensibles.

La densité cellulaire des grands groupes de phytoplancton dans chaque EF est présentée dans le tableau 3.2.3.

Tableau 3.2.3 : Densité cellulaire (cellule.L⁻¹) des grands groupes de phytoplancton dans chaque EF.

Phylum	Densité cellulaire (cellule.L ⁻¹) dans chaque EF		
	EFS (apport en eau augmenté)	EFC (Référence)	EFN (stress hydrique)
Bacillariophytae	265633	51088	32290
Euglenophytae	2700	1680	1120
Chlorophytae	8100	9750	21000
Cyanobacteries	1350	0	4500
Dinophytae	90	90	0

La densité totale des cellules (277873 cellule.L⁻¹) dans le EFS est significativement différente de celles relevées dans EFN et EFC (test de Dunn, $p < 0,01$). Les densités moyennes totales de cellules dans EFN (58910 cellule.L⁻¹) et EFC (62637 cellule.L⁻¹) ne sont pas significativement différentes (test de Dunn, $p > 0,05$). La densité cellulaire des Chlorophycées est plus élevée dans le EFN que dans les autres EF (tableau 3.2.3), ce phylum correspond à des algues pigmentées vertes à teneur élevée en chlorophylles a et b (Reynolds, 2006). *Spirogira* sp. est un genre d'algues vertes de l'ordre *Zygnematales* (Tipnee et al., 2015) et était la principale espèce de NEF (tableau 3.2.2).

Lorsque le régime en eau est perturbé pour le EFS et le EFN, les communautés de phytoplancton semblent passer à des assemblages adaptés à des environnements modifiés au lieu de favoriser des assemblages sensibles dans l'Eco-filtre de référence (EFC).

3.2.3 Effet sur la végétation

Dans les ZHA, les héliophytes jouent un rôle clé dans le traitement des eaux usées grâce, notamment, à l'absorption de métaux lourds et la libération d'oxygène par les racines favorisant la dégradation des polluants organiques. Les macrophytes affectent indirectement et directement les microorganismes et le phytoplancton en régulant les conditions physico-chimiques de l'environnement (oxygène dissous, pH, température et carbone), ce qui génère une variabilité au sein des microorganismes épiphytes et dans les interactions plantes-phytoplancton (Greenway, 2004).

Les espèces recensées en été 2015 dans les différents FH de chaque EF sont présentées sous forme de fréquence et espèces sont reportés dans le Tableau 3.2.4. (page suivante)

Les espèces recensées en hiver 2015 dans les différents FH de chaque EF sont présentées sous forme de fréquence et sont reportés dans le Tableau 3.2.5.

Les cinq espèces de plantes locales introduites volontairement dans nos systèmes se sont maintenues dans les trois Eco-filtres, quelle que soit la saison et le régime de l'eau, montrant que notre système de sélection d'espèces végétales tolérantes adaptées aux ZHA méditerranéennes avait été efficace (tableau 3.2.4 et tableau 3.2.5). Toutefois, après deux années, quel que soit le régime hydrique considéré, les espèces *A. lanceolatum* et *C. cuprina* présentent des fréquences inférieures aux autres espèces végétales introduites (en cohérence avec ce qui a été décrit au chapitre précédent). En été, deux espèces adventives se sont particulièrement bien acclimatées aux conditions présentes dans les EF : *H. echinoides* et *H. nodiflorum*. En revanche EFN semble ne pas présenter les conditions nécessaires à la croissance de l'espèce : *H. nodiflorum* aucun individu n'a été inventorié dans cet EF en été (tableau 3.2.4) ou en hiver (tableau 3.2.5).

Les trois ZHA à petite échelle ont le même média poreux (la pouzzolane) et le même type de végétation selon un même arrangement au début de l'expérimentation. Mais avec le temps et l'approvisionnement en eau différent, l'organisation spatiale et la densité de la végétation finissent par contraster entre les trois Eco-filtres (tableau 3.2.4 et tableau 3.2.5).

Les variations de la diversité végétale entre l'été et l'hiver se sont produites principalement en raison de l'apparition de certaines plantes annuelles adventives, mais ce n'est pas significatif par rapport au principal paramètre structurant, à savoir l'approvisionnement en eau.

Tableau 3.2.4 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en été 2015 pour chaque EF.

Taxon	EFS	EFC	EFN	Espèces introduites	Espèces adventives
<i>Alisma lanceolatum</i> L., 1796	25	13	25	x	
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl, 1819	10	20	0		x
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R.Br., 1810	43	13	3		x
<i>Carex cuprina</i> (Sandor ex Heuff.) Nendtv. ex A .Kern., 1863	18	20	23	x	
<i>Convolvulus arvensis</i> L., 1753	18	0	10		x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers., 1805	3	0	0		x
<i>Daucus carota</i> L., 1753	10	0	18		x
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter, 1973	5	0	0		x
<i>Epilobium hirsutum</i> L., 1753	53	63	38	x	
<i>Geranium robertianum</i> subsp. <i>robertianum</i> , 1753	0	0	0		x
<i>Helminthotheca echinoides</i> (L.) Holub, 1973	48	23	5		x
<i>Helosciadium nodiflorum</i> (L.) W.D.J.Koch, 1824	48	30	0		x
<i>Holcus lanatus</i> L., 1753	15	0	0		x
<i>Hordeum secalinum</i> Schreb., 1771	3	3	0		x
<i>Iris pseudacorus</i> L., 1753	53	45	30	x	
<i>Juncus inflexus</i> L., 1753	63	50	38	x	
<i>Lysimachia arvensis</i> (L.) U. Manns & Anderb.	3	3	0		x
<i>Persicaria bistorta</i> (L.) Samp., 1913	0	3	0		x
<i>Plantago coronopus</i> L., 1753	5	0	5		x
<i>Plantago media</i> L., 1753	3	3	0		x
<i>Poa pratensis</i> L., 1753	23	20	0		x
<i>Poa trivialis</i> L., 1753	18	8	0		x
<i>Polypogon maritimus</i> Willd., 1801	5	3	0		x
<i>Ranunculus marginatus</i> d'Urv, 1822	0	0	0		x
<i>Rumex crispus</i> L., 1753	5	5	10		x
<i>Tripolium pannonicum</i> (Jacq.) Dobrocz., 1962	13	10	3		x
<i>Verbena officinalis</i> L., 1753	3	0	0		x

Tableau 3.2.5 : Fréquence des espèces végétales inventoriées sur les FH des trois EF en hiver 2015 pour chaque EF.

Taxon	EFS	EFC	EFN	Espèces introduites	Espèces adventives
<i>Alisma lanceolatum</i> L., 1796	4	19	15	x	
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl, 1819	7	0	0		x
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R.Br., 1810	0	0	0		x
<i>Carex cuprina</i> (Sandor ex Heuff.) Nendtv. ex A .Kern., 1863	37	37	41	x	
<i>Convolvulus arvensis</i> L., 1753	0	4	0		x
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers., 1805	7	11	0		x
<i>Daucus carota</i> L., 1753	37	19	26		x
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter, 1973	7	0	0		x
<i>Epilobium hirsutum</i> L., 1753	78	93	63	x	
<i>Geranium robertianum</i> subsp. <i>robertianum</i> , 1753	4	0	0		x
<i>Helminthotheca echioides</i> (L.) Holub, 1973	15	15	11		x
<i>Helosciadium nodiflorum</i> (L.) W.D.J.Koch, 1824	70	59	0		x
<i>Holcus lanatus</i> L., 1753	4	0	0		x
<i>Hordeum secalinum</i> Schreb., 1771	0	0	0		x
<i>Iris pseudacorus</i> L., 1753	78	67	63	x	
<i>Juncus inflexus</i> L., 1753	81	74	63	x	
<i>Lysimachia arvensis</i> (L.) U. Manns & Anderb.	15	0	0		x
<i>Persicaria bistorta</i> (L.) Samp., 1913	4	0	0		x
<i>Plantago coronopus</i> L., 1753	7	0	4		x
<i>Plantago media</i> L., 1753	0	0	0		x
<i>Poa pratensis</i> L., 1753	7	11	0		x
<i>Poa trivialis</i> L., 1753	7	0	0		x
<i>Polypogon maritimus</i> Willd., 1801	0	0	0		x
<i>Ranunculus marginatus</i> d'Urv, 1822	4	0	0		x
<i>Rumex crispus</i> L., 1753	15	7	7		x
<i>Tripolium pannonicum</i> (Jacq.) Dobrocz., 1962	7	4	7		x
<i>Verbena officinalis</i> L., 1753	0	0	0		x

La richesse spécifique et l'indice de Shannon ont été déterminés et sont reportés dans la figure 3.2.3.

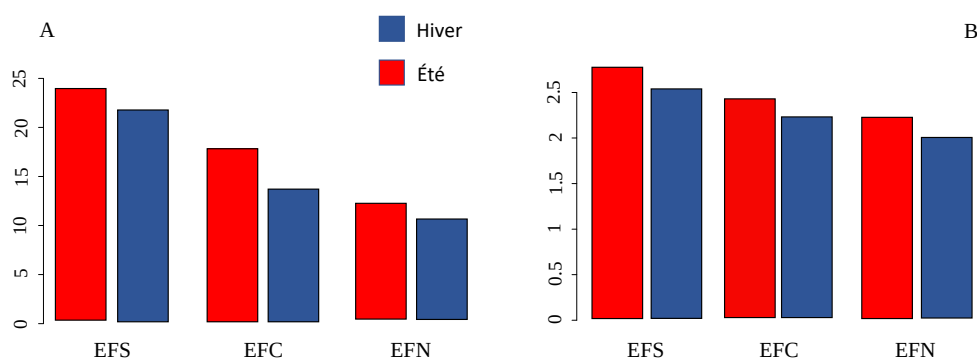


Figure 3.2.3. : Représentation graphique descriptive de la flore en fonction du régime hydrique appliqué par EF en été et en hiver 2015 : (A) Richesse spécifique et (B) Indice de Shannon.

En été et en hiver, pour le EFS (prévision pluviométrique accrue), des indices de richesse et de diversité des espèces plus élevés ont été observés par rapport à EFC correspondant à l'alimentation en eau normale (figure 3.2.3 A et B). Par contre, dans le EFN (prévision de sécheresse), les indices de diversité et de richesse des espèces ont diminué. Dans les ZH, le régime hydrique est un déterminant majeur du développement de la communauté végétale et des schémas de recouvrement des plantes (Casanova et Brock, 2000). Ces résultats sont conformes aux études antérieures concernant l'effet du régime hydrologique dans des ZHA collectant des eaux de pluies (Wong et al., 1999). En effet, dans cette étude, la distribution des plantes aquatiques était contrôlée par la profondeur de l'eau et la durée de l'inondation, les espèces ayant développé des préférences pour ces conditions particulières (Wong et al., 1999).

L'EFN se démarque par une perte d'espèces végétales qui pourraient diminuer l'efficacité d'élimination avec un risque de rejet de pollution dans l'environnement.

3.2.4 Conclusion

Nous avons évalué l'effet de différents régimes hydriques sur la charge nutritive, les plantes et les communautés de phytoplancton dans le pilote de ZHA constitué de trois EF en conditions méditerranéennes et à petite échelle pour le traitement des effluents industriels. La conception

de ZHA doit être axée sur la mise en place de systèmes écologiques et durables et visant à optimiser les processus biogéochimiques (Greenway, 2004). Mais dans le contexte des changements climatiques dans la région méditerranéenne, les écosystèmes des zones humides vont être perturbés tout comme les ZHA. L'effet principal que nous avons montré concerne la richesse des espèces, sous le régime du stress hydrique, à savoir la diversité floristique et phytoplanctonique diminuée quand l'apport en eau diminue. L'efficacité du traitement est étroitement liée à la dynamique naturelle et à la fonctionnalité des ZHA (*e.g.* oxygène dissous indispensable à la dégradation aérobie). Lorsque le régime en eau est perturbé, par défaut ou excès d'apport en eau, les communautés de phytoplancton semblent passer à des assemblages adaptés à des environnements perturbés. Ces variations conduisent à une perte d'espèces végétales, qui pourraient diminuer l'efficacité d'élimination de divers polluants (avec un risque de rejet accru de pollution dans l'environnement).

D'autres études pourraient être effectuées sur une longue période de temps et dans différentes conditions de contamination afin d'affiner nos résultats. De plus l'efficacité de traitement sous ces différentes conditions devrait idéalement être testée en couplant une analyse chimique des polluants entrant et sortant, ou une approche écotoxicologique, voire les deux.

Partie 3 :

Chapitre 3 :

Évaluation de l'efficacité épuratoire des Eco-filtres

En règle générale, le suivi et l'évaluation de l'efficacité épuratoire des ZHA sont complexes en raison de conditions environnementales variables, de différences dans les effets des plantes et des bactéries rhizosphériques associées et de la composition en contaminants (Zhang et al., 2010). Le suivi de l'efficacité épuratoire représente un challenge important dans les conditions expérimentales des trois EF. D'une part, les concentrations en polluants issues du bassin versant industrialisé sont relativement faibles, parfois situées à la limite des seuils de détection, positionnant l'étude dans la problématique du traitement de cocktail de polluants à faibles doses pouvant avoir des effets chroniques sur l'environnement mais probablement pas de toxicité aiguë. Or c'est justement à ce type de conditions chroniques que le système pilote doit apporter des solutions. D'autre part, les pollutions accidentelles peuvent entraîner l'écoulement ponctuel d'eaux très polluées pouvant modifier l'équilibre du système. Enfin des facteurs environnementaux peuvent modifier le fonctionnement du système et donc l'épuration (Akratos et Tsihrintzis, 2007 ; Wang et al. 2017).

Les analyses physico-chimiques des eaux usées permettent de qualifier et de quantifier les polluants présents dans l'eau mais elles ne donnent pas d'information concernant l'impact sur l'environnement (Laffont-Schwob et al., 2009). Les tests d'écotoxicité sont des outils efficaces pour l'évaluation de la réduction de toxicité des effluents avant et après le système de traitement (Mendonça et al., 2011). Le principe de ces tests repose sur la mise en contact d'échantillons environnementaux avec des organismes tests dans des conditions standardisées et de mesurer l'impact sur ces organismes. Les organismes testés peuvent avoir différents niveaux de sensibilité en fonction des paramètres physiologiques évalués (test de toxicité aiguë et/ou chronique) et doivent être choisis judicieusement afin d'éviter des tests inutiles. Ainsi les analyses physico-chimiques et les tests écotoxicologiques sont complémentaires pour une véritable évaluation de la qualité du traitement.

La mise en place de méthodologies écotoxicologiques adéquates par la sélection de tests d'écotoxicité à utiliser dans la caractérisation des eaux usées en amont et en aval de la ZHA est l'objet de ce chapitre. En 2016 un suivi de 36 jours a été réalisé sur les trois EF dans ce but, par l'évaluation de deux tests d'écotoxicologie et d'un outil de bioindication développé en conditions contrôlées. Dans un premier temps, les résultats des analyses de quantification des polluants organiques et inorganiques seront présentés, ainsi que les caractéristiques physico-chimiques de l'effluent entrant et des effluents sortants. Dans un second temps,

l'évaluation de deux tests d'écotoxicité sera traitée. Enfin, l'outil de bioindication *E. hirsutum* développé en conditions contrôlées (Guittonny-Philippe et al., 2015) sera évalué *in situ*.

3.3.1 Evaluation des performances épuratoires

L'étude de l'efficacité épuratoire des EF a été conduite à cheval sur le mois de juin et juillet 2016. Chaque semaine des prélèvements d'eau, nécessaire à la quantification des polluants organiques et inorganiques ainsi qu'aux tests d'écotoxicologie ont été effectués le même jour et à heure constante. Durant les 36 jours de suivis, des mesures de température, de pH et de conductivité ont été réalisés. À partir de T₁ (20/06/2016), la bâchée n'a plus eu lieu quotidiennement suite à une forte sécheresse. En effet, l'apport d'eau par les effluents industriels n'a pas suffisamment alimenté la roubine durant la période estivale pour alimenter les EF. Le Tableau 3.3.1 présente les hauteurs d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque EF en 2016. Le Tableau 3.3.2 correspond aux hauteurs d'eau mesurées le 11 juillet 2016 (T₄), après seulement trois semaines d'interruption de bâchée ainsi que le facteur de diminution par rapport à la hauteur moyenne en 2016. La hauteur d'eau dans les EF a diminué de 20 cm environ, il y a un facteur de diminution de 38% minimum (sauf pour l'EFN qui présentait déjà une hauteur plus faible en raison de la fuite).

Tableau 3.3.1 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) en 2016. Dans une même colonne, une lettre (a et/ou b et/ou c) indique que les hauteurs mesurées ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Filtre	Hauteur de l'eau dans les cheminées de prélèvement (cm)			
	1	2	3	4
EFS	41 ± 0,4a	44 ± 0,3a	47 ± 0,2b	45 ± 0,5b
EFC	40 ± 0,5a	44 ± 0,3a	50 ± 0,1a	50 ± 0,3a
EFN	32 ± 0,8b	35 ± 0,8b	44 ± 0,8c	40 ± 1c

Tableau 3.3.2 : Hauteur d'eau dans les cheminées de prélèvement de chaque Eco-filtre (cm) le 11 juillet 2016 et le facteur de diminution par rapport à la hauteur moyenne en 2016 (en %).

Filtre	Hauteur de l'eau dans les cheminées de prélèvement (cm) et le facteur de diminution en (%)			
	1	2	3	4
EFS	20 (51%)	22 (50%)	28 (41%)	20 (56%)
EFC	21 (48%)	24 (46%)	31 (38%)	30 (40%)
EFN	21 (34%)	27 (23%)	33 (25%)	31 (23%)

Cette diminution du niveau d'eau dans les EF peut entraîner un risque de concentration des solutés dans les eaux ainsi qu'une remobilisation des ETMM par oxydation des sulfures métalliques (Eggleton et Thomas, 2004). Le suivi et la quantification des polluants organiques et inorganiques ainsi que les tests d'écotoxicologie vont nous permettre de distinguer les effets engendrés par cette diminution du niveau d'eau dans les EF et de déterminer si celle-ci peut entraîner un risque pour l'environnement.

3.3.1.1 Quantification des polluants

L'évolution des concentrations en ETMM dissous dans l'eau de l'effluent rentrant (BIA) et des effluents sortants (BIS, BIC et BIN) sont présentée dans le Tableau 3.3.3.

Les concentrations d'ETMM dans les BI des trois EF respectent les valeurs seuils réglementaires des rejets industriels au milieu naturel de T₀ à T₃ (04/07/2016). À T₃, les concentrations en ETMM étaient inférieures à celle relevée dans le BIA : par exemple la concentration en aluminium est de 79 µg.L⁻¹ dans le BIC et de 344 µg.L⁻¹ dans le BIA. À T₄, le BIC présentait une concentration en Fe supérieure à la norme (EU, 1976) : la norme limite le rejet en Fe à 2500 µg.L⁻¹ et la concentration en Fe dans le BIC était égale à 6070 µg.L⁻¹. À T₅, la concentration en Fe des trois BI des EF était supérieure à la norme : pour le BIS, la concentration en fer était de 6580 µg.L⁻¹, pour le BIC de 5330 µg.L⁻¹ et pour le BIN de 7030 µg.L⁻¹. À T₅, seule la concentration en Zn dans le BIA était supérieure à la norme (2155 µg.L⁻¹). Dans les autres BI, les concentrations en Zn étaient inférieures à la norme. Il est à noter que les concentrations en Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni et Pb de T₀ à T₅ étaient inférieures à la norme.

L'étude des concentrations en ETMM dissous après quatre semaines d'interruption de bâchée met en évidence une augmentation de ces concentrations : pour le BIS à T₁ la concentration en Al était de 122 µg.L⁻¹ et à T₅ elle est de 1032 µg.L⁻¹. Entre les deux dates, il y a une augmentation de la concentration en Al d'un facteur 8 pour le BIS. Cette augmentation n'est pas observable pour tous les autres métaux. Il y a aussi des augmentations plus faibles : par exemple, pour le BIA, la concentration en Cd à T₁ était de 0,49 µg.L⁻¹ et de 1,56 µg.L⁻¹. La concentration en Cd a triplé entre les deux dates. L'étude des concentrations en ETMM dissous dans l'eau a mis en évidence une augmentation des concentrations des ETMM dans les BI suite à l'absence de bâchée.

Tableau 3.3.3 : Évolution des concentrations en ETMM dissous au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI : Al (aluminium), As (arsenic), Cd (cadmium), Cr (chrome), Cu (cuivre), Fe (fer), Ni (nickel), Pb (plomb) et Zn (zinc). Une concentration suivie d'une * est supérieure aux seuils réglementaires (European Union, 1976).

Date	BI	Concentration des ETMM dissous dans l'eau (µg.L ⁻¹)								
		Al	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Norme		2500	50	200	500	500	2500	500	500	2000
T ₀ 13/06/2016	A	63,0	<LD	0,34	<LD	2,91	353	2,71	1,50	33,7
	S	38,4	<LD	0,94	0,41	0,62	1455	8,67	<LD	4,39
	C	560	<LD	0,92	1,26	3,73	1671	8,37	4,57	23,5
	N	80,6	<LD	0,73	<LD	1,44	872	10,40	<LD	8,36
T ₁ 20/06/2016	A	31,2	<LD	0,49	0,86	2,74	593	6,32	3,14	25,9
	S	121,7	<LD	0,72	<LD	1,77	890	6,63	0,37	16,8
	C	449	<LD	1,04	1,03	1,56	1183	6,15	2,86	15,7
	N	26,2	<LD	0,70	0,27	0,27	524	8,14	<LD	3,84
T ₂ 27/06/2016	A	665	<LD	2,02	1,95	2,01	1947	10,28	44,18	493
	S	309	<LD	0,84	0,44	2,93	1024	7,01	5,45	18,5
	C	108	<LD	1,17	0,81	1,97	944	7,80	0,90	6,01
	N	88,3	<LD	1,07	1,04	0,41	880	10,46	1,01	26,6
T ₃ 04/07/2016	A	344	<LD	0,94	1,28	3,25	969	17,3	18,12	158
	S	28,6	<LD	0,84	<LD	0,51	582	8,02	<LD	5,65
	C	79,7	<LD	0,82	0,84	0,81	534	9,17	<LD	6,71
	N	<LD	<LD	0,84	<LD	0,62	530	11,1	<LD	3,41
T ₄ , 11/07/2016	A	361	<LD	1,20	0,82	4,10	924	14,18	18,80	160
	S	376	<LD	1,10	<LD	<LD	1956	6,96	1,85	225
	C	1861	<LD	2,24	1,97	<LD	6070*	12,80	12,67	962
	N	44,9	<LD	0,61	<LD	0,74	474	8,07	<LD	4,54
T ₅ 18/07/2016	A	473	<LD	1,56	0,55	3,16	815	14,1	14,8	2155*
	S	1031	<LD	2,83	2,81	0,90	6580*	9,20	9,09	301
	C	729	<LD	1,76	1,54	3,69	5330*	6,71	4,64	198
	N	1195	<LD	2,93	3,61	3,37	7030*	13,1	8,74	324

BIA (A), BIS (S), BIC (C) et BIN (N). Limite de Détection (LD).

L'évolution des concentrations en ETMM particulières dans l'eau de l'effluent rentrant (BIA) et des effluents sortants (BIS, BIC et BIN) est présentée dans le Tableau 3.3.4.

La concentration en ETMM particulière correspond à la quantité de métal fixée sur des particules retenues par un filtre de 0,45 µm. Les concentrations d'arsenic et de cadmium n'ont pas pu être déterminées car elles étaient dans tous les cas inférieures à la limite de détection.

Pour les concentrations en chrome, cuivre, nickel et plomb, la majorité des concentrations était en dessous des seuils de détection et seules quelques valeurs ont pu être obtenues au cours du temps. Après quatre semaines d'interruption de bâchée, les concentrations en ETMM particulières ont diminué dans les BI. À titre d'exemple : à T₁, la concentration en Al dans le BIC était de 38476 µg.g⁻¹ et de 13442 µg.g⁻¹ à T₅. Cette diminution des ETMM particulières peut être expliquée par une oxydation des sulfures métalliques (dissolution) ou encore une sédimentation au fond du filtre (sans bâchée, les particules ne sont peut-être pas remises en suspension et se stabilisent au fond du filtre).

Tableau 3.3.4 : Évolution des concentrations en ETMM particulières (µg.g⁻¹) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI.

Date	BI	Concentration des ETMM particulières dans l'eau (µg.g ⁻¹)								
		Al	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
T ₀ 13/06/2016	A	18083	< LD	< LD	< LD	< LD	13706	< LD	< LD	521
	S	2941	< LD	< LD	< LD	< LD	2197	< LD	495	805
	C	41548	< LD	< LD	< LD	130	35613	< LD	< LD	332
	N	28454	< LD	< LD	< LD	< LD	21109	< LD	< LD	788
T ₁ 20/06/2016	A	29564	< LD	< LD	< LD	< LD	25303	< LD	< LD	1745
	S	49943	< LD	< LD	< LD	170	31124	< LD	< LD	500
	C	38476	< LD	< LD	< LD	139	30795	< LD	< LD	320
	N	< LDD	< LD	< LD	< LD	< LD	10893	< LD	< LD	1208
T ₂ 27/06/2016	A	18051	< LD	< LD	61	196	12757	< LD	< LD	245
	S	33898	< LD	< LD	< LD	< LD	26132	< LD	< LD	214
	C	15661	< LD	< LD	< LD	< LD	15648	< LD	< LD	937
	N	12384	< LD	< LD	< LD	< LD	8330	< LD	< LD	314
T ₃ 04/07/2016	A	9968	< LD	< LD	< LD	149	7726	< LD	< LD	210
	S	47443	< LD	< LD	< LD	< LD	34464	< LD	< LD	1215
	C	33676	< LD	< LD	< LD	< LD	32290	< LD	< LD	1057
	N	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	13942	< LD	< LD	1071
T ₄ , 11/07/2016	A	10749	< LD	< LD	< LD	133	8403	< LD	< LD	243
	S	16068	< LD	< LD	< LD	245	18877	< LD	< LD	323
	C	14548	< LD	< LD	61	170	16985	25	< LD	144
	N	13245	< LD	< LD	< LD	168	14943	< LD	< LD	662
T ₅ 18/07/2016	A	16182	< LD	< LD	< LD	187	12405	< LD	< LD	373
	S	16256	< LD	< LD	62	254	18050	27	< LD	211
	C	13442	< LD	< LD	< LD	236	13568	< LD	< LD	240
	N	22391	< LD	< LD	91	215	22335	33	< LD	250

BIA (A), BIS (S), BIC (C) et BIN (N). Limite de Détection (LD).

L'évolution des concentrations en Demande Chimique en Oxygène (DCO), Matière En Suspension (MES) Phosphore total (P_{total}), Nitrates, Phosphates, et Azote total au cours du temps (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , et T_5) sont présentées selon les BI dans le Tableau 3.3.5.

Tableau 3.3.5 : Évolution des concentrations en Demande Chimique en Oxygène (DCO), Matière En Suspension (MES) Phosphore total (P_{total}), Nitrates, Phosphates, et Azote total (N_{total}) au cours du temps (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , et T_5) en fonction des BI. Une concentration suivie d'une * est supérieure aux seuils réglementaires (Directive 91/271/CEE).

Date	BI	Concentration dans l'eau (mg.L ⁻¹)					
		DCO	MES	P_{total}	Nitrates	Phosphates	N_{total}
Norme		125	35	2			20
T_0 13/06/2016	A	19	7	0,48	0,36	<LD	1,36
	S	26	7	0,79	0,14	<LD	2,32
	C	34	22	0,44	0,23	<LD	2,14
	N	36	8	0,64	0,2	<LD	4,01
T_1 20/06/2016	A	22	6	0,63	0,18	<LD	2,95
	S	22	23	0,71	0,11	<LD	2,04
	C	33	45*	0,92	0,17	<LD	2,13
	N	37	3	0,54	0,24	<LD	3,67
T_2 27/06/2016	A	95	126*	2,5*	<LD	<LD	0,99
	S	61	133*	1,71	0,13	<LD	2,97
	C	42	8	1,28	<LD	<LD	2,78
	N	66	3	1,02	<LD	<LD	7,1
T_3 04/07/2016	A	123	146*	1,5	0,44	1,01	19,9
	S	39	8	0,78	<LD	<LD	2,6
	C	43	11	1,25	<LD	<LD	2,83
	N	54	5	0,89	<LD	<LD	7,61
T_4 , 11/07/2016	A	123	132*	14,55*	0,38	2,89	19,99
	S	67	70*	24,07*	0,17	<LD	3,96
	C	139*	356*	22,6*	0,21	<LD	6,18
	N	72	8	0,99	0,12	<LD	8,41
T_5 18/07/2016	A	111	60*	1,99	1,04	2,84	18,12
	S	110	217*	0,7	0,3	<LD	3,12
	C	122	278*	1,28	0,4	<LD	4,21
	N	105	197*	0,74	0,33	<LD	7,92

BIA (A), BIS (S), BIC (C) et BIN (N). Limite de Détection (LD).

La concentration en Phosphore total est supérieure au seuil réglementaire dans le BIA à T₂ (2,5 mg.L⁻¹) et à T₄ pour les BIA, BIS et BIC (14,55 ; 24,07 ; 22,6 mg.L⁻¹ respectivement).

À partir de T₃, les concentrations en N_{total} ont augmenté mais n'ont pas dépassé les seuils réglementaires. Le BIA présente des concentrations en N_{total} plus élevées que pour les autres bassins (sauf T₂). Comme observé pour la teneur en N_{total}, les concentrations en phosphates sont inférieures à la limite de détection à toutes les dates et pour tous les BI sauf pour le BIA à partir de T₃. Les concentrations en MES dans les BI ont dépassé le seuil réglementaire à différents temps pour atteindre une concentration finale à T₅ nettement supérieure au seuil réglementaire. De plus, les MES présentaient une concentration variable dans le temps et dans les BI. La trop grande variabilité des MES dans le temps ne permet pas d'observer des tendances continues des MES entre les EF lors de l'interruption de la bâchée. Suite à cette interruption, le niveau d'eau a de plus en plus diminué ce qui a compliqué les prélèvements des échantillons et a pu créer une variabilité entre les BI et dans le temps pour les MES. Suite aux quatre semaines d'alimentation limitée en eau, les concentrations en DCO ont augmenté mais n'ont pas dépassé le seuil réglementaire (sauf à T₄ pour le BIC).

L'évolution des concentrations en Naphtalène (Naph), Acénaphène (Acenaph), Fluorène (Fluo), Phénanthrène (Phenan), Anthracène (Anthra), Fluoranthène (Fluoran), Pyrène (Pyr), Chrysène (Chrys) et HydroCarbures Totaux (HCT) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI sont présentée dans le Tableau 3.3.5. Les concentrations de T₀ à T₁ ont été quantifiées en partenariat avec le LCE et de T₂ à T₅, par la Société du Canal de Provence.

Tableau 3.3.6 : Évolution des concentrations en Naphtalène (Naph), Acénaphène (Acenaph), Fluorène (Fluo), Phénanthrène (Phenan), Anthracène (Anthra), Fluoranthène (Fluoran), Pyrène (Pyr), Chrysène (Chrys) et HydroCarbures Totaux (HCT) au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI. Une concentration suivie d'une * est supérieure à la norme (Directive n°2008/105/CE).

Date	BI	Concentration MPO dans l'eau (µg.L ⁻¹)								
		Naph	Acenaph	Fluo	Phenan	Anthra	Fluoran	Pyr	Chrys	HCT
Norme		2400		50	100	100	100	50		10000
T ₀ 13/06/2016	A	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	S	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	C	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	N	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
T ₁ 20/06/2016	A	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	S	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	C	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
	N	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.	r.a.
T ₂ 27/06/2016	A	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	C	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	N	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
T ₃ 04/07/2016	A	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	C	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	N	<LD	<LD	0,01	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
T ₄ 11/07/2016	A	0,1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	C	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	N	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
T ₅ 18/07/2016	A	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,013	<LD	<LD
	S	<LD	<LD	0,011	<LD	<LD	0,012	0,014	<LD	<LD
	C	<LD	<LD	0,026	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	N	<LD	<LD	0,015	0,01	<LD	<LD	0,012	<LD	<LD

BIA (A), BIS (S), BIC (C) et BIN (N) ; LD (Limite de Détection) ; r.a. : résultat aberrant.

Les concentrations en HAP et HCT étaient extrêmement faibles et ne dépassaient que les limites de détection jusqu'à T₃. À T₅, les concentrations mesurées étaient inférieures aux seuils réglementaires : la concentration en phénanthrène pour le BIN était égale à 0,01 µg.L⁻¹ et le seuil réglementaire est égal à 50 µg.L⁻¹. Les HAP et les HCT sont extrêmement

hydrophobes et s'adsorbent rapidement aux sédiments et/ou substrat. Ainsi, il est possible que les concentrations de ces polluants dans l'eau aient été sous-estimées. L'analyse des résultats obtenus grâce aux capteurs passifs sera plus représentative de l'évolution des concentrations en HAP et HCT au cours du temps. Ces méthodes passives visent à minimiser les perturbations sur le milieu échantillonné. Elles permettent l'accumulation de contaminants par diffusion en réalisant des préconcentrations sur le terrain. La quantification des HAP et des HCT par les capteurs passifs ne sera pas traitée dans le mémoire de thèse car elle fait encore l'objet de calculs et vérification des résultats.

Afin d'étudier les éléments quantifiés dans l'eau pouvant discriminer les BI, une analyse discriminante linéaire a été réalisée regroupant les temps T₀ à T₅. Les résultats graphiques de cette analyse sur les concentrations en ETMM dissous, DCO, MES, nitrate, phosphate et azote total sont représentés dans la figure 3.3.1. Les concentrations en ETMM particulières n'ont pas été comptabilisées, les valeurs en dessous de seuil de détection générant un biais dans l'analyse discriminante.

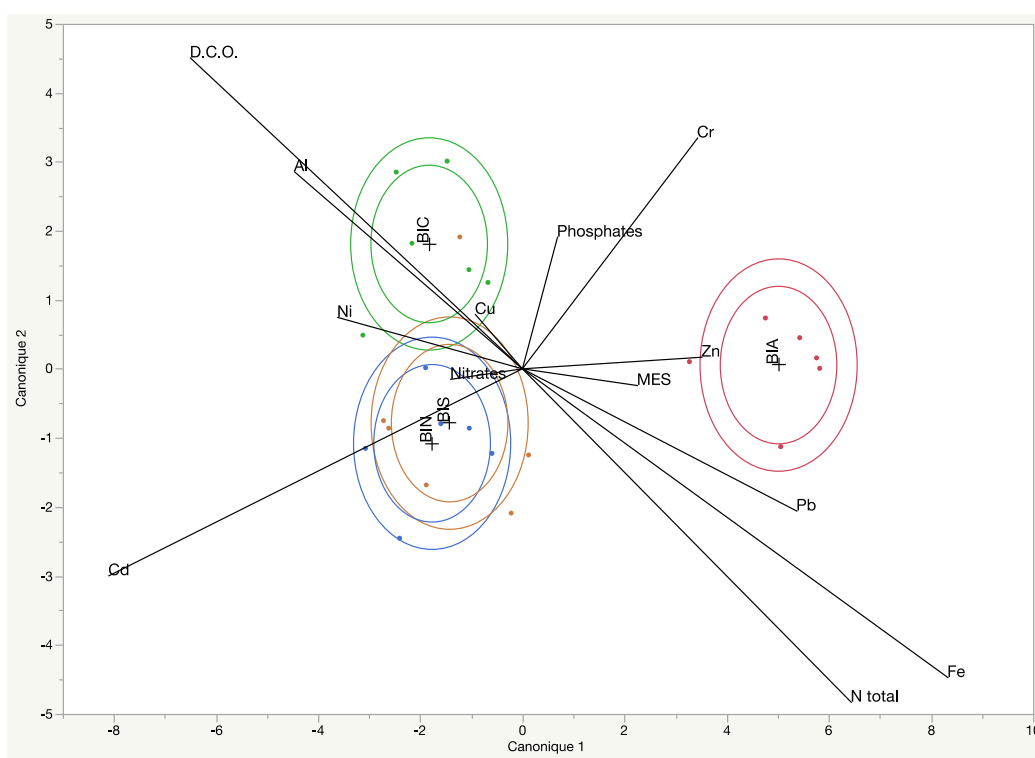


Figure 3.3.1 : Représentation graphique des résultats de l'analyse discriminante linéaire des éléments quantifiés dans l'eau des quatre cheminées de prélèvements des BI toutes dates confondues. BIA = cheminée de prélèvement en amont des EF ; BIS = BI de l'EF Sud ; BIC = BI de l'EF Centre ; BIN = BI de l'EF Nord ; Al = aluminium ; Cd = cadmium ; Cr = chrome ; Cu = cuivre ; Fe = fer ; Ni = nickel ; Pb = plomb ; Zn = zinc ; DCO = Demande Chimique en Oxygène ; MES = Matière En Suspension ; Nitrates ; Phosphate et Ntotal = Azote total.

L'étude des valeurs propres révèle un jeu de données équilibré entre les deux premières composantes canoniques (respectivement 81,75% et 12,29%). La première composante détermine la plus grande discrimination globale entre les conditions. Elle explique 81,75% de l'analyse. Le fer et le chrome y contribuent principalement suivi de l'azote total puis le phosphate. La seconde composante explique 12,29%. Dans celle-ci, le phosphate et le chrome y contribuent principalement suivi du cuivre et de la DCO.

On distingue une opposition marquée entre les BI des trois EF et du BIA justifiée par les paramètres discriminants suivants : le zinc, le plomb, la DCO et le cadmium. Les trois BI des EF présentent de légères similitudes mais elles sont particulièrement fortes pour les BIS et les BIN. Ces deux BI présentent des compositions communes en polluants sur les cinq dates de suivi. Les processus d'épuration en jeu dans ces deux EF semblent identiques. Le BIC se détache du groupe formé par le BIS et le BIN de par ces concentrations en aluminium, en chrome et en cuivre.

Suite à la sécheresse, la concentration en ETMM dissous a augmenté dans les BI des trois EF correspondant à la concentration des solutés dans les eaux. À l'inverse, les concentrations en ETMM particulières diminuent au cours du temps, certainement dû à une sédimentation de ces particules, non observable lors du fonctionnement normal de la bâchée (remise en suspension des particules quotidiennement). Les concentrations en HAP et en HCT sont faibles et pour la majorité des échantillons en dessous du seuil de détection. Les BI des trois EF ont des profils de concentrations en polluants similaires (surtout le BIN et le BIS) et opposés au BIA.

3.3.1.2 Suivi des paramètres physico-chimiques

L'évolution de la température, du pourcentage en oxygène dissous, de la concentration en oxygène dissous, du pH et de la conductivité électrique au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des BI est présentée dans le Tableau 3.3.7.

Tableau 3.3.7 : Évolution des paramètres physico-chimiques de l'eau au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction du BIA et de chaque EF. Pour un même paramètre et pour un même temps, une lettre identique (a et/ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Date	EF	Paramètres physico-chimiques				
		Température	% saturation (%.L ⁻¹)	O ₂ dissous (mg.L ⁻¹)	pH	Conductivité (mS.cm ⁻¹)
T ₀ 13/06/2016	BIA	30	67	2	7,6	1,7
	S	22 ± 0,9a	13 ± 4a	2 ± 0,7a	7,3 ± 0,1a	1,4 ± 0,1a
	C	22 ± 0,8a	40 ± 9a	4 ± 0,7a	7,5 ± 0,1a	1,3 ± 0,1a
	N	23 ± 0,6a	48 ± 21a	5 ± 0,7a	7,7 ± 0,2a	1,2 ± 0,1a
T ₁ 20/06/2016	BIA	21	4,2	0,4	7,5	1,9
	S	20 ± 1,3a	5,5 ± 1,9a	0,5 ± 0,2a	7,3 ± 0,2a	1,4 ± 0,1a
	C	20 ± 1,1a	6,5 ± 3,1a	0,6 ± 0,3a	7,1 ± 0,1a	1,4 ± 0,1a
	N	21 ± 0,6a	5,8 ± 3,5a	0,5 ± 0,3a	7,1 ± 0,1a	1,4 ± 0,1a
T ₂ 27/06/2016	BIA	20	1,5	6,7	7,9	2,3
	S	21 ± 0,3a	2,3 ± 1,0a	0,2 ± 0,04a	7,3 ± 0,04a	1,9 ± 0,1a
	C	20 ± 0,5a	4,9 ± 5,7a	0,4 ± 0,3a	7,3 ± 0,1a	1,7 ± 0,1a
	N	21 ± 0,7a	2,0 ± 1,8a	0,2 ± 0,1a	7,5 ± 0,0a	1,7 ± 0,1a
T ₃ 04/07/2016	BIA	22	2,6	0,2	7,8	2,2
	S	21 ± 0,5a	5,2 ± 2,0a	0,5 ± 0,2a	7,2 ± 0,1a	2,1 ± 0,2a
	C	21 ± 0,2a	4,1 ± 2,2a	0,4 ± 0,2a	7,3 ± 0,1a	1,9 ± 0,1a
	N	22 ± 0,1a	8,1 ± 6,4a	0,8 ± 0,5a	7,5 ± 0,1a	1,9 ± 0,2a
T ₄ 11/07/2016	BIA	23	6,5	0,6	7,2	2,4
	S	22 ± 0,5a	5,6 ± 1,6a	0,6 ± 0,1a	7,3 ± 0,1a	2,1 ± 0,2a
	C	22 ± 0,3a	4,1 ± 2,0a	0,4 ± 0,2a	7,6 ± 0,1a	1,8 ± 0,2a
	N	23 ± 0,2a	2,5 ± 0,4a	0,2 ± 0,04a	7,4 ± 0,1a	2,1 ± 0,1a
T ₅ 18/07/2016	BIA	21	4,1	0,4	7,6	2,3
	S	20 ± 0,3a	9,2 ± 3,3a	0,8 ± 0,3a	7,6 ± 0,2a	2,0 ± 0,2a
	C	20 ± 0,1a	10,1 ± 4,2a	0,9 ± 0,4a	7,6 ± 0,1a	1,9 ± 0,1a
	N	20 ± 0,2a	11,7 ± 5,4a	1,1 ± 0,5a	7,5 ± 0,04a	1,9 ± 0,1a

Aucune variation significative de température, de pourcentage en oxygène dissous, de conductivité électrique, d'oxygène dissous et de pH n'a pu être observée entre les EF. Les paramètres ont été traités individuellement mais une projection de l'ensemble des variables met en avant quelques similitudes ou différences entre les EF.

Afin d'étudier les paramètres physico-chimiques pouvant discriminer les BI, une analyse discriminante linéaire a été réalisée. Les résultats graphiques de cette analyse sur les paramètres physico-chimiques sont représentés dans la figure 3.3.2.

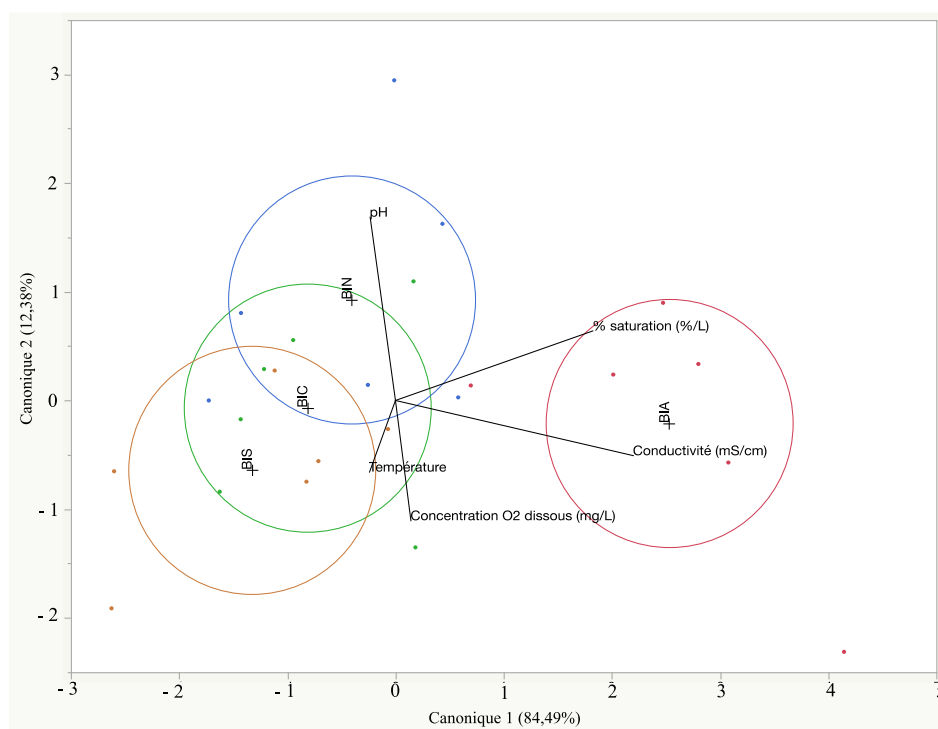


Figure 3.3.2 : Représentation graphique des résultats de l'analyse discriminante linéaire des paramètres physico-chimiques dans l'eau des quatre cheminées de prélèvements des BI. BIA = cheminée de prélèvement en amont des EF ; BIS = BI de l'EF Sud ; BIC = BI de l'EF Centre ; BIN = BI de l'EF Nord ; Conductivité (mS.cm^{-1}) = conductivité électrique ; Température ($^{\circ}\text{C}$) ; % saturation ($\text{\%L}^{-1}$) = pourcentage d'oxygène dissous ; Concentration en oxygène dissous (mg.L^{-1}).

L'étude des valeurs propres révèle un jeu de données équilibré entre les deux premières composantes canoniques (respectivement 84,49% et 12,38%). La première composante détermine la plus grande discrimination globale entre les conditions et est explicative à 84,49%. La conductivité électrique y contribue principalement suivi la concentration en oxygène dissous (ces paramètres sont logiquement liés). La seconde composante explique 12,38% ; le pH y contribue principalement suivi de la température.

On distingue une opposition entre les BI des trois EF et du BIA justifié par les fonctions discriminantes suivantes : la conductivité et le pourcentage d'oxygène dissous. Les trois BI des EF présentent des similitudes mais aussi des variations distinguées principalement par le pH et la température.

L'eau dans les bassins d'indication (BI) des trois EF a des profils physico-chimiques identiques, mais l'eau du BIA a une conductivité et une concentration en oxygène dissous plus élevées.

3.3.1.3 Évaluation de l'écotoxicité sur les radis

Les effets des différentes conditions (BIA, BIS, BIC et BIN) et du contrôle (C) sur le taux de germination, la masse de matière sèche et fraîche de l'espèce *Raphanus sativus* à T₄ sont présentés dans la Figure 3.3.3. (page suivante). Les temps T₀, T₁, T₂, T₃ et T₅ ne sont pas représentés, aucune différence significative avec le contrôle n'a été observée pour le taux de germination et les masses de matière sèche et fraîche.

Le taux de germination des radis dans les conditions BIA et BIN est significativement inférieur au contrôle : 18% (± 6) et 16% ($\pm 2,5$) respectivement et le contrôle est égal à 48 (± 2). Pour la condition BIC, la masse de matière fraîche (0,196 g) est significativement inférieure au contrôle (0,317 g) à T₄. Pour la masse de matière sèche des radis, il n'y a aucune différence significative avec le contrôle pour l'ensemble des dates de prélèvement.

Les composés présents dans les prélèvements à T₄ issus des BIA et BIN inhibent la germination de *Raphanus sativus*. Or à T₅, cette inhibition n'est plus visible, des événements physico-chimiques ont certainement eu lieu modifiant la spéciation des éléments entre les deux dates. À T₄, la masse de matière fraîche des radis en contact avec le prélèvement issu du BIC est significativement inférieure au contrôle, non observable pour la masse de matière sèche. Cela peut être dû à une diminution de la teneur en eau. En effet, ce phénomène est observé chez les plantes exposées à un stress métallique (Rabier et al., 2007).

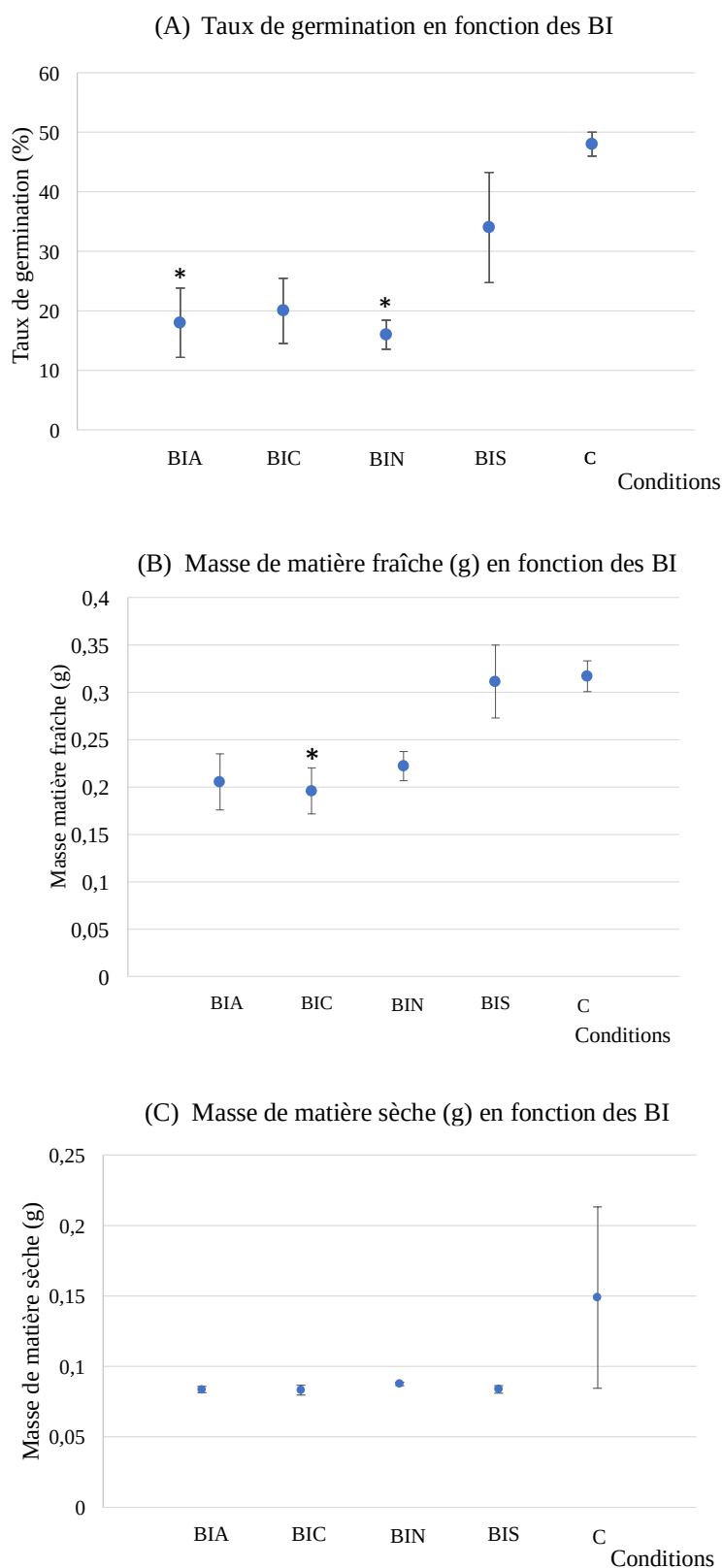


Figure 3.3.3 : Effets des différentes conditions (BIA, BIS, BIC et BIN) et du contrôle (C) sur *Raphanus sativus* à T₄: (A) taux de germination, (B) masse de matière fraîche et (C) masse de matière sèche. Pour un même paramètre, un astérisque (*) indique que la moyenne d'une condition est significativement différente du contrôle à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Pour l'écotoxicité aigue mesurée par un test de germination, aucune différence significative entre les conditions testées et le contrôle n'a été mise en évidence au temps T_0 , T_1 , T_2 , T_3 et T_5 . Au temps T_4 , une inhibition de la germination (BIA et BIN et une diminution de la masse de matière fraîche (BIC) ont été relevées suggérant une toxicité des échantillons testés à ce moment-là.

3.3.1.4 Evaluation de l'écotoxicité par le test Microtox®

Le principe de ce test normalisé est de déterminer la concentration d'un échantillon permettant d'inhiber 50% de la production de la lumière (bioluminescente) de la bactérie *Vibrio fischeri*. Cette dernière émet de la lumière lors de sa croissance. Cette bioluminescence est liée à la respiration (aérobie et anaérobie), elle-même, liée au métabolisme cellulaire (Bitton et Dutka, 1983). L'activité de la bactérie est diminuée en présence de composés toxiques. La mesure de la production de lumière est donc un bon indice de l'état de santé de la bactérie. Lors de notre campagne d'évaluation des performances épuratoires de notre système d'épuration, la bactérie *Vibrio fischeri* a été exposée à des dilutions séquentielles d'effluents brut (BIA) et d'effluent traités par les trois EF (BIS, BIC et BIN) pour évaluer l'écotoxicité en entrée et en sortie des EF. Les valeurs pour la CE_{50} (Concentration Efficace médiane) ont été calculées et présentées dans le tableau 3.3.8.

Tableau 3.3.8 : Évolution des CE_{50} pour les quatre conditions testées à chaque temps de mesure (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , et T_5) après 30 minutes d'exposition. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de la concentration testée de l'échantillon brut. Les valeurs suivies d'une astérisque (*) sont des valeurs extrapolées.

Temps (semaine)	CE ₅₀ (%) à 30 min d'exposition (intervalle de confiance)			
	BIA	BIS	BIC	BIN
T_0	n.m.	152*	n.m.	n.m.
T_1	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
T_2	91* (16 - 531)	141*	n.m.	316*
T_3	n.m.	150*	n.m.	241*
T_4	n.m.	62* (17 - 233)	54 (36 - 81)	n.m.
T_5	n.m.	142* (52 - 389)	122*	13 (9 - 17)

n.m. : non mesuré

Les valeurs extrapolées ne sont pas des valeurs mesurées mais révèlent tout de même une légère toxicité des échantillons testés. De plus la mention « non mesuré » signifie que

l'échantillon d'eau présente une toxicité faible (non mesurable) voire nulle. À T₀, l'eau du BIS présente une toxicité de 152% : pour diminuer de 50% la production de la lumière émise par *V. fischeri*, la bactérie doit être exposée à une concentration de 152% de l'échantillon BIC prélevé à T₀. Plus la CE₅₀ est faible, plus l'échantillon sera toxique. Dans ce cas, l'échantillon d'eau de BIS peut avoir un effet toxique seulement s'il est concentré et présente donc une toxicité extrêmement faible. La CE₅₀ la plus élevée est mesurée à T₅ et s'élève à 13%. À une concentration de 13% de l'échantillon brut testé, on obtient une inhibition de 50% de la lumière.

À T₅, l'eau de BIN présente des concentrations en Al et Fe dissous plus élevées que les autres BI (Tableau 3.3). La CE₅₀ basse pour le BIN pourrait être expliquée par la répression par le fer de la synthèse de la luciférase chez *V. fischeri* (Haygood et Nealson, 1985). De plus, l'oxygène est nécessaire pour la bioluminescence (Bitton et Dutka, 1983). Or, les échantillons d'eau présentant une forte demande en oxygène (et/ou une faible concentration en oxygène) peuvent entraîner une déficience en oxygène et être inhibiteur de production de lumière (ISO, 2007). La DCO à T₅ pour le BIN était égale à 105 mg.L⁻¹ et pourrait avoir limité l'apport d'oxygène nécessaire à *V. fischeri*.

L'évaluation de l'effet inhibiteur de l'eau des quatre BI par le Screening Test 81,9% (Microtox®) à chaque temps de mesure sur la production de la lumière émise par *V. fischeri* est présentée dans le tableau 3.3.9.

Tableau 3.3.9 : Évaluation de l'effet inhibiteur des quatre BI à une concentration de 81,9% de l'échantillon prélevé sur la production de la lumière émise par *V. fischeri*, par le Screening Test 81,9%, à chaque temps de mesure (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) après 30 minutes d'exposition.

Temps (semaine)	Effet à 81,9% après 30 min d'exposition (%)			
	BIA	BIS	BIC	BIN
T ₀	-24	20	-3	1
T ₁	6	-5	-4	6
T ₂	48	36	11	20
T ₃	5	25	-16	18
T ₄	7	64	67	6
T ₅	-7	37	33	84

Une valeur négative signifie que l'échantillon d'eau testé entraîne une stimulation de la production de lumière plus importante que le contrôle : l'échantillon ne présente pas de toxicité aigüe mais contient probablement des nutriments assimilables par la bactérie pouvant

ainsi masquer l'effet d'inhibition des polluants (Grabert et Kossler, 1997). Les échantillons d'eau testés présentent des concentrations élevées en nutriments tel que les nitrates et les phosphates assimilables par la bactérie (Proctor et Gunsalus, 2000). En situation anaérobie, *V. fischeri* va utiliser le nitrate pour la respiration anaérobie ce qui va entraîner une production de lumière potentiellement plus importante que le contrôle. Une forte concentration en nutriments peut toutefois être dommageable pour l'environnement en entraînant une eutrophisation du milieu récepteur (Smith et al., 1999). De T₀ à T₁, les effets inhibiteurs de la production de lumière par l'eau de tous les BI sont faibles et ne dépassent pas 20% d'inhibition. À partir de T₃ (suite à l'interruption des bâchées à cause de la sécheresse), l'eau des BI présente un effet toxique plus important que le BIA, en lien avec l'augmentation des concentrations en ETMM dans les EF. Tout comme le test d'écotoxicologie sur l'espèce *R. sativus*, à T₄, BIC et BIS présentent une inhibition de la lumière plus importante que les autres BI et la plus élevée tout temps confondus. Les études chimiques et écotoxicologiques doivent être réalisées conjointement pour déterminer les relations entre les polluants contenus dans les effluents et leurs impacts sur l'environnement.

En dépit de ses limites dans certaines conditions, le système Microtox® a démontré qu'il fonctionnait de manière adéquate pour évaluer l'élimination de la toxicité des effluents dans ces ZHA et peut donc être utilisé pour d'autres systèmes d'épuration d'effluents industriels.

3.3.2 Évaluation de l'outil de bioindication *Epilobium hirsutum*

L'outil de bioindication *Epilobium hirsutum* a été développé en conditions contrôlées au sein de microcosmes dans le but d'évaluer l'écotoxicité des rejets industriels en complément des analyses chimiques (Guittonny-Philippe et al. 2015a). Lors de cette étude, les polluants testés ont été amendés sous forme dissoute, or en conditions réelles ils sont moins biodisponibles (sous forme complexée ou particulaire). Ainsi l'évaluation de l'outil de bioindication *E. hirsutum* sur des effluents « réels » semblait nécessaire avant de pouvoir généraliser l'utilisation de cet outil. L'évolution des réponses biométriques de l'espèce bioindicatrice *E. hirsutum* en conditions réelles a été conduite en parallèle à la quantification des polluants pour évaluer les effets engendrés par l'effluent brut (BIA) et les effluents en sortie des EF (BIS, BIC et BIN). Le suivi de l'élongation des parties aériennes (hauteur de la plante) et de la

proportion de feuilles vertes doit être réalisé au cours de la principale période de développement végétatif des plantes. De jeunes individus d'*E. hirsutum* ont donc été sélectionnés et placés dans des paniers dans chaque BI. En parallèle, un suivi des biomarqueurs de stress sur des individus plus âgés correspondant à la ligne de bioindication au sein des EF a été effectué.

3.3.2.1 Biométrie

Les effets des différentes conditions en sortie des EF sur l'espèce *E. hirsutum* par l'évaluation de la hauteur des parties aériennes et de la proportion de feuilles vertes durant 35 jours (T_0 à T_4) sont présentés dans la figure 3.3.4. (page suivante)

Pour la hauteur des parties aériennes des individus de *E. hirsutum*, à chaque temps de mesure, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les différentes conditions (figure 3.3 A). Pour la proportion de feuilles vertes, une seule différence entre les conditions BIA et BIS a été mise en évidence (figure 3.3 B). Le pourcentage de feuilles vertes sur les *E. hirsutum* ayant poussé dans les paniers présents dans le BIA est supérieur à celui mesuré dans les paniers situés dans le BIS, lors des mesures au T_3 . Plus le pourcentage de feuilles vertes est élevé, moins il y a de feuilles nécrosées. Les individus présents dans le BIS présentent un nombre plus important de feuilles nécrosées que les individus dans le BIA. Il a été démontré que la chlorose des feuilles est un symptôme commun observé chez les plantes exposées à des sels métalliques (Mishra et al., 2006 ; Shaibur et al., 2006). Concomitamment, à T_3 , le BIS présente des concentrations en Al, Fe et Zn particulières environ cinq fois plus importantes que le BIA (tableau 3.4). L'acidification de la rhizosphère résultant de l'exsudation de protons par les plantes peut entraîner une solubilisation des ETMM particulières et les rendre biodisponibles pour les plantes (Hinsinger et al., 2005). Une assimilation de ces ETMM pourrait donc expliquer une augmentation de la proportion de feuilles chlorosées des individus de *E. hirsutum* ayant poussé dans le BIS.

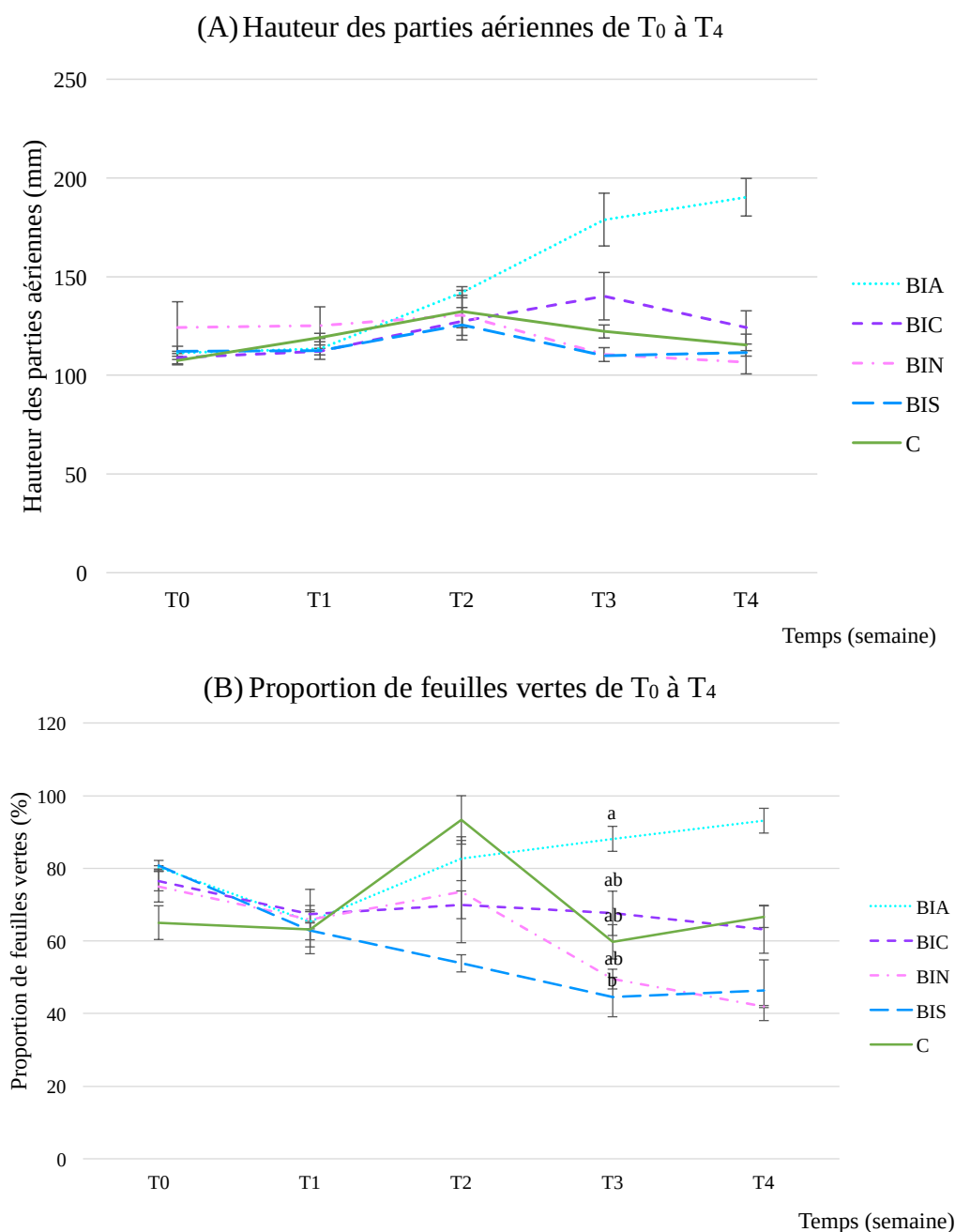


Figure 3.3.4 : Effets des différentes conditions en entrée et en sortie des EF durant 35 jours (T₀ à T₄) sur l'espèce *E. hirsutum* sur (A) la hauteur des parties aériennes et (B) la proportion de feuilles vertes lors de l'expérimentation d'évaluation de l'espèce bioindicatrice *E. hirsutum*. Pour un même temps de mesure et pour chaque paramètre, une même lettre (a et/ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Dans l'étude en conditions contrôlées, les variations observées dans le développement des épilobes au contact d'un mélange de polluant ont essentiellement consisté en des différences de proportions de feuilles vertes et de la taille des parties aériennes. En conditions réelles, de

telles différences n'ont été observés qu'au temps T_3 (pour la proportion de feuilles vertes) suite à l'interruption de la bâchée.

L'évolution des masses de matière fraîche des parties aériennes et des parties racinaires de l'espèce *E. hirsutum* à T_{final} , au bout des 28 jours de suivi, pour chaque condition est présentée dans le tableau 3.3.10.

Tableau 3.3.10 : Masse de matière fraîche (MMF) des Parties Aériennes (PA) et des Parties Racinaires (PR) à T_{final} pour chaque condition. Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (Test de Dunn).

Conditions	MMF PA (g)	MMF PR (g)
BIA	6,2 ± 1,6a	8,0 ± 2,7a
BIS	0,7 ± 0,1a	1,1 ± 0,3ab
BIC	1,1 ± 0,2a	1,6 ± 0,3ab
BIN	0,7 ± 0,1a	0,9 ± 0,2b
C	0,8 ± 0,1a	1,9 ± 0,3ab

À T_{final} , pour la masse de matière fraîche des parties aériennes, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les différentes conditions testées. Pour la masse de matière fraîche des parties racinaires, les plantes ayant poussé dans le BIA présentent une biomasse racinaire significativement supérieure à celle des plantes ayant poussé dans le BIN. La croissance racinaire a peut-être été limitée en raison du niveau d'eau initialement plus bas pour l'EFN que les deux autres EF.

L'évolution des masses de matière sèche des parties aériennes et des parties racinaires de l'espèce *E. hirsutum* à T_{final} au bout des 28 jours de suivi pour chaque condition est présentée dans le Tableau 3.3.11.

Tableau 3.3.11 : Masses de matière sèche (MMS) moyennes ± erreur standard des Parties Aériennes (PA) et des Parties Racinaires (PR) et teneur en eau (g) à T_{final} pour chaque condition. Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn).

Conditions	MMS PA (g)	MMS PR (g)	Teneur en eau (g)
BIA	1,4 ± 0,3a	1,2 ± 0,6a	4,7 ± 0,5a
BIC	0,4 ± 0,1a	0,3 ± 0,1a	2,5 ± 0,2a
BIN	0,3 ± 0,02a	0,2 ± 0,04a	2,1 ± 0,3a
BIS	0,2 ± 0,01a	0,2 ± 0,02a	2,2 ± 0,2a
C	0,2 ± 0,02a	0,2 ± 0,03a	4,3 ± 0,2a

Pour la teneur en eau et la masse de matière sèche des parties aériennes et racinaires des individus de *E. hirsutum*, aucune différence significative entre les cinq conditions n'a été mise en évidence. La production de biomasse n'est donc pas affectée par les différentes conditions d'exposition. À l'issue des expérimentations préalables en conditions contrôlées, l'espèce *E. hirsutum* avait été sélectionnée pour sa capacité de tolérance à la pollution. La production de biomasse racinaire et aérienne n'était pas affectée par les contaminants testés (Guitttonny-Philippe et al., 2015). En conditions réelles, cette tolérance est encore observée.

Contrairement aux conditions contrôlées, pour les E. hirsutum servant de bioindicateur, aucune variation de hauteur des parties aériennes, de la proportion de feuilles vertes et de la masse de matière fraîche et sèche des parties aériennes et racinaires n'a été observée au contact de mélange de polluants. Seul à T₃, le BIA présentent une proportion de feuilles vertes significativement supérieure au BIS. Ce test n'a pas révélé de différences significatives entre les 3 EF.

3.3.2.2 Suivi des biomarqueurs de stress : proline et suivi avec le Multiplex®

L'évolution des biomarqueurs de stress mesurés sur *E. hirsutum* dans les paniers à chaque temps en fonction des conditions est présentée dans la figure 3.3.5. (page suivante).

Aucune différence significative entre les différentes conditions testées (effluents brut et effluents traités par les EF) et le contrôle n'a été mise en évidence entre les indices de chlorophylles, flavonols, anthocyanes, N/C et composés phénoliques. Le contrôle a été exposé aux mêmes conditions climatiques estivales que les individus placés dans les BI (e.g. l'exposition aux UVs, à la chaleur, aux éventuels parasites...). L'étude des indices physiologiques n'a pas permis de valider le suivi non destructif de ces indices pour les utiliser comme biomarqueurs d'une pollution organique ou inorganique dans les ouvrages de traitement des eaux par phytoépuration.

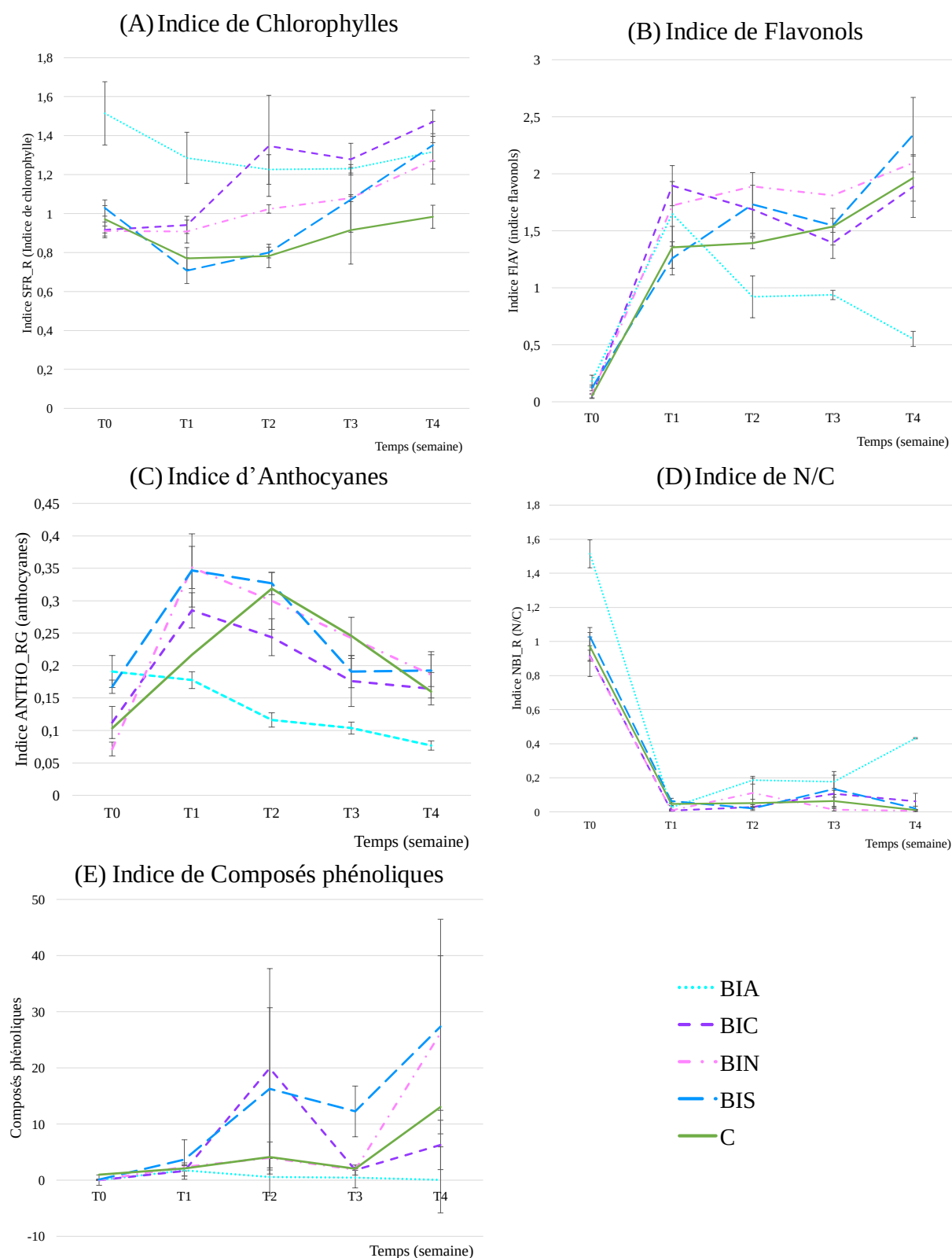


Figure 3.3.5 : Évolution au cours du temps des biomarqueurs de stress mesurés sur *E. hirsutum* dans les paniers placés dans les différents bassins d'indication et dans le contrôle, : Indices de (A) Chlorophylle, (B) Flavonols, (C) Anthocyanes, (D) N/C et (E) composés phénoliques. Pour un même paramètre et à un même temps de mesure, un astérisque (*) indique que les moyennes sont significativement différentes à $p < 0,05$ (Test Dunn). Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

En conditions contrôlées, *E. hirsutum* présentait des symptômes de toxicité (chloroses) et des biomarqueurs de stress (e.g. variations des teneurs en composés phénoliques) au contact de polluants métalliques dissous. Or en conditions réelles, les individus testés ne sont pas exposés de la même façon. En effet, les polluants tels que les ETMM peuvent être sous forme particulaire, ou encore complexés, diminuant ainsi leur biodisponibilité et leur toxicité. De plus, l'expérimentation en conditions contrôlées avait été conduite sur 113 jours alors qu'ici elle a été menée sur 21 jours. Lors d'une prochaine campagne, il serait judicieux de laisser les individus plus longtemps au contact des effluents.

Dans l'étude préalable en conditions contrôlées, les variations observées de l'état physiologique des plantes au contact d'un mélange de polluant ont essentiellement consisté en des différences d'indice de chlorophylle, indice du statut azoté de la plante (NBI_R) et des composés phénoliques. Ces différences n'ont pas été observées en conditions réelles lors de l'évaluation de l'outil de bioindication E. hirsutum.

En parallèle, un suivi des biomarqueurs de stress a été réalisé sur la ligne d'*E. hirsutum*, les individus composant cette ligne étant plus âgés que les jeunes individus testés en entrée (BIA) et en sortie (BIS, BIC et BIN). De plus, ils ont été au contact de la pollution pendant plusieurs années. La plantation d'*E. hirsutum* dans l'axe longitudinal du filtre planté permet de suivre les variations spatiales et temporelles d'écotoxicité liées au mélange de contaminants. Cet axe a été divisé en trois parties égales et permet de suivre les variations spatiales au sein du filtre horizontal.

L'évolution du biomarqueur de stress SFR_R (indice de chlorophylles) mesurés sur *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients au sein des trois EF est présentée dans la figure 3.3.6. Quel que soit l'Eco-filtre considéré, le gradient 1 est celui situé au plus près de l'arrivée de l'effluent, le gradient 3 est situé au plus près de la sortie du FH, et le gradient 2 est au milieu du FH.

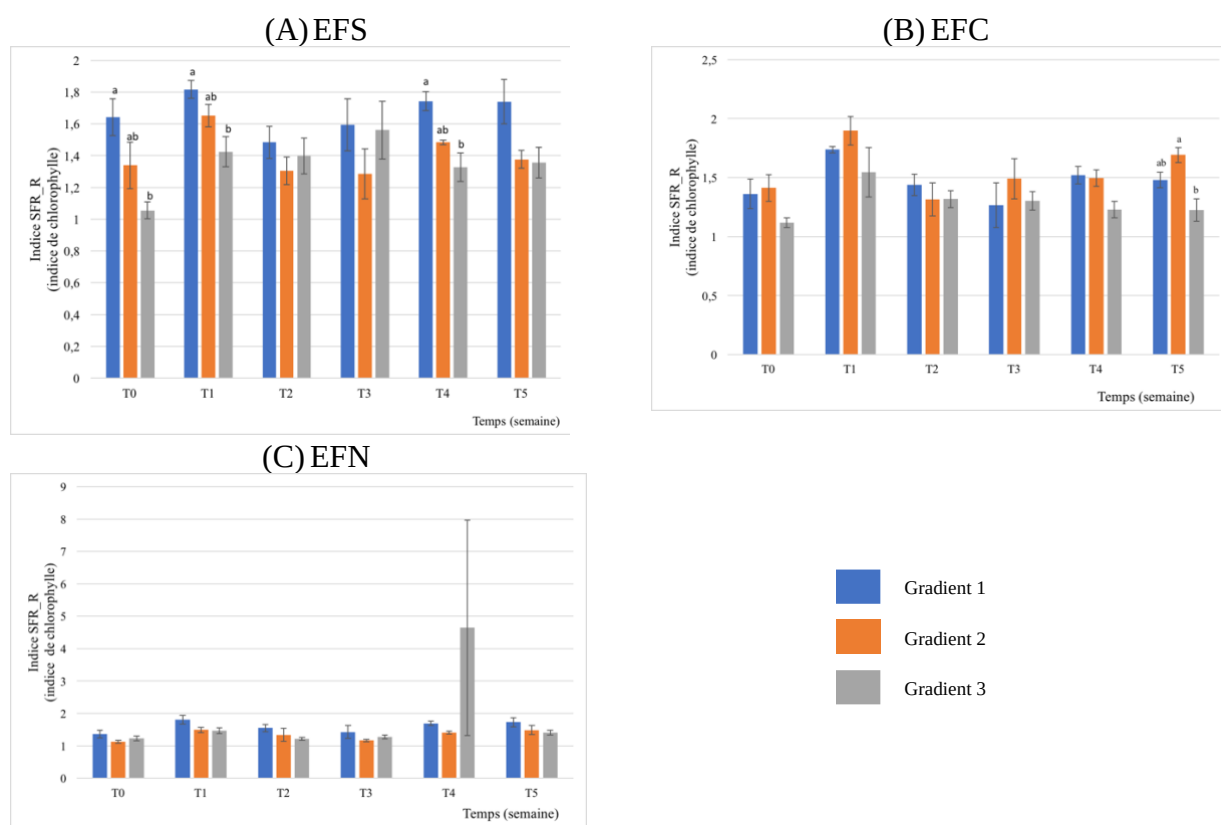


Figure 3.3.6 : Évolution du biomarqueur de stress SFR_R (indice de chlorophylles) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T0, T1, T2, T3, T4, et T5) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS Eco-filtre sud (B) EFC Eco-filtre centre et (C) EFN Eco-filtre nord durant la période de suivi de la ligne bioindicateur d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Pour l'EFS, à T0, T1 et T4, une diminution significative de l'indice de chlorophylles entre le gradient 1 et le gradient 3 a été mise en évidence. Pour les autres temps de mesure, aucune différence significative n'a été observée. Cet indice varie presque linéairement avec la teneur en chlorophylle des tissus foliaires et en fait un bon indice stress environnemental au sens large (Buschmann, 2007). Il correspond au rapport entre le spectre d'émission rouge lointain et le rouge émis par la chlorophylle (Tremblay et al., 2012). La substitution de Mg^{2+} dans les molécules de chlorophylle par les ETMM empêche la captation de la lumière, entraînant une réduction de la photosynthèse et une modification de son spectre d'émission (Küpper et al., 1996). Il est possible qu'une augmentation de la concentration en ETMM au sein du gradient d'*E. hirsutum* entraîne donc une diminution de l'indice de chlorophylles SFR. Étant donné que l'indice SFR_R est un rapport entre le spectre d'émission rouge lointain et le rouge, il est probable que l'augmentation apparente de chlorophylle détectée au niveau du gradient 1 (en

entrée de l'Eco-filtre S) provienne d'une diminution de la fluorescence rouge ou d'une augmentation de la fluorescence rouge lointaine (Tremblay et al., 2012). Sachant que les individus d'épilobes utilisés pour ces mesures sont tous exposés aux mêmes conditions environnementales (stress hydrique et UVs), ces résultats nous permettent de supposer qu'une augmentation de la concentration en ETMM dans le dernier gradient de l'EFS augmente le niveau de stress.

Pour l'EFC, à T₅, une diminution significative de l'indice de chlorophylle entre le gradient 2 et 3 a été mise en évidence. Pour les autres temps de mesure, aucune différence significative n'a été observée. Tout comme l'EFS, une diminution de l'indice SFR dans le gradient 3 pourrait s'expliquer par une augmentation de la teneur en ETMM en fin de filtre.

Pour l'EFN, aucune différence significative entre les différents gradients pour toutes les dates de mesures confondues n'a été mise en évidence, traduisant une tendance commune et/ou une importante variabilité de la mesure.

L'évolution du biomarqueur de stress FLAV (indice de flavonols) mesurés sur *E. hirsutum* dans au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF est présentée dans la figure 3.3.7.

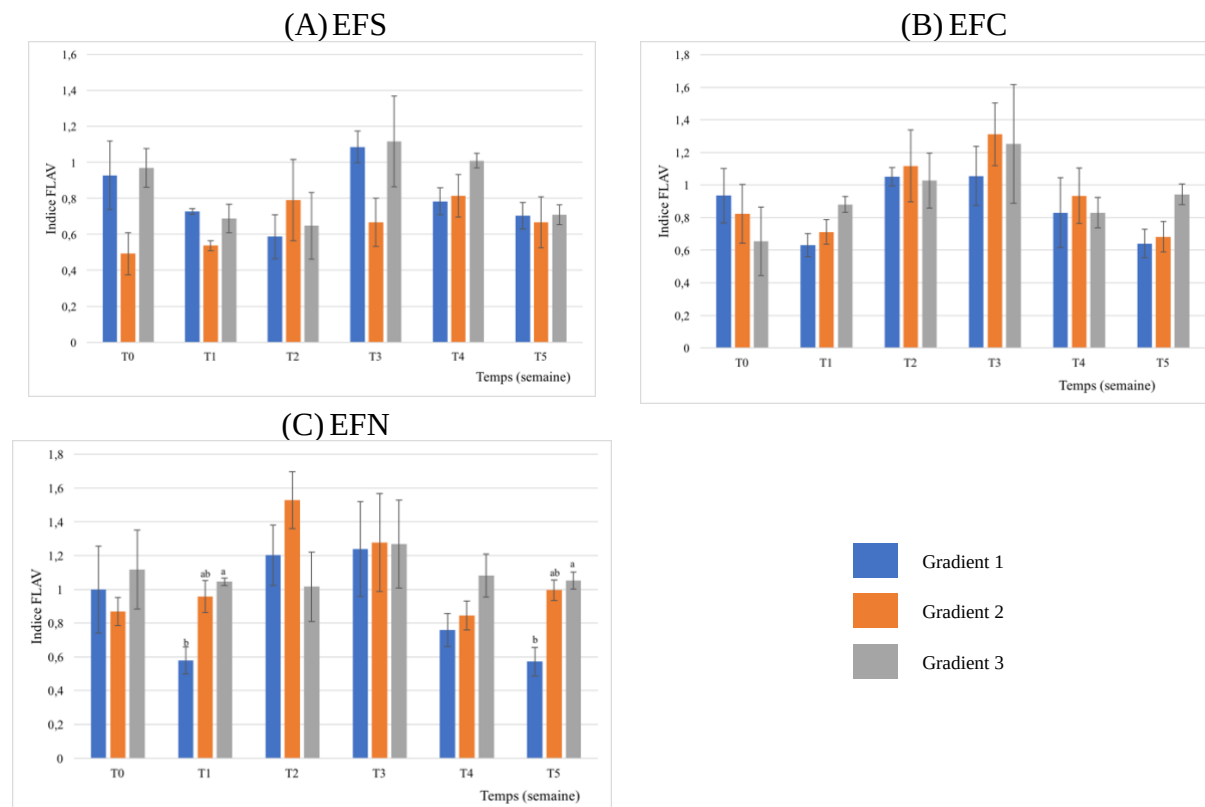


Figure 3.3.7 : Évolution du biomarqueur de stress FLAV (indice de Flavonols) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E.*

hirsutum. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Aucune différence significative pour l'indice des flavonols entre les gradients de l'EFS et l'EFC n'a été mise en évidence pour chaque date. Pour l'EFN, à T₁ et T₅, une augmentation significative de l'indice FLAV entre le gradient 1 et 3 a été mise en évidence. Pour les autres temps de mesure, aucune différence significative n'a été observée. L'indice FLAV correspond à la mesure des flavonols présents dans les cellules épidermiques de la plante. Ces composés ont principalement un rôle protecteur contre les dommages photo-oxydatifs, et leur indice s'élève significativement en présence d'un stress de cette nature (Winkel-Shirley 2002). Les individus d'épilobes suivis le long des gradients horizontaux sont exposés aux mêmes conditions environnementales pour les EF sud et centre, justifiant vraisemblablement cette absence de différence. En accord avec Gonzalez-Dugo et al., (2005) la différence significative mesurée entre les gradients de l'EFN, pour lequel l'indice de flavonols était supérieur dans le gradient 3 par rapport au gradient 1, pourrait être liée au stress hydrique plus important dans cet Eco-filtre que dans les EF sud et centre en raison de la fuite avérée.

L'évolution du biomarqueur de stress ANTHO_RG (anthocyanes) mesurés sur *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF est présentée dans la figure 3.3.8. (page suivante).

Aucune différence significative n'a été mise en évidence tout au long des gradients de l'EFS et de l'EFC, quelle que soit la date. Pour l'EFN, à T₁, et T₅, une augmentation significative de l'indice ANTHO_RG entre le gradient 1 et 3 a été mise en évidence. À l'inverse, à T₃, une diminution significative de l'indice ANTHO_RG a été relevée. Pour les autres temps de mesure, aucune différence significative n'a été observée. Tout comme les flavonols, les anthocyanes sont des antioxydants et leur synthèse est favorisée par un certain nombre des facteurs environnementaux y compris les UVs et le stress hydrique (Chalker-Scott, 1999). Les EF sud et centre ne présentent pas de différence significative entre leurs gradients. Les individus suivis sont probablement soumis aux mêmes facteurs environnementaux. À l'inverse l'EFN présente des variations significatives de cet indice tout au long du filtre horizontal, pouvant être l'expression d'un stress hydrique.

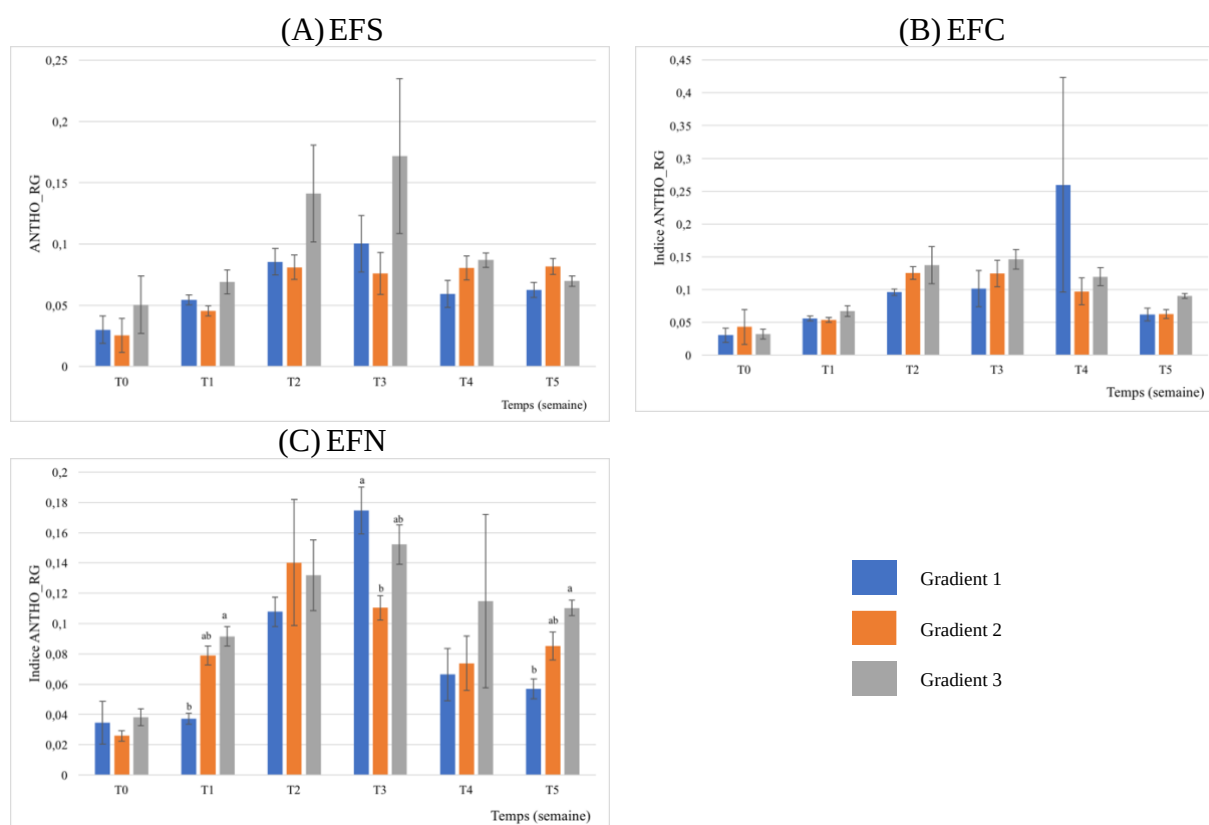


Figure 3.3.8 : Évolution du biomarqueur de stress ANTHO_RG (indice d'anthocyanes) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

L'évolution du biomarqueur de stress NBI_R (N/C) mesurés sur *E. hirsutum* dans au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF est présentée dans la figure 3.3.9.

À T₀, l'indice NBI_R pour le gradient 3 de l'EFS (fin de filtre horizontal) est significativement supérieur au gradient 2 pour l'indice NBI_R. Pour l'EFC, aucune différence significative n'est relevée pour toutes les dates de mesure. Pour l'EFN aux temps T₁, T₄ et T₅, le gradient 3 présente des valeurs significativement supérieures au gradient 1. L'indice NBI_R correspond au statut azoté des plantes (rapport chlorophylles/flavonols, proxy du ratio N/C) (Tremblay et al., 2012). Une diminution de cet indice peut traduire une carence en azote ou un stress hydrique et entraîner une accumulation de certains composés phénoliques tels que les anthocyanes et les flavonols (Lea et al., 2007 ; Bürling et al. 2013). Concernant

l'EFN, ce résultat est en adéquation avec les résultats précédents pour les flavonols et les anthocyanes.

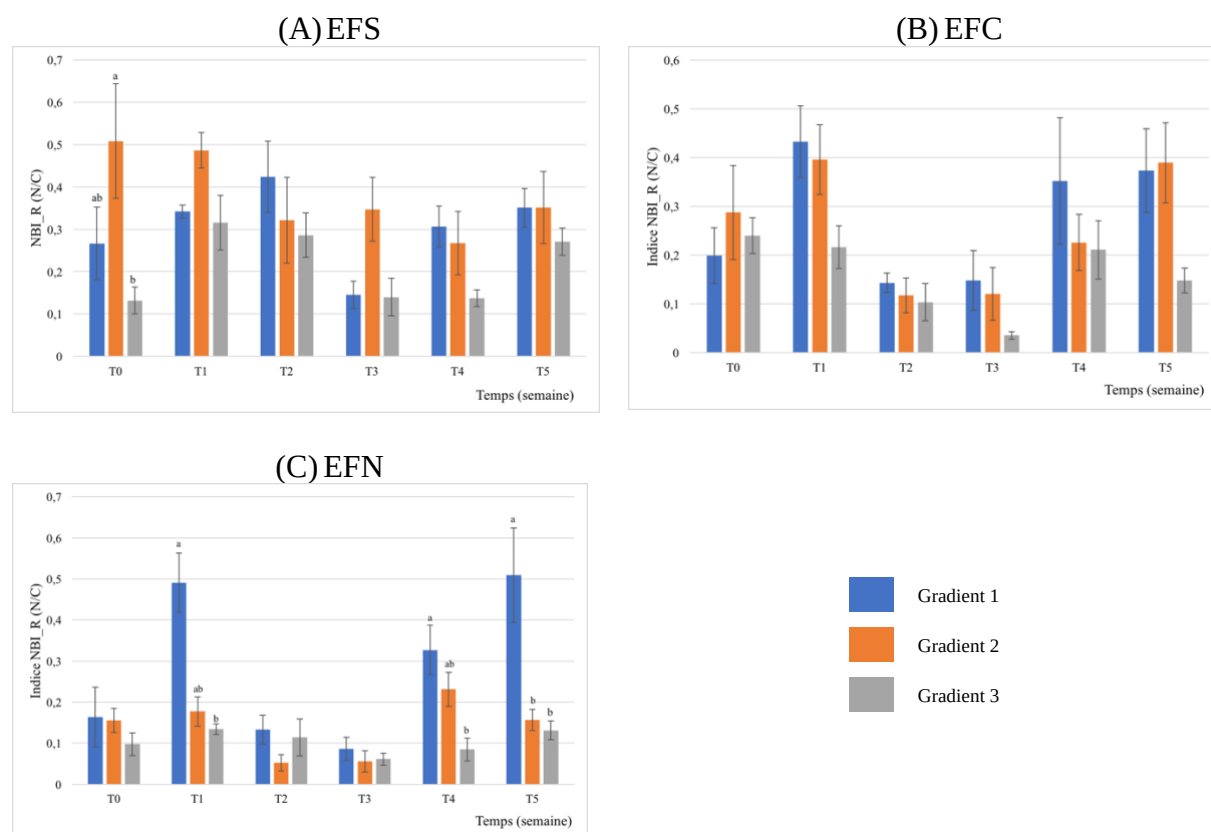


Figure 3.3.9 : Évolution du biomarqueur de stress NBI_R (N/C) chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

L'évolution du biomarqueur de stress des composés phénoliques mesurés sur *E. hirsutum* dans au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF est présentée dans la figure 3.3.10.

Les composés phénoliques regroupent les anthocyanes et les flavonols, ils sont synthétisés en réponse à un stress (au sens large) (Rivero et al., 2001). Une augmentation de l'indice correspondant aux composés phénoliques du gradient 1 vers le gradient 3 dans l'EFN est en adéquation avec les résultats précédents, marquant un stress hydrique.

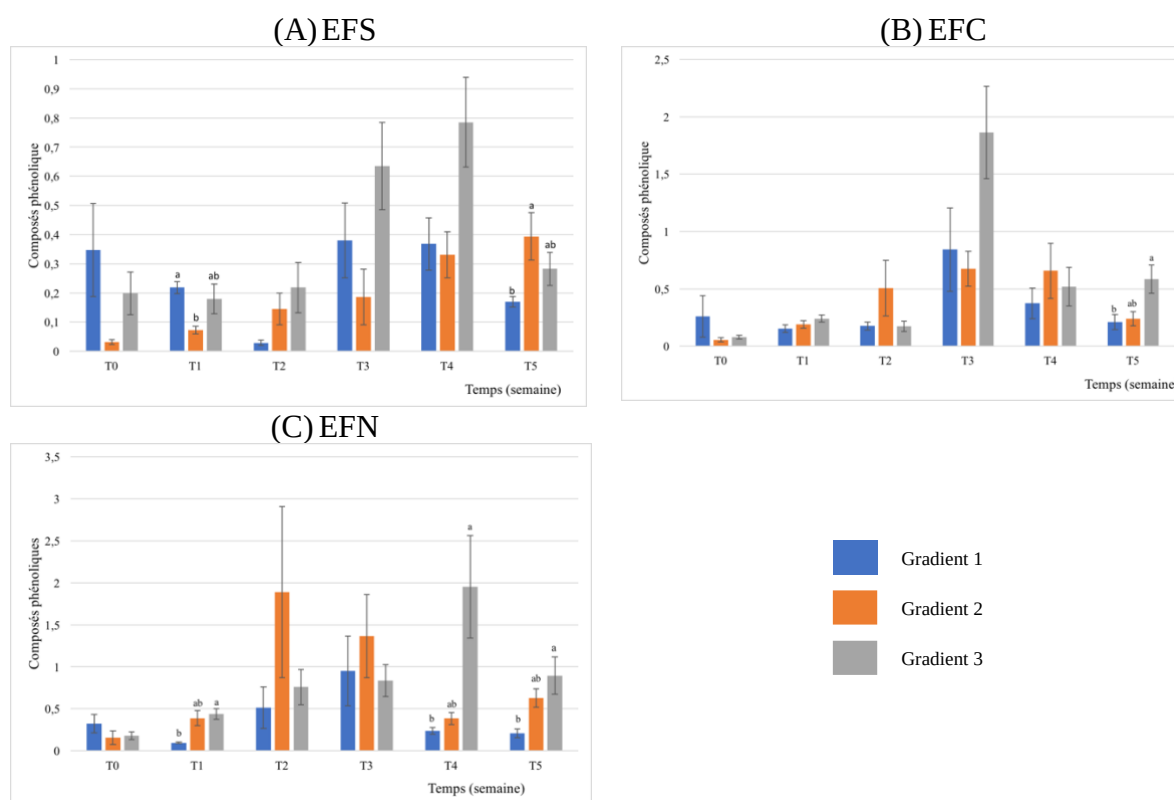


Figure 3.3.10 : Évolution du biomarqueur de stress composés phénoliques chez l'espèce *E. hirsutum* au cours du temps (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, et T₅) en fonction des gradients des trois EF : (A) EFS, (B) EFC et (C) EFN durant la période de suivi de la ligne bioindicatrice d'*E. hirsutum*. Pour un même filtre et à un même temps de mesure, une même lettre (a ou b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ (test Dunn), une absence de lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les barres représentent les erreurs standard des moyennes.

Si le suivi des indices physiologiques a pu mettre en avant des stress liés à l'interruption de la bâchée et à la fuite de l'EFN (stress hydrique), s'exprimant notamment par les teneurs en flavonols et en anthocyanes, ces indices ne permettent pas en l'état de valider leur utilisation comme biomarqueurs de stress par rapport à la pollution pour l'espèce *E. hirsutum*. Il y a aussi une forte variabilité au sein des mesures de terrain, car les plantes y sont soumises à de une vaste palette de stress (hydrique, thermique, UVs, herbivores, etc ...). Les mesures des indices physiologiques en surface réalisés avec le Multiplex® peuvent indiquer une variabilité métabolique liée aux différents stress individuels des parties végétales mesurées et partagées entre les EF (différentes expositions à la lumière, herbivorie, ...).

Contrairement aux individus suivis au sein des paniers, pour le même bioindicateur *E. hirsutum*, des différences significatives des indices physiologiques entre les gradients ont été observées pour chaque EF. Les individus suivis au sein des gradients ont été au contact de la pollution sur une période plus importante que ceux des paniers, et étaient à un stade phénologique plus avancé. Des stress plus marqués ont été observés pour l'EFN, et sont probablement imputables à un stress hydrique plus prononcé dans cet EF, en raison d'une sortie de l'eau à cause d'une fuite du système.

L'évolution des concentrations en proline mesurées dans les parties aériennes de l'espèce *E. hirsutum* selon le gradient de la ligne bioindicatrice à T_{final} est présentée dans le tableau 3.3.12.

Tableau 3.3.12 : Concentration en proline (μmole de Proline par g de masse de matière fraîche) mesurées dans les parties aériennes d'*E. hirsutum* selon le gradient de la ligne bioindicatrice à T_{final} (T_5). Une même lettre (a et b) indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes à $p \leq 0,05$ (test de Dunn).

Eco-filtre	Gradient	Proline ($\mu\text{mol/g MMF}$)
EFC	1	1,27 $\pm$ 0,26 a
	2	1,35 $\pm$ 0,17 a
	3	1,00 $\pm$ 0,13 a
EFN	1	1,23 $\pm$ 0,41 a
	2	1,16 $\pm$ 0,11 a
	3	0,97 $\pm$ 0,13 a
EFS	1	1,46 $\pm$ 0,30 a
	2	1,27 $\pm$ 0,25 a
	3	0,97 $\pm$ 0,20 a
Contrôle		0,66 $\pm$ 0,10 a

L'individu-contrôle a été prélevé à proximité directe des EF sur la parcelle de STOGAZ, il a donc été exposé à la même intensité lumineuse (UV), aux mêmes conditions climatiques. Aucune différence significative entre les gradients au sein des EF à T_{final} n'a été mise en évidence. L'accumulation de la proline dans les parties aériennes de la plante indique une réponse physiologique à des perturbations environnementales. La quantification de la proline libre permet ainsi d'estimer l'ampleur du stress subi par la plante (Ábrahám et al., 2010). Il peut être de plusieurs types : la sécheresse (Newton et al., 1986), le stress hydrique (Huang et Cavalieri, 1979), les UVs (Saradhi et al., 1995), les ETMM (Mehta et Gaur, 1999), etc... La

quantité de proline synthétisée dans les parties aériennes des *E. hirsutum* des différents EF n'est pas significativement différente du contrôle, donc les plantes présentent un état physiologique équivalent. Les EF présentent des concentrations en ETMM différentes à T₅. On pourrait donc s'attendre à une corrélation entre la production de proline et la présence de métaux, or ceci n'est pas visible. Il est possible que les effets du stress liés à la période estivale masquent ceux liés au stress métallique.

L'outil de bioindication des indices physiologiques n'est pas aussi sensible en conditions réelles qu'en laboratoire ou en conditions contrôlées. Les concentrations en ETMM dissous sont faibles en général, en dessous des seuils réglementaires. Il est indispensable de conduire à nouveau une campagne de suivi des bioindicateurs de stress plus tôt dans l'année pour s'affranchir des effets du stress lié à la période estivale (stress thermiques, hydriques, notamment). Ces résultats démontrent qu'il est donc indispensable de valider les observations réalisées en conditions contrôlées à une plus grande échelle et surtout dans les conditions réelles d'utilisation de l'outil de bioindication (facteurs environnementaux non contrôlés, concentrations en polluant plus faibles, ...) afin de pouvoir généraliser son utilisation.

3.3.3 Conclusion

Les effluents industriels sont chargés en métaux et en polluants organiques. Dans ce contexte, il y a potentiellement des interactions et des effets cumulatifs/additifs ou antagonistes entre les contaminants. Les mesures physico-chimiques et la quantification des contaminants peuvent ne pas être suffisantes pour évaluer la toxicité de l'eau pour le milieu naturel. L'utilisation de tests d'écotoxicité et de phytoindicateurs permettent de fournir des informations complémentaires aux analyses chimiques surtout dans un contexte de multipollution.

Suite à l'interruption des bâchées à cause d'une sécheresse exceptionnellement longue et intense, la concentration en ETMM dissous a augmenté dans les BI des trois EF. La quantification des polluants a été effectuée lors de la période estivale, pendant laquelle les EF sont soumis à une importante évapotranspiration pouvant entraîner une concentration des polluants dans l'eau dans les EF. Ces concentrations en polluants ont de fait dépassé les seuils réglementaires des rejets industriels pour le fer et le zinc. Ces résultats démontrent qu'il est

important de suivre les concentrations des ETMM dissous lors des épisodes de sécheresse provoquant une interruption de l'alimentation en eau. À l'inverse, les concentrations en ETMM particulières ont diminué au cours du temps, probablement par sédimentation de ces particules. Cette sédimentation ne se produit pas lors du fonctionnement normal des bâchées, car l'apport d'eau remet en suspension des particules quotidiennement. La quantification du P_{total} et du N_{total} a montré que malgré l'interruption des bâchées, les trois EF traitent efficacement ces deux types de polluants. Des mécanismes de transformation biologique (absorption par les plantes et/ou les microorganismes) du phosphore total et de l'azote total semblent donc à l'origine des abattements observés. Au niveau de la quantification des HAP et HCT, les concentrations n'ont que rarement dépassé les seuils de détection en sortie des EF même après l'interruption des bâchées. L'analyse discriminante des concentrations des polluants en fonction du BIA et des BI des trois EF a mis en évidence un clivage entre le BIA et les trois BI des EF. De plus le BIN et le BIS semblent partager des profils de concentrations en polluant et quelques similitudes avec le BIC. Néanmoins une expérimentation devra être conduite à nouveau pour évaluer l'efficacité épuratoire des EF en fonctionnement normal. Le rôle différentiel des plantes sur l'épuration de l'eau entre les EF n'a pas pu être mis en évidence. Une étude sur une plus grande échelle de temps pourrait permettre d'affiner la contribution des plantes à l'épuration.

L'étude écotoxicologique réalisée avec *R. sativus* et le test Microtox® ont montré une sensibilité pour les polluants testés, et peuvent donc être utilisés comme outil pour évaluer l'efficacité épuratoire des ZHA traitant des effluents industriels. Néanmoins ces tests devraient être accompagnés d'un suivi chimique des effluents en amont et en aval du système testé. Malgré des concentrations en ETMM dissous supérieures aux seuils réglementaires pour le fer et le zinc, les effluents en sortie d'EF présentent une faible écotoxicité, certainement liée à un phénomène de concentration de ces polluants dans la phase aqueuse, induite par diminution de l'apport en eau.

L'utilisation de phytoindicateurs fournit des informations complémentaires aux analyses chimiques et d'écotoxicologie, et ils peuvent être utilisés pour déterminer des zones de contamination. Toutefois, le suivi de jeunes individus de *E. hirsutum* installés ponctuellement en entrée et en sortie des EF n'a pas permis de valider l'utilisation de cette espèce comme bioindicatrice de pollution. Néanmoins le suivi des épilobes plus âgés, présents de longue date dans le filtre horizontal des EF, a mis en évidence des différences significatives de l'état physiologique des individus en fonction de leur position dans le filtre. Les mesures des

phytométabolites de surface (réalisées à l'aide du multiplex®) pourraient toutefois mettre en exergue des effets de stress simplement liés à la période estivale (stress hydrique, UVs), masquant les effets liés à la contamination en ETMM, MPO et leurs sous-produits. Une expérimentation devrait être répliquée, de préférence à l'intersaison pour limiter le stress lié aux conditions estivales méditerranéennes et réévaluer ces biomarqueurs de stress.

Conclusion générale et perspectives

Sur un site pilote, trois ZHA expérimentales nommées Eco-Filtres (EF) ont été implantées sur une parcelle de terrain rattachée au site industriel STOGAZ S.A.S., pour évaluer à l'échelle d'un pilote des outils et des méthodes développés en conditions contrôlées, afin de faciliter la mise en œuvre de ZHA plantées d'espèces locales éco-adaptées. Les expériences menées ont permis notamment (1) de caractériser le fonctionnement des EF (2) de déterminer les réponses structurelles des EF suite à un changement de régime hydrique et (3) de développer un outil décisionnel pour l'évaluation de la qualité de l'eau.

Cependant, les expériences menées au cours de la thèse ont aussi soulevé des questionnements à propos (1) de la difficulté de construire des systèmes identiques à grande échelle (2) de la fonctionnalité du filtre vertical dans un EF, et (3) de la pérennité de cet outil de traitement des eaux dans un contexte de changement climatique.

Les EF ont été conçus pour être identiques et être utilisés comme des répliqués. Lors de l'étude de la variabilité structurelle qui a servi à la caractérisation des EF, des différences physiques entre ces filtres plantés ont été mises en évidence. Une différence de dimensions a été identifiée : l'EFN est l'EF le plus grand des trois, suivis de l'EFS et enfin de l'EFC. Le suivi des hauteurs d'eau quant à lui, a montré que la pente de l'EFN a été compromise par la nappe phréatique. Pour s'affranchir de la pression exercée par la nappe, il est indispensable d'installer les ZHA à minima à 1 m de la nappe phréatique. De plus le suivi de la DTS a permis de mettre en évidence des différences de fonctionnement entre les EF liées à un problème d'étanchéité et à une différence au recouvrement et à la diversité des espèces végétales colonisant les EF. Ces dynamiques écologiques peuvent être liées aux variabilités structurelles entre les EF sachant qu'ils ont été alimentés par des effluents identiques au cours des trois années de fonctionnement, et qu'ils ont été exposés aux mêmes conditions écologiques (climat, insolation, vent...). En conditions réelles il est difficile de maîtriser l'ensemble des paramètres environnementaux, mais sous réserve d'un bon ajustement des paramètres physiques, il est possible de limiter leur impact sur les EF.

L'étude de la mise en fonctionnalité du filtre vertical (FV) a révélé des problèmes de fonctionnement au sein de ce compartiment. Le FV n'était pas alimenté de manière appropriée, les individus *C. cuprina* n'ont donc pas survécu. Pour bénéficier des propriétés

intrinsèques aux FV, d'autres agencement devront être testés tel que par exemple les radeaux flottants. Les hélophytes y sont directement au contact de l'effluent à traiter, fixées sur un support flottant s'adaptant à la fluctuation du niveau d'eau (idéal pour répondre à la problématique de sécheresse estivale selon Headley & Tanner, 2006). Cette configuration limiterait aussi l'usage de la pouzzolane, qui n'est pas une ressource renouvelable, son utilisation n'étant pas strictement compatible avec les objectifs de développement durable. De plus cet agencement facilite l'arrachage des espèces végétales permettant l'extraction d'ETMM captés par les plantes (Eggleton et Thomas, 2004) et prolongeant la durée d'utilisation de la ZHA..

À partir de la sélection des plantes natives, capables de coloniser les spontanément les milieux récepteurs des effluents industriels, l'étude en conditions contrôlées avait mis en évidence les capacités de tolérance et les capacités de bioindication, de phytostimulation et de phytoaccumulation de cinq hélophytes (*Alisma lanceolatum* Wtth., *Carex cuprina* (Sandor ex Heuff.) Nendtv. Ex A. Kern., *Epilobium hirsutum* L., *Iris pseudacorus* L. et *Juncus inflexus* L.). En conditions réelles, ces espèces végétales ont présenté des différences de développement limitant pour certaines leur pérennité dans la ZHA. Après trois ans, les espèces *C. cuprina* et *A. lanceolatum* n'ont pas survécu ou très peu, leur maintien semble compromis. Contrairement aux espèces *I. pseudacorus*, *J. inflexus* et *E. hirsutum* dont la fréquence a augmenté au cours du temps, ce qui laisse présager un maintien pérenne de ces espèces. Ce résultat insiste sur la capacité des plantes natives à se maintenir dans des ZHA en conditions réelles, et confirme également l'intérêt de les utiliser. Des espèces non sélectionnées ont colonisés les EF sans pour autant envahir les filtres. Il serait intéressant de connaître le devenir des espèces plantées : après plusieurs années de cohabitation seront-elles encore dominante) Existe-t'il une dynamique de résilience suite à des événements destructeurs (forte sécheresse, déversement important de polluant) induisant une mortalité sévère ? Les plantes jouent un rôle important dans la mise en place des conditions favorables au bon développement des microorganismes, et sont moteurs des mécanismes de traitement des effluents circulant dans la ZHA (Faulwetter et al., 2009). Le bon état de santé des espèces végétales conditionne aussi l'efficacité épuratoire des ZHA, un maintien des espèces sélectionnées est donc indispensable.

Le suivi non exhaustif de la faune a démontré que les EF n'étaient pas des systèmes fermés : ils hébergent de nombreuses espèces y trouvant une niche écologique. Il met donc en évidence l'attractivité indéniable qu'exercent les ZHA sur une faune locale. Plusieurs exuvies

y ont été retrouvées, mais aussi de nombreux dytiques qui se nourrissaient de larves de moustiques et de têtards. Les parties aériennes des plantes des EF contiennent très peu d'ETMM et ne constituent pas un danger pour le réseau trophique, mais les larves d'odonates et d'autres insectes vivent dans l'eau et peuvent potentiellement absorber des contaminants et les transférer au réseau trophique. Ces risques sont à prendre en compte lorsque les ZHA sont installées en amont d'une ZH naturelle. De plus contrairement à la majorité des ZH naturelles dans la région méditerranéenne, les ZHA se distinguent par leur inondation permanente (hormis sécheresse exceptionnelle) liée à leur étanchéité. Ces nouveaux écosystèmes offrent des conditions écologiques favorables à de nombreuses espèces, ce qui peut entraîner une augmentation de la valeur patrimoniale de ces habitats.

Les suivis biologiques des EF ont portés essentiellement sur les inventaires floristiques, faunistiques non exhaustifs et phytoplanctoniques. Cependant, les processus épuratoires ayant lieu dans les ZHA sont dépendant de l'interaction entre les plantes et les microorganismes (Faulwetter et al., 2009 ; Ottová et al., 1997 ; Stottmeister et al., 2003). En conditions contrôlées, l'étude des communautés bactérienne avait mis en évidence des changements dans la rhizosphère en fonction de l'espèce végétale, en lien avec la biomasse racinaire, dans un contexte de multipollution (Guittonny-Philippe, 2014). Il serait donc intéressant de réaliser une étude de la composition et de l'abondance des microorganismes dans les EF selon un gradient vertical, dans le but d'appréhender la complexité des interactions entre les différentes échelles biologiques (microorganismes, phytoplancton et macrophytes) au niveau de l'eau. De plus un suivi des exsudats racinaires pourrait être effectué pour mieux comprendre les relations plantes et microorganismes, surtout dans un contexte stress permanent généré par les polluants.

Dans un contexte de changement climatique dans la région méditerranéennes, les écosystèmes des zones humides vont être perturbés tout comme les ZHA s'inspirant de ces milieux. Une perturbation du fonctionnement des ZHA peut entraîner altérer l'épuration et entraîner des rejets de contaminants dans l'environnement. C'est pourquoi l'effet de différents régimes hydriques sur la charge nutritive, les plantes et les communautés phytoplanctonique a été évalué au sein des EF. Une diminution du régime hydrique, mimant un stress hydrique, a entraîné une diminution de la richesse des espèces (diversité floristique et phytoplanctonique ; chez l'EFN) par rapport à une alimentation normale (EFC). Il est de plus en plus reconnu que favoriser la diversité spécifique dans les ZHA permet d'améliorer l'efficacité épuratoire (Zhang et al., 2010). Une diminution de celle-ci peut donc entraîner une perte d'efficacité

épuration des ZHA dans un contexte de réchauffement climatique. De plus, l'expérimentation sur les régimes hydriques différenciés a montré que lorsque le régime en eau est perturbé les communautés de phytoplancton semblent passer à des assemblages adaptés à un environnement modifié (mésotrophe) au lieu de favoriser des assemblages sensibles comme dans l'EFC. Des études complémentaires pourraient être effectuées sur une plus longue période pour confirmer ces premiers résultats.

Du point de vue opérationnel, l'évaluation de l'efficacité épuratoire des EF réalisée au cours de la thèse a permis de développer un schéma décisionnel échelonné (figure 4.1) afin d'éviter des tests inutiles et de minimiser le temps et le coût des opérations menées sur les ZHA.

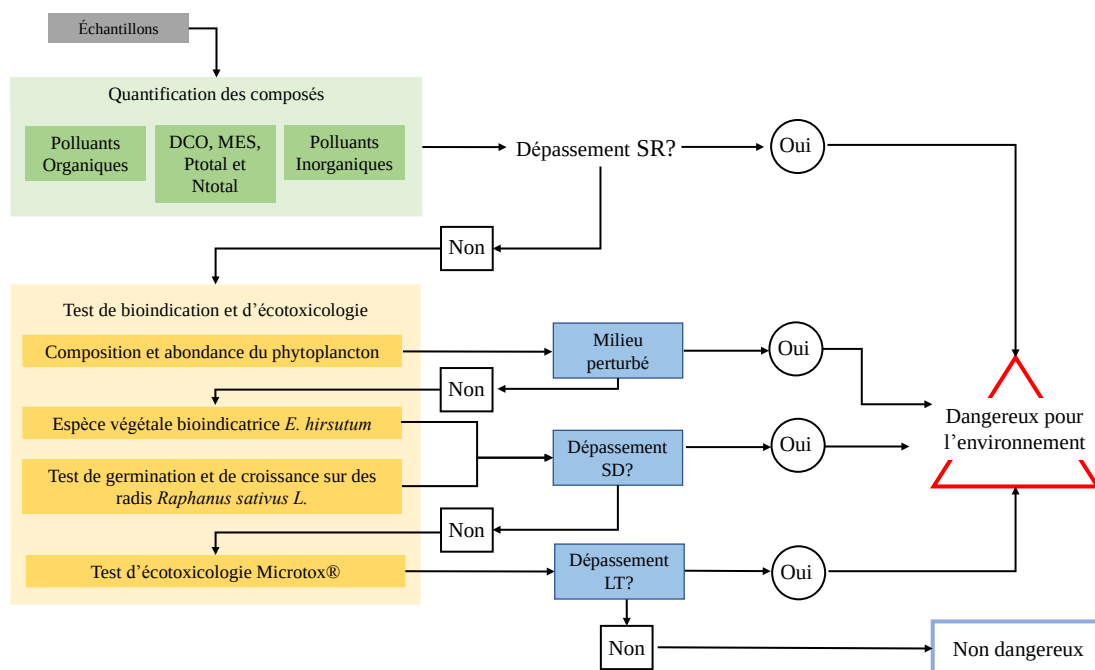


Figure 4.1 : Schéma décisionnel pour l'évaluation de la qualité de l'eau en entrée et en sortie des ZHA. SR = Seuils Réglementaires ; SD = Seuils de Détection ; LT = Limite de Toxicité.

La première étape consiste en une analyse chimique ciblée des contaminants potentiellement présents dans la phase aqueuse. Les analyses permettent de comparer les concentrations des éléments et des composés analysés avec les seuils réglementaires portant sur les rejets au milieu naturel (Directive 2000/60/CE). Le dépassement de ces limites entraîne une classification immédiate dans la catégorie dangereuse pour l'environnement et une analyse plus poussée n'est plus nécessaire. Au cours de la thèse les analyses chimiques de quantification des contaminants en amont et en aval des EF ont présenté des concentrations

relativement basses en sortie de système malgré l'interruption de la bâchée quotidienne pendant la sécheresse estivale. Or les polluants organiques et inorganiques (et leurs sous-produits de dégradation) peuvent avoir un effet synergique et augmenter la toxicité des effluents (Babu et al., 2001), mais ceci est difficilement quantifiable par des analyses chimiques. Il est donc indispensable de passer par l'évaluation des effets des polluants sur la structure et le fonctionnement des communautés et de écosystèmes, afin de statuer sur l'état biologique et chimique des effluents.

Lorsque les approches analytiques ciblées ne permettent pas de qualifier les échantillons, des tests de bioindication et d'écotoxicologie doivent être réalisés. Même si les effluents industriels respectent les seuils réglementaires, il y a potentiellement des interactions et des effets cumulatifs entre les contaminants. L'utilisation de tests d'écotoxicité et de phytoindicateurs fournit des informations complémentaires aux analyses chimiques. Le premier essai consiste en un suivi du phytoplancton (composition en espèces et abondance), connaître les populations présentes dans la colonne d'eau apporte des éléments essentiels sur la qualité biologique et écologique de l'eau (Directive 2000/60/CE ; Souza et al., 2008). L'écologie phytoplanctonique est liée aux concentrations en nutriments dans l'eau et aux changements abiotiques de l'environnement. Un milieu eutrophe riche en nutriments présentera une population abondante en phytoplancton et une composition des taxa planctoniques typique de ce milieu. La quantification de la chlorophylle a permet notamment d'estimer simplement l'abondance du phytoplancton et l'état trophique des eaux douces (Sala et Austin, 2000). Le suivi des populations dans les EF a permis de statuer sur l'état biologique (oligotrophe, mésotrophe, eutrophe) de la phase aqueuse et de discerner des similitudes en termes de propriétés chimiques et biologiques de l'eau entre les EFS et EFC en 2015 et 2016.

L'essai suivant consiste en l'utilisation de deux tests d'inhibition de la croissance des végétaux et de suivis des phytométabolites. L'étude écotoxicologique des eaux par le test de germination et de croissance de l'espèce *Raphanus sativus* est un test rapide et simple à mettre en œuvre, permettant de vérifier la toxicité aigue d'un mélange de composés. L'utilisation de l'espèce *E. hirsutum* comme bioindicateur dans l'axe longitudinal des ZHA permet d'indiquer les variations spatiales et temporelles d'écotoxicité des contaminants par des mesures biométriques et des mesures non destructives d'indices représentatifs du statut physiologique des plantes (Guittonny-Philippe, et al. 2015 ; Tremblay et al., 2012). Le suivi des phytométabolites produit par les espèces végétales au travers de mesures instantanées et répétées dans le temps peuvent révéler des problèmes physiologiques non exprimées à

l'échelle macroscopique au travers notamment de symptômes visuels (hauteur des parties aériennes, chloroses et feuilles en cours de sénescence ; Brisson et Chazarenc, 2009). Le dépassement des seuils de détection (inhibition de la croissance et/ou de la germination entraîne une classification dans la catégorie dangereuse pour l'environnement. Si les résultats ne sont pas concluant, il est nécessaire de passer au niveau suivant qui consiste en un test rapide (bactérien) de toxicité générale. Le Microtox® est un essai biologique normalisé d'écotoxicité aquatique (ISO, 2007 ; Araújo et al. 2005 ; Li et al., 2009 ; Manusadžianas et al., 2003), il est le dernier niveau du schéma décisionnel. La toxicité des effluents industriels est mesurée par un test d'inhibition de la luminescence bactérienne. Ce test est particulièrement sensible aux effluents industriels, ces performances en font un outil bien adapté pour les essais de toxicité à grande échelle (Vasseur et al., 1984).

Les effluents industriels prétraités sont des effluents avec une composition diversifiée de polluant et cette composition est amenée à changer au cours de la journée ou au fil du temps. De plus il existe de nombreux facteurs environnementaux pouvant impacter le fonctionnement des ZHA tel qu'une sécheresse importante ou encore des épisodes pluviaux intenses augmentant considérablement le volume d'eau à traiter. Au vu de ces contraintes il est difficile concevoir une ZHA sur mesure, il est donc nécessaire d'adapter leur conception pour répondre à l'ensemble de ces besoins. L'utilisation de ce type de système offre des perspectives intéressantes en terme intégration écosystémique et de gestion des effluents industriels impactant les milieux naturels.

Lors de notre étude, il a été mis en évidence des différences entre les EF montrant ainsi la difficulté de construire des ZHA identiques à grande échelle (de type site-pilote) et dans des conditions naturelles. Or, si l'utilisation de réplicats est indispensable pour obtenir des résultats fiables et reproductibles, cette condition est rarement remplie dans le cas des expérimentations à grande échelle reportées dans la littérature. Mais une répliquabilité des ZHA est-elle possible ? Nous avons mis en évidence au cours de notre suivi des différences marquées entre les EF or nos systèmes sont encore jeunes. Il est envisageable qu'avec le temps ces différences s'estompent : il est donc indispensable de continuer un suivi à long terme (plusieurs années) pour valider nos hypothèses. Néanmoins, sur le long terme (une décennie), il faut prendre en considération les coût financiers et humain élevés, et l'augmentation de la probabilité de rencontrer des événements écologiques perturbateurs (invasion de ravageurs, épisodes climatiques exceptionnels, parasites...) pouvant compromettre le suivi scientifique. Il n'est pas non plus improbable que l'expression des

dynamiques végétales (espèces introduites et adventives) sur le long terme dévoile une résilience des ZHA face à ces aléas écologiques.

Par ailleurs, suite à notre partenariat avec la société BlueSET, et nos échanges avec plusieurs maîtres d'ouvrages travaillant régulièrement sur des ZHA, il a été constaté qu'il y a un manque de retours d'expériences concernant les dysfonctionnements (lors de la conception, de la construction, de l'entretien des ZHA), limitant ainsi la transmission de savoir entre les ingénieurs, les experts et les praticiens. Il apparaît donc pertinent de créer une base de données des ZHA implantées en France, et de créer un cycle d'échanges entre les divers acteurs des ZHA. Pour les chercheurs, une telle base de données permettrait de concevoir des systèmes répliquables, appropriés à l'expérimentation scientifique. Pour les praticiens, les retombées des recherches leur permettraient de pointer du doigt les verrous technologiques, et à terme d'améliorer la performance de leurs produits.

L'analyse bibliographique a montré que les ZHA sont des outils fréquemment utilisés, notamment pour le traitement des effluents domestiques. Or suite à nos travaux, l'une des questions critiques non résolues, liées aux changements climatiques, est de savoir si l'efficacité épuratoire est préservée malgré les pressions subies. En s'appuyant sur la base de données précédemment évoquée, il serait intéressant de suivre certaines ZHA (comparables à défaut d'être répliquables) et de déterminer comment le changement global impacte le fonctionnement de ces systèmes épuratoires. D'ailleurs, dans un contexte d'augmentation des épisodes de sécheresse, on peut maintenant poser un regard critique sur l'utilisation commune d'espèces tel que *Phragmites australis*, qui présente une importante évapotranspiration et entraîne une perte de la ressource en eau en sortie de système (Milano et Toscano, 2013).

Un regard plus attentif pourrait être posé sur les ZHA les plus anciennes (près de 50 ans d'existence) : comment ces systèmes se projettent-ils dans les changements globaux ? Est-ce qu'il y a des changements de fonctionnalité, mais que, malgré tout, la ZHA reste opérationnelle ? Si oui, quelles sont les clefs de cette résilience ? Il est probable que les écosystèmes se soient adaptés, ce qui a permis de maintenir l'efficacité épuratoire de ces « anciennes » ZHA (Cleland et al, 2007). Certaines clefs de compréhension ont été révélées. Par exemple Parmesan (2006) a montré que les plantes ont produit des écotypes adaptés aux changements climatiques. Il serait important de déterminer si la combinaison des changements physiologiques des héliophytes a, à elle seule, permis de créer un nouvel

équilibre fonctionnel. Là encore, ces résultats pourraient permettre de proposer des solutions conceptuelles pour assurer la pérennité des traitements par ZHA.

Pour les cas où il existe des dysfonctionnements dans les ZHA, il serait intéressant d'identifier les mécanismes qui sont impactés en premier, lesquels sont décisifs. Examiner ces paramètres améliorerait grandement notre compréhension de la façon dont les changements globaux impactent la fonctionnalité et la productivité d'un écosystème humide. Le défi réside dans la synthèse des différentes échelles d'interférence, pour faire des prédictions sur les futurs impacts des changements globaux à l'échelle des ZH. Toutefois les changements globaux ne sont pas homogènes sur toute la surface du globe : ils varient en fonction des régions géographiques (Alcamo et al., 2017).

Bibliographie

A

- Abira, M.A., Van Bruggen, J.J.A., Denny, P., 2005. Potential of a tropical subsurface constructed wetland to remove phenol from pre-treated pulp and papermill wastewater. *Water Sci. Technol.* 51, 173–176.
- Ábrahám, E., Hourton-Cabassa, C., Erdei, L., Szabados, L., 2010. Methods for Determination of Proline in Plants, in: *Plant Stress Tolerance, Methods in Molecular Biology*. Humana Press, pp. 317–331. doi:10.1007/978-1-60761-702-0_20
- AFNOR, 2003. NF ISO 17-993 Qualité de l'eau – Dosage de 15 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans l'eau par HPLC avec détection par fluorescence après extraction liquide-liquide. 20 p.
- Akratos, C. S., et Tsihrantzis V. A., 2007. Effect of Temperature, HRT, Vegetation and Porous Media on Removal Efficiency of Pilot-Scale Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands. *Ecological Engineering* 29, 173-191. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.06.013.
- Albuquerque, A., Oliveira, J., Semitela, S., Amaral, L., 2010. Evaluation of the effectiveness of horizontal subsurface flow constructed wetlands for different media. *J. Environ. Sci.* 22, 820–825. doi:10.1016/S1001-0742(09)60183-2
- Alcamo, J., Henrichs, T., & Rösch, T. (2017). *World water in 2025: Global modeling and scenario analysis for the world commission on water for the 21st century*. 49 p.
- Alloway, B.J., 1995. *Heavy Metals in Soils*. Springer Science & Business Media.
- Almeida, C.M.R., Santos, F., Ferreira, A.C.F., Lourinha, I., Basto, M.C.P., Mucha, A.P., 2017. Can veterinary antibiotics affect constructed wetlands performance during treatment of livestock wastewater? *Ecological Engineering* 102, 583–588. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.02.035
- Almeida, C.M.R., Santos, F., Ferreira, A.C.F., Lourinha, I., Basto, M.C.P., Mucha, A.P., 2017. Can veterinary antibiotics affect constructed wetlands performance during treatment of livestock wastewater? *Ecol. Eng.* 102, 583–588. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.02.035
- Alvord, H.H., Kadlec, R.H., 1996. Atrazine fate and transport in the Des Plaines wetlands. *Ecol. Model.* 90, 97–107.
- Amon, J.P., Agrawal, A., Shelley, M.L., Opperman, B.C., Enright, M.P., Clemmer, N.D., Slusser, T., Lach, J., Sobolewski, T., Gruner, W., Entingh, A.C., 2007. Development of a wetland constructed for the treatment of groundwater contaminated by chlorinated ethenes. *Ecol. Eng.* 30, 51–66. doi:10.1016/j.ecoleng.2007.01.008
- Anderson, T.A., Kruger, E.L., Coats, J.R., 1994. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. *Chemosphere* 28, 1551–1557. doi:10.1016/0045-6535(94)90248-8
- Andreo-Martínez, P., García-Martínez, N., Quesada-Medina, J., Almela, L., 2017. Domestic wastewaters reuse reclaimed by an improved horizontal subsurface-flow constructed wetland: A case study in the southeast of Spain. *Bioresour. Technol.* 233, 236–246. doi:10.1016/j.biortech.2017.02.123
- Ansola, G., González, J.M., Cortijo, R., de Luis, E., 2003. Experimental and full-scale pilot plant constructed wetlands for municipal wastewaters treatment. *Ecol. Eng.* 21, 43–52. doi:10.1016/j.ecoleng.2003.08.002
- Araújo, C.V.M., Nascimento, R.B., Oliveira, C.A., Strotmann, U.J., da Silva, E.M., 2005. The use of Microtox® to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil). *Chemosphere* 58, 1277–1281. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.10.036

- Armenante, P.M., Kafkewitz, D., Lewandowski, G., Kung, C.-M., 1992. Integrated anaerobic-aerobic process for the biodegradation of chlorinated aromatic compounds. *Environ. Prog. Sustain. Energy* 11, 113–122.
- Armstrong, J., Armstrong, W., 1988. *Phragmites australis*—A preliminary study of soil-oxidizing sites and internal gas transport pathways. *New Phytol.* 108, 373–382.
- Armstrong, J., Armstrong, W., 1990. Light-enhanced convective throughflow increases oxygenation in rhizomes and rhizosphere of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *New Phytol.* 114, 121–128.
- Atlas, R.M., 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180–209.
- Ávila, C., Bayona, J.M., Martín, I., Salas, J.J., García, J., 2015. Emerging organic contaminant removal in a full-scale hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse. *Ecol. Eng.* 80, 108–116. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.07.056

B

- Babu, T. S., Marder, J. B., Tripuranthakam, S., Dixon, D. G. et Greenberg, B. M., 2001. Synergistic effects of a photooxidized polycyclic aromatic hydrocarbon and copper on photosynthesis and plant growth: evidence that in vivo formation of reactive oxygen species is a mechanism of copper toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1351–1358.
- Barbera, A. C., Cirelli G. L., Cavallaro, V., Di Silvestro, I., Pacifici, P., Castiglione, V., Toscano, A. et Milani, M., 2009. Growth and Biomass Production of Different Plant Species in Two Different Constructed Wetland Systems in Sicily. *Desalination* 246, 129–136. doi:10.1016/j.desal.2008.03.046.
- Barceló, D., Petrovic, M., 2008. Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Removal technologies. Springer. 283 p.
- Batty, L.C., Baker, A.J.M., Wheeler, B.D., 2002. Aluminium and Phosphate Uptake by *Phragmites australis*: the Role of Fe, Mn and Al Root Plaques. *Ann. Bot.* 89, 443–449. doi:10.1093/aob/mcf067
- Becerra-Castro, C., Monterroso, C., García-Lestón, M., Prieto-Fernández, A., Acea, M.J., Kidd, P.S., 2009. Rhizosphere Microbial Densities and Trace Metal Tolerance of the Nickel Hyperaccumulator *Alyssum Serpyllifolium* Subsp. *Lusitanicum*. *Int. J. Phytoremediation* 11, 525–541. doi:10.1080/15226510902717549
- Beharrell, M., 2004a. Planting, Selection and Plant Establishment in Constructed Wetlands in a Tropical Environment, In: Wong, M.H. (Eds.), *Developments in Ecosystems*, volume 1. Elsevier B.V., pp. 311– 329.
- Beharrell, M., 2004b. Operation and maintenance for constructed wetlands, In: Wong, M.H. (Eds.), *Developments in Ecosystems*, volume 1. Elsevier B.V., pp. 347– 361.
- Bell, K.Y., Wells, M.J.M., Traexler, K.A., Pellegrin, M.-L., Morse, A., Bandy, J., 2011. Emerging Pollutants. *Water Environ. Res.* 83, 1906–1984. doi:10.2175/106143011X13075599870298
- Benelli, G., Pavela, R., Ricciutelli, M., Lupidi, G., Maggi, F., 2017. Efficacy of the volatile oil from water celery (*Helosciadium nodiflorum* , *Apiaceae*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* , the housefly *Musca domestica* , and the African cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Chem. Biodivers.* doi:10.1002/cbdv.201700376
- Benke, A.C., 1978. Interactions Among Coexisting Predators--A Field Experiment with Dragonfly Larvae. *J. Anim. Ecol.* 47, 335. doi:10.2307/3787
- Biggs, B.J., 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. *Freshwater biology* 33, 419–438.
- Biotope, 2009. Conservatoire du littoral – plan de gestion du site de Bolmon – Tome 1. 153 p.

- Bitton, G., Dutka, B.J., 1983. Bacterial and biochemical tests for assessing chemical toxicity in the aquatic environment: A review. *C R C Crit. Rev. Environ. Control* 13, 51–67. doi:10.1080/10643388309381702
- Blanchard, C., 2000. Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués. Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 241 p.
- Blanco, S., Ector, L., Bécares, E., 2004. Epiphytic diatoms as water quality indicators in Spanish shallow lakes. *Vie et Milieu* 54, 71–80.
- Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J., Makino, T., Kirkham, M.B., Scheckel, K., 2014. Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils – To mobilize or to immobilize? *J. Hazard. Mater.* 266, 141–166. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.12.018
- Bonner, R., Aylward, L., Kappelmeyer, U., Sheridan, C., 2017. A comparison of three different residence time distribution modelling methodologies for horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 99, 99–113. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.11.024
- Borcard, D., Gillet, F., Legendre, P. 2011. Numerical Ecology with R. Springer, New York, Dordrecht, London, Heidelberg. DOI 10.1007/978-1-4419-7976-6.
- Borne, K. E., Fassman-Beck E. A., et Tanner C. C., 2014. Floating Treatment Wetland Influences on the Fate of Metals in Road Runoff Retention Ponds. *Water Research* 48, 430–442. doi:10.1016/j.watres.2013.09.056.
- Braeckevelt, M., Rokadia, H., Imfeld, G., Stelzer, N., Paschke, H., Kusch, P., Kästner, M., Richnow, H.-H., Weber, S., 2007. Assessment of in situ biodegradation of monochlorobenzene in contaminated groundwater treated in a constructed wetland. *Environ. Pollut.* 148, 428–437. doi:10.1016/j.envpol.2006.12.008
- Brinson, M. M., & Malvárez, A. I., 2002. Temperate freshwater wetlands: types, status, and threats. *Environmental conservation*, 29, 115–133.
- Brisson, J., Chazarenc, F., 2009. Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection? *Sci. Total Environ.* 407, 3923–3930. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.05.047
- Brix, H., 1990. Gas exchange through the soil-atmosphere interphase and through dead culms of *Phragmites australis* in a constructed reed bed receiving domestic sewage. *Water Res.* 24, 259–266.
- Brix, H., 1994. Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 29, 71–78.
- Brix, H., 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Sci. Technol.* 35, 11–17.
- Brown, P.A., Gill, S.A., Allen, S.J., 2000. Metal removal from wastewater using peat. *Water Res.* 34, 3907–3916.
- Bulc, T.G., 2006. Long term performance of a constructed wetland for landfill leachate treatment. *Ecological Engineering* 26, 365–374. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.01.003
- Bürling, K., Cerovic, Z.G., Cornic, G., Ducruet, J.-M., Noga, G., Hunsche, M., 2013. Fluorescence-based sensing of drought-induced stress in the vegetative phase of four contrasting wheat genotypes. *Environ. Exp. Bot.* 89, 51–59. doi:10.1016/j.envexpbot.2013.01.003
- Buschmann, C., 2007. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynth. Res.* 92, 261–271. doi:10.1007/s11120-007-9187-8

C

- Caessteker P., 2007. Statut des inventaires des zones humides dans la région Méditerranéenne version 2.0. Fondation Tour du Valat, France. 145 p.

- Cakmak, I., Yazici, A.M., others, 2010. Magnesium: a forgotten element in crop production. *Better Crops* 94, 23–25.
- Calheiros, C.S.C., Duque, A.F., Moura, A., Henriques, I.S., Correia, A., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L., 2009. Substrate effect on bacterial communities from constructed wetlands planted with *Typha latifolia* treating industrial wastewater. *Ecol. Eng.* 35, 744–753. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.11.010
- Calvet, R., 2003. *Le sol : propriétés et fonctions, Tome 2, phénomènes physiques et chimiques, applications agronomiques et environnementales*. Editions France Agricole, 509 p.
- Carranza-Diaz, O., Schultze-Nobre L., Moeder M., Nivala J., Kusch P. et Koeser H., 2014. Removal of Selected Organic Micropollutants in Planted and Unplanted Pilot-Scale Horizontal Flow Constructed Wetlands under Conditions of High Organic Load. *Ecological Engineering* 71, 234–245. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.07.048.
- Casanova, M.T., Brock, M.A., 2000. How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities? *Plant Ecology* 147, 237–250.
- Chalker-Scott, L., 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and photobiology*, 70, 1–9.
- Charles, J., Sancey, B., Morin-Crini, N., Badot, P.-M., Degiorgi, F., Trunfio, G., Crini, G., 2011. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 2057–2064. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.07.025
- Charriau, A., Lissalde, S., Poulier, G., Mazzella, N., Buzier, R., Guibaud, G. 2016. Overview of the Chemcatcher for the passive sampling of various pollutants in aquatic environment Part A : Principles, calibration, preparation and analysis of the sampler *Talanta* 148, 556–571.
- Chatterjee, S., Mitra, A., Datta, S., Veer, V., 2013. Phytoremediation Protocols: An Overview, in: Gupta, D.K. (Ed.), *Plant-Based Remediation Processes*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 1–18. doi:10.1007/978-3-642-35564-6_1
- Chazarenc, F., Merlin, G., Gonthier, Y., 2003. Hydrodynamics of horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 21, 165–173. doi:10.1016/j.ecoleng.2003.12.001
- Chen, Y.X., Lin, Q., He, Y.F., Tian, G.M., 2004. Behavior of Cu and Zn under combined pollution of 2, 4-dichlorophenol in the planted soil. *Plant and soil* 261, 127–134.
- Cheng, S., Grosse, W., Karrenbrock, F., Thoennessen, M., 2002. Efficiency of constructed wetlands in decontamination of water polluted by heavy metals. *Ecol. Eng.* 18, 317–325.
- Choudhary, A.K., Kumar, S., Sharma, C., 2011. Constructed wetlands: an option for pulp and paper mill wastewater treatment. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. EJEAFCh* 10, 3023–3037.
- Choudhary, A.K., Kumar, S., Sharma, C., 2013. Removal of Chlorophenolics From Pulp and Paper Mill Wastewater Through Constructed Wetland. *Water Environ. Res.* 85, 54–62. doi:10.2175/106143012X13415215907419
- Choudhary, M., Kumar, R., Datta, A., Nehra, V., Garg, N., 2017. Bioremediation of Heavy Metals by Microbes, in: Arora, S., Singh, A.K., Singh, Y.P. (Eds.), *Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective*. Springer International Publishing, Cham, pp. 233–255. doi:10.1007/978-3-319-48257-6_12
- Clark, J.M., Chapman, P.J., Adamson, J.K., Lane, S.N., 2005. Influence of drought-induced acidification on the mobility of dissolved organic carbon in peat soils. *Glob. Change Biol.* 11, 791–809. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00937.x
- Cleland, E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H., Schwartz, M., 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 357–365.

doi:10.1016/j.tree.2007.04.003

- Coleman, J., Hench, K., Garbutt, K., Sexstone, A., Bissonnette, G., Skousen, J., 2001. Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands. *Water. Air. Soil Pollut.* 128, 283–295.
- Collins, B., McArthur, J.V., Sharitz, R.R., 2004. Plant effects on microbial assemblages and remediation of acidic coal pile runoff in mesocosm treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 23, 107–115. doi:10.1016/j.ecoleng.2004.07.005
- Collins, C.D., Martin, I., Doucette, W., 2011. Plant Uptake of Xenobiotics, in: *Organic Xenobiotics and Plants, Plant Ecophysiology*. Springer, Dordrecht, pp. 3–16. doi:10.1007/978-90-481-9852-8_1
- Cooper, P., 1999. A review of the design and performance of vertical-flow and hybrid reed bed treatment systems. *Water Sci. Technol.* 40, 1–9.
- Cooper, P.F., Findlater, B.C. (Eds.), 1990. *Constructed wetlands in water pollution control: proceedings of the International Conference on the Use of Constructed Wetlands in Water Pollution Control, held in Cambridge, UK, 24-28 September 1990*, 1st ed. ed, *Advances in water pollution control*. Pergamon Press, Oxford ; New York.
- Corbella, C., Garfi, M. et Puigagut, J., 2014. Vertical Redox Profiles in Treatment Wetlands as Function of Hydraulic Regime and Macrophytes Presence: Surveying the Optimal Scenario for Microbial Fuel Cell Implementation. *Science of The Total Environment* 470, 754-758. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.09.068.
- Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., Van Den Belt, M., 1998. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Ecol. Econ.* 25, 3–15. doi:10.1016/S0921-8009(98)00020-2
- Creus, C.M., Sueldo, R.J., Barassi, C.A., 1997. Shoot growth and water status in *Azospirillum* - inoculated wheat plantlets grown under osmotic and salt stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 35, 939-944.
- Cronk, J.K., 1996. Constructed wetlands to treat wastewater from dairy and swine operations: a review. *Agric. Ecosyst. Environ.* 58, 97–114.
- D**
- Dalzell, D.J.B., Alte, S., Aspichueta, E., de la Sota, A., Etxebarria, J., Gutierrez, M., Hoffmann, C.C., Sales, D., Obst, U., Christofi, N., 2002. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. *Chemosphere* 47, 535–545. doi:10.1016/S0045-6535(01)00331-9
- Daumalin, X., 2015. Émergence, représentation, instrumentalisation et régulation du risque chimique en Provence au début du XIXe siècle. Editions Picard.
- Davis, L., 1995. *A handbook of constructed wetlands: a guide to creating wetlands for: agricultural wastewater, domestic wastewater, coal mine drainage, stormwater in the Mid-Atlantic Region*. v. 1. General considerations. 53 p.
- Davis, T. J., 1994. *The Ramsar Convention manual: a guide to the convention on wetlands of international importance especially as waterfowl habitat*. Gland (Switzerland) Ramsar Convention Bureau. 207 p.
- De la Cal, A., Kuster, M., Loez de Alda, M., Eljarrat, E., Barcelo, D., 2008. Evaluation of the aquatic passive sampler Chemcatcher for the monitoring of highly hydrophobic compounds in water. *Talanta* 76, 327-332.

- De Szalay, F.A., Batzer, D.P., et Resh, V.H., 1996. Mesocosm and macrocosm experiments to examine effects of mowing emergent vegetation on wetland invertebrates. *Environ. Entomol.* 25, 303–309.
- Delgado, C., Pardo, I., García, L., 2012. Diatom communities as indicators of ecological status in Mediterranean temporary streams (Balearic Islands, Spain). *Ecological Indicators* 15, 131–139. doi:10.1016/j.ecolind.2011.09.037
- Demirezen, D., Aksoy, A., Uruç, K., 2007. Effect of population density on growth, biomass and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (*Lemnaceae*). *Chemosphere* 66, 553–557. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.045
- Diels, L., Spaans, P.H., Van Roy, S., Hooyberghs, L., Ryngaert, A., Wouters, H., Walter, E., Winters, J., Macaskie, L., Finlay, J., Pernfuss, B., Woebking, H., Pümpel, T., Tsezos, M., 2003. Heavy metals removal by sand filters inoculated with metal sorbing and precipitating bacteria. *Hydrometallurgy* 71, 235–241. doi:10.1016/S0304-386X(03)00161-0
- Dietz, A.C., Schnoor, J.L., 2001. Advances in phytoremediation. *Environ. Health Perspect.* 109, 163.
- Dimitriou, E., Karaouzas, I., Sarantakos, K., Zacharias, I., Bogdanos, K., Diapoulis, A., 2008. Groundwater risk assessment at a heavily industrialised catchment and the associated impacts on a peri-urban wetland. *Journal of Environmental Management* 88, 526–538. doi:10.1016/j.jenvman.2007.03.019
- Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 13/10/2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel* n°L 327 du 22/12/2000, 73p.
- Directive 2008/105/CE du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau. *Journal officiel des Communautés européennes* n° 348, 14 p.
- Directive 91/271/CEE du Conseil du 21 mai 1991, concernant le traitement des eaux urbaines résiduaires. *Journal officiel des Communautés européennes* n° L 135/40. 13 p.
- Dise N.B., E., 2009. Peatland response to global change. *Environ. Sci.* 326, 810–811. doi:10.1126/science.1174268
- Doble, M., Kumar, A., 2005. *Biotreatment of Industrial Effluents*. Butterworth-Heinemann.
- Dong, K., Lin, C., (1994). The purification mechanism of the system of wetlands and oxidation ponds. In *Proc. 4th Internat. Conf. Wetland Systems for Water Pollution Control*, Guangzhou, China.
- Dordio, A.V., Carvalho, A.J.P., 2013b. Organic xenobiotics removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of the support matrix. *J. Hazard. Mater.* 252–253, 272–292. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.03.008
- Dorman, L., Castle J. W., et Rodgers J. H., 2009. Performance of a Pilot-Scale Constructed Wetland System for Treating Simulated Ash Basin Water. *Chemosphere* 75, 939–947. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.01.012.
- Doty, S.L., 2008. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytol.* 179, 318–333. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02446.x
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., Johri, A.K., 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 143–152. doi:10.1007/s00253-002-1024-6
- Dunbabin, J.S., Bowmer, K.H., 1992. Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters containing metals. *Sci. Total Environ.* 111, 151–168.
- Dunn, O. J., 1964. Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6, 241–252.

- Eggleton, J., Thomas, K.V., 2004. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environ. Int.* 30, 973–980. doi:10.1016/j.envint.2004.03.001
- El Haité, H., El Yazami, D., Moatti, J.-P., Thiébault, S., 2016. Alliance nationale de recherche pour l'environnement. The mediterranean region under climate change: a scientific update.
- El-Shahawi, M.S., Hamza, A., Bashammakh, A.S., Al-Saggaf, W.T., 2010. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. *Talanta* 80, 1587–1597. doi:10.1016/j.talanta.2009.09.055
- Elabbas, S., Mandi, L., Berrekhis, F., Pons, M.N., Leclerc, J.P., Ouazzani, N., 2016. Removal of Cr(III) from chrome tanning wastewater by adsorption using two natural carbonaceous materials: Eggshell and powdered marble. *Journal of Environmental Management* 166, 589–595. doi:10.1016/j.jenvman.2015.11.012
- Eminson, D., Moss, B., 1980. The composition and ecology of periphyton communities in freshwaters : 1 The influence of host type and external environment on community composition. *British Phycological Journal* 15, 429–446. doi:10.1080/00071618000650431
- Engelhardt, K.A., Ritchie, M.E., 2002. The effect of aquatic plant species richness on wetland ecosystem processes. *Ecology* 83, 2911–2924.
- EPA, 1988. Design Manual: Constructed Wetlands and Aquatic Plant Systems for Municipal Wastewater Treatment. Report num. : US EPA 625-1- 88-022. Office of Research and Development. Washington, DC, USA. 93 p.
- EPA, 1993. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment and Wildlife Habitat. Report num. : US EPA 832-R-93-005. Office of Wastewater Management, Washington, DC, USA. 219 p.
- EPA, 2000a. Wastewater technology fact sheet wetlands: Subsurface flow. Report num.: US EPA 832-F-00-023. Office of Wastewater Management, Washington, DC, USA. 9 p. □
- EPA, 2000b. Manual – Constructed wetlands treatment of municipal wastewaters. Report num. : US EPA 625-R-99-010. Office of Research and Development Cincinnati, Ohio, USA. 166 p.
- EPA, 2000c. Guiding principles for constructed treatment wetlands: Providing for water quality and wildlife habitat. Report num. : US EPA 843-B-00-003. Office of Wetlands, Oceans and Watersheds, Washington, DC. 25 p.
- European Council, 1976. Council Directive of 4 may 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the community (76/464/EEC). *Official Journal of the European Communities*, 7 p.
- Everard, M., Denny, P., 1985. Flux of lead in submerged plants and its relevance to a freshwater system. *Aquat. Bot.* 21, 181–193. doi:10.1016/0304-3770(85)90088-9

F

- Faulwetter, J.L., Gagnon, V., Sundberg, C., Chazarenc, F., Burr, M.D., Brisson, J., Camper, A.K., Stein, O.R., 2009. Microbial processes influencing performance of treatment wetlands : A review. *Ecol. Eng.* 35, 987–1004. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.12.030
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., & Falkowski, P., 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281, 237-240.
- Fischer, E.M., Knutti, R., 2014. Detection of spatially aggregated changes in temperature and precipitation extremes: Fischer and Knutti: Detection of changes in extremes. *Geophysical Research Letters* 41, 547–554. doi:10.1002/2013GL058499
- Foladori, P., Ortigara, A.R.C., Ruaben, J., et Andreottola, G., 2012. Influence of High Organic Loads during the Summer Period on the Performance of Hybrid Constructed Wetlands (VSSF + HSSF) Treating Domestic Wastewater in the Alps Region. *Water Science & Technology* 65, 890-897. doi:10.2166/wst.2012.932.

- Fonder, N., Headley, T., 2010. Systematic Classification, Nomenclature and Reporting for Constructed Treatment Wetlands, in: Vymazal, J. (Ed.), *Water and Nutrient Management in Natural and Constructed Wetlands*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 191–219. doi:10.1007/978-90-481-9585-5_15
- Fonder, N., Headley, T., 2013. The taxonomy of treatment wetlands : A proposed classification and nomenclature system. *Ecol. Eng.* 51, 203–211. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.12.011
- for Statistical Computing, Vienna, Austria. 3573 p.
- Fossey, M., Rousseau, A.N., 2016. Assessing the long-term hydrological services provided by wetlands under changing climate conditions : A case study approach of a Canadian watershed. *Journal of Hydrology* 541, 1287–1302. doi:10.1016/j.jhydrol.2016.08.032
- Fournier, P., 1947 (rééd. 1990) – *Les quatre flores de France*. Ed. Lechevalier, Paris, 1104 p.
- Fraser, L.H., Carty, S.M., Steer, D., 2004. A test of four plant species to reduce total nitrogen and total phosphorus from soil leachate in subsurface wetland microcosms. *Bioresour. Technol.* 94, 185–192. doi:10.1016/j.biortech.2003.11.023
- ## G
- Gadd, G.M., 2010. Metals, minerals and microbes : geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156, 609–643. doi:10.1099/mic.0.037143-0
- Gambrell, R.P., 1994. Trace and toxic metals in wetlands – A review. *Journal of Environmental Quality*, 23, 883-891.
- García-Ruiz, J.M., López-Moreno, J.I., Vicente-Serrano, S.M., Lasanta-Martínez, T., Beguería, S., 2011. Mediterranean water resources in a global change scenario. *Earth-Science Reviews* 105, 121–139. doi:10.1016/j.earscirev.2011.01.006
- García, J., Chiva, J., Aguirre, P., Álvarez, E., Sierra, J.P., Mujeriego, R., 2004. Hydraulic behaviour of horizontal subsurface flow constructed wetlands with different aspect ratio and granular medium size. *Ecol. Eng.* 23, 177–187. doi:10.1016/j.ecoleng.2004.09.002
- García, J., Rousseau, D.P.L., Morató, J., Lesage, E., Matamoros, V., Bayona, J.M., 2010. Contaminant Removal Processes in Subsurface-Flow Constructed Wetlands : A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 40, 561–661. doi:10.1080/10643380802471076
- Garfi, M., Pedescoll, A., Bécares, E., Hijosa-Valsero, M., Sidrach-Cardona, R., García, J., 2012. Effect of climatic conditions, season and wastewater quality on contaminant removal efficiency of two experimental constructed wetlands in different regions of Spain. *Sci. Total Environ.* 437, 61–67. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.07.087
- Gersberg, R.M., Elkins, B.V., Lyon, S.R., Goldman, C.R., 1986. Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands. *Water Res.* 20, 363–368.
- Gerten, D., Luo, Y., Le Maire, G., Parton, W.J., Keough, C., Weng, E., Beier, C., Ciais, P., Cramer, W., Dukes, J.S., Hanson, P.J., Knapp, A. a. K., Linder, S., Nepstad, D., Rustad, L., Sowerby, A., 2008. Modelled effects of precipitation on ecosystem carbon and water dynamics in different climatic zones. *Global Change Biology* 14, 2365–2379. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01651.x
- Ghosh, D., Gopal, B., 2010. Effect of hydraulic retention time on the treatment of secondary effluent in a subsurface flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 36, 1044–1051. doi:10.1016/j.ecoleng.2010.04.017
- Giorgi, F., 2006. Climate change hot-spots. *Geophysical Research Letters* 33. doi:10.1029/2006GL025734
- Giorgi, F., Lionello, P., 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change* 63, 90–104. doi:10.1016/j.gloplacha.2007.09.005

- Gobran, G.R., Wenzel, W.W., Lombi, E., 2000. Trace Elements in the Rhizosphere. CRC Press.
- Gonzalez-Dugo, V., Durand, J.-L., Gastal, F., Picon-Cochard, C., 2005. Short-term response of the nitrogen nutrition status of tall fescue and Italian ryegrass swards under water deficit. *Aust. J. Agric. Res.* 56, 1269. doi:10.1071/AR05064
- Goudie, A.S., 2013. The Human Impact on the Natural Environment: Past, Present, and Future. John Wiley & Sons.
- Grabert, E., Kossler, F., 1997. About the effects of nutrients on the luminescent bacteria test. *Bioluminescence and Chemiluminescence*. John Wiley & Sons, Chichester, 291-294.
- Green, J.M.H., Sripanomyom, S., Giam, X., Wilcove, D.S., 2015. The ecology and economics of shorebird conservation in a tropical human-modified landscape. *J. Appl. Ecol.* 52, 1483–1491. doi:10.1111/1365-2664.12508
- Greenway, M., 2004. Constructed Wetlands for Water Pollution Control-Processes, Parameters and Performance. *Developments in Chemical Engineering and Mineral Processing* 12, 491–504.
- Gregor, J., Maršálek, B., 2004. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a : a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. *Water Res.* 38, 517–522. doi:10.1016/j.watres.2003.10.033
- Grime, J.P., 2006. Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties. John Wiley & Sons.
- Grisel, R., 2013. L'urgence d'une restauration écologique. *Lagun'R - Les Actes de Rencontres*, 8–13.
- Guitttonny-Philippe, A., 2014. Phytoépuration de mélanges de polluants organiques et métalliques pour la préservation des zones humides méditerranéennes : approche exploratoire vers la mise au point d'outils d'ingénierie écologique. Aix-Marseille.
- Guitttonny-Philippe, A., Masotti, V., Claeys-Bruno, M., Malleret, L., Coulomb, B., Prudent, P., Höhener, P., Petit, M.-É., Sargent, M., Laffont-Schwob, I., 2015. Impact of organic pollutants on metal and As uptake by helophyte species and consequences for constructed wetlands design and management. *Water Res.* 68, 328–341. doi:10.1016/j.watres.2014.10.014
- Guitttonny-Philippe, A., Masotti, V., Höhener, P., Boudenne, J.-L., Viglione, J., Laffont-Schwob, I., 2014. Constructed wetlands to reduce metal pollution from industrial catchments in aquatic Mediterranean ecosystems : A review to overcome obstacles and suggest potential solutions. *Environ. Int.* 64, 1–16. doi:10.1016/j.envint.2013.11.016
- Guitttonny-Philippe, A., Masotti, V., Rabier, J., Petit, M.-E., Malleret, L., Coulomb, B., Laffont-Schwob, I., 2015. Biomonitoring of *Epilobium hirsutum* L. Health Status to Assess Water Ecotoxicity in Constructed Wetlands Treating Mixtures of Contaminants. *Water* 7, 697–715. doi:10.3390/w7020697
- Guitttonny-Philippe, A., Petit, M.-E., Masotti, V., Monnier, Y., Malleret, L., Coulomb, B., Combroux, I., Baumberger, T., Viglione, J., Laffont-Schwob, I., 2015. Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminant mixtures. *J. Environ. Manage.* 147, 108–123. doi:10.1016/j.jenvman.2014.09.009
- Guntenspergen, G.R., Stearns, F., Kadlec, J.A., 1989. Wetland vegetation. In: Hammer, D.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, pp. 73–88.
- Guo, C., Cui Y., Dong B., Luo Y., Liu F., Zhao S., et Wu H., 2017. Test Study of the Optimal Design for Hydraulic Performance and Treatment Performance of Free Water Surface Flow Constructed Wetland. *Bioresource Technology* 238, 461-471. doi:10.1016/j.biortech.2017.03.163.
- Guo, C., Cui, Y., Dong, B., Liu, F., 2017. Tracer study of the hydraulic performance of constructed wetlands planted with three different aquatic plant species. *Ecol. Eng.* 102, 433–442. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.02.040

H

- Haarstad, K., Bavor, H.J., Mæhlum, T., 2011. Organic and metallic pollutants in water treatment and natural wetlands : a review. *Water Sci. Technol.* 65, 76. doi:10.2166/wst.2011.831
- Hadad, H.R., Maine M.A., et Bonetto C.A., 2006. Macrophyte Growth in a Pilot-Scale Constructed Wetland for Industrial Wastewater Treatment. *Chemosphere* 63, 1744-1753. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.09.014.
- Hainz, R., Wöber, C., Schagerl, M., 2009. The relationship between *Spirogyra* (Zygnematophyceae, Streptophyta) filament type groups and environmental conditions in Central Europe. *Aquatic Botany* 91, 173–180. doi:10.1016/j.aquabot.2009.05.004
- Hammer, D.A., 1989. *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Municipal, Industrial and Agricultural*. CRC Press.
- Harvey, P.J., Campanella, B.F., Castro, P.M., Harms, H., Lichtfouse, E., Schäffner, A.R., Smrcek, S., Werck-Reichhart, D., 2002. Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 9, 29–47.
- Haslam, S.M., 1971. Community Regulation in *Phragmites Communis* Trin.: I. Monodominant Stands. *J. Ecol.* 59, 65. doi:10.2307/2258452
- Haygood, M.G., Neilson, K.H., 1985. Mechanisms of iron regulation of luminescence in *Vibrio fischeri*. *J. Bacteriol.* 162, 209–216.
- Headley T.R., Tanner, C.C., 2006. Application of Floating Wetlands for Enhanced Stormwater Treatment : A Review. *Technical Publication*, 324 p.
- Headley, T.R., Kadlec, R.H., 2007. Conducting hydraulic tracer studies of constructed wetlands : a practical guide. *Ecohydrol. Hydrobiol.* 7, 269–282.
- Headley, T.R., Tanner, C.C., 2008. Floating treatment wetlands : an innovative option for stormwater quality applications, in : 11th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Indore, India.
- Hermany, G., Schwarzbald, A., Lobo, E.A., Oliveira, M.A., 2006. Ecology of the epilithic diatom community in a low-order stream system of the Guaíba hydrographical region : subsidies to the environmental monitoring of southern Brazilian aquatic systems. *Acta Limnol. Bras.* 18, 9–27.
- Hill, D. T., & Payton, J. D., 2000. Effect of plant fill ratio on water temperature in constructed wetlands. *Bioresource Technology*, 71, 283-289.
- Hinsinger, P., Gobran, G.R., Gregory, P.J., Wenzel, W.W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes : Research review. *New Phytol.* 168, 293–303. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01512.x
- Hollander, M., Wolfe, D.A., 1973. Nonparametric statistical methods. *Biom. J.* 17, 526–526. doi:10.1002/bimj.19750170808
- Holopainen, J.K., Heijari, J., Oksanen, E., Alessio, G.A., 2010. Leaf Volatile Emissions of *Betula pendula* during Autumn Coloration and Leaf Fall. *J. Chem. Ecol.* 36, 1068–1075.
- Hoshaw, R.W., McCourt, R.M., 1988. The Zygnemataceae (Chlorophyta): a twenty-year update of research *Phycologia* 27, 511–548.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., Chi Chang, C., 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol. Biochem.* 45, 62–69. doi:10.1016/j.plaphy.2006.12.005
- Hsu, M.J., Selvaraj, K., Agoramoorthy, G., 2006. Taiwan’s industrial heavy metal pollution threatens terrestrial biota. *Environ. Pollut.* 143, 327–334. doi:10.1016/j.envpol.2005.11.023

Huang, A.H., Cavalieri, A.J., 1979. Proline oxidase and water stress-induced proline accumulation in spinach leaves. *Plant Physiol.* 63, 531–535.

I

Ijaz, A., Shabir, G., Khan, Q.M., Afzal, M., 2015. Enhanced remediation of sewage effluent by endophyte-assisted floating treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 84, 58–66.
doi:10.1016/j.ecoleng.2015.07.025

Imfeld, G., Braeckevelt, M., Kusch, P., Richnow, H.H., 2009. Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere* 74, 349–362.
doi:10.1016/j.chemosphere.2008.09.062

IPCC, 2014. Climate Change 2014 : Synthesis report contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. 151 p.

ISO 5667-23, (2011). Qualité de l'eau - Échantillonnage -Partie 23 : Lignes directrices pour l'échantillonnage passif dans les eaux de surface. 23 p.

ISO, 2007. Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3 : Method using freeze-fried bacteria, ISO 11348-3, International Standard Organization. 28 p.

J

Jadhav, R.S., Buchberger, S.G., 1995. Effects of vegetation on flow through free water surface wetlands. *Ecol. Eng.* 5, 481–496.

Ji, G.D., Sun, T.H. et Ni, J.R., 2007. Surface Flow Constructed Wetland for Heavy Oil-Produced Water Treatment. *Bioresour. Technology* 98, 436–441. doi:10.1016/j.biortech.2006.01.017.

Jourdain, M.-J., Charissou, A.-M., 2007. État des connaissances sur le devenir de polluants organiques dans les sols lors de la biodégradation naturelle et après biotraitement : identification des composés « métabolites » et des cinétiques, étude n°05-0513/1A IRH ENVIRONNEMENT. 149 p.

Julve, P.H., 2017 ff. (1998 ff). baseveg. World vegetation database. Programme Catminat.
<http://www.tela-botanica.org>

K

Kadlec, R.H., 1995. Overview : surface flow constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 32, 1–12.

Kadlec, R.H., Wallace, S., 2008a. Treatment Wetlands, Second Edition. CRC Press. 1048 p.

Kanzari, F., Syakti, A.D., Asia, L., Malleret, L., Mille, G., Jamoussi, B., Abderrabba, M., Doumenq, P., 2012. Aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, organochlorine, and organophosphorous pesticides in surface sediments from the Arc river and the Berre lagoon, France. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 559–576.
doi:10.1007/s11356-011-0582-5

Kar, D., Sur, P., Mandai, S.K., Saha, T., Koley, R.K., 2008. Assessment of heavy metal pollution in surface water. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 5, 119–124.

Karathanasis, A.D., Potter C.L., Coyne, M.S., 2003. Vegetation Effects on Fecal Bacteria, BOD, and Suspended Solid Removal in Constructed Wetlands Treating Domestic Wastewater. *Ecological Engineering* 20, 157–169. doi:10.1016/S0925-8574(03)00011-9.

Kassambara, A., Mundt, F., 2016. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. R package version 1.0.3.

Kassenga, G., Pardue, J.H., Moe, W.M., Bowman, K.S., 2004. Hydrogen Thresholds as Indicators of Dehalorespiration in Constructed Treatment Wetlands. *Environ. Sci. Technol.* 38, 1024–1030.
doi:10.1021/es0348391

- Kassenga, G.R., Pardue, J.H., Blair, S., Ferraro, T., 2003. Treatment of chlorinated volatile organic compounds in upflow wetland mesocosms. *Ecol. Eng.* 19, 305–323.
- Keefe, S.H., Barber, L.B., Runkel, R.L., Ryan, J.N., 2004. Fate of volatile organic compounds in constructed wastewater treatment wetlands. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2209–2216. doi:10.1021/es034661i
- Kelly, M.G., Whitton, B.A., 1995. The trophic diatom index : a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* 7, 433–444.
- Kickuth, R., 1977. Degradation and incorporation of nutrients from rural wastewaters by plant rhizosphere under limnic conditions. *Utilization of Manure by Land Spreading. Comm. Europ. Commun., EUR 5672e*, London, UK, p. 335–343.
- Kirk, J.L., Moutoglou, P., Klironomos, J., Lee, H., Trevors, J.T., 2005. Toxicity of diesel fuel to germination, growth and colonization of *Glomus intraradices* in soil and in vitro transformed carrot root cultures. *Plant Soil* 270, 23–30. doi:10.1007/s11104-004-1013-x
- Knight, R.L., 1997. Wildlife habitat and public use benefits of treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 35, 35–43.
- Knowles, P., Dotro, G., Nivala, J., García, J., 2011. Clogging in subsurface-flow treatment wetlands : Occurrence and contributing factors. *Ecol. Eng.* 37, 99–112. doi:10.1016/j.ecoleng.2010.08.005
- Ko, C.-Y., Lai, C.-C., Hsu, H.-H., Shiah, F.-K., 2017. Decadal phytoplankton dynamics in response to episodic climatic disturbances in a subtropical deep freshwater ecosystem. *Water Research* 109, 102–113. doi:10.1016/j.watres.2016.11.011
- Komarek, J. et Anagnostidis, K., 1999 — *Cyanoprokaryota I. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 19/1, Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag, 548 p.
- Komarek, J. et Anagnostidis, K., 2005 — *Cyanoprokaryota II. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 19/2, Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag, 789 p. □
- Konnerup, D., Koottatep, T., et Brix, H., 2009. Treatment of Domestic Wastewater in Tropical, Subsurface Flow Constructed Wetlands Planted with *Canna* and *Heliconia*. *Ecological Engineering* 35, 248–257. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.04.018.
- Krammer, K. et Lange-bertalot, H., 1991a — *Bacillariophyceae: Centrales. Fragilariaceae. Eunotiaceae. T3. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 2/3. Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag, 576 p.
- Krammer, K. et Lange-bertalot H., 1986 — *Bacillariophyceae: Naviculaceae. T1. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 2/1. Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag 876 p.
- Krammer, K. et Lange-bertalot H., 1988 — *Bacillariophyceae: Epithemiaceae. Surirellaceae. T2. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 2/2. Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag, 596 p.
- Krammer, K. et Lange-bertalot, H., 1991b — *Bacillariophyceae : Achnantaceae T4. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds), Süßwasser ora von Mitteleuropa*, Band 2/4. Stuttgart, Jena, Gustav Fischer Verlag, 437 p.
- Küpper, H., Küpper, F., Spiller, M., 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *J. Exp. Bot.* 47, 259–266.
- Kyambadde, J., Kansime F., et Dalhammar, G., 2005. Nitrogen and phosphorus removal in substrate-free pilot constructed wetlands with horizontal surface flow in Uganda. *Water, Air, & Soil Pollution* 165, 37–59.

Kyambadde, J., Kansime, F., Gumaelius, L., Dalhammar, G., 2004. A comparative study of *Cyperus papyrus* and *Miscanthidium violaceum*-based constructed wetlands for wastewater treatment in a tropical climate. *Water Res.* 38, 475–485. doi:10.1016/j.watres.2003.10.008

L

Ladislav, S., Gérente, C., Chazarenc, F., Brisson, J., Andrès, Y., 2015. Floating treatment wetlands for heavy metal removal in highway stormwater ponds. *Ecol. Eng.* 80, 85–91. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.115

Laffont-Schwob, I., Moreau, X., Masotti, V., Di Giorgio, C., De Jong-Moreau, L., Rabier, J., De Méo, M., Martin-Chauvin, C., Sarrazin, L., Rousset, F., 2009. Outils décisionnels dans la gestion des pollutions accidentelles des cours d'eau : vers des solutions écologiquement durables. *Ingénieries* 9–16.

Lapworth, D.J., Baran, N., Stuart, M.E., Ward, R.S., 2012. Emerging organic contaminants in groundwater : A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* 163, 287–303. doi:10.1016/j.envpol.2011.12.034

Larue, C., Korboulewsky, N., Wang, R., Mévy, J.-P., 2010. Depollution potential of three macrophytes : Exudated, wall-bound and intracellular peroxidase activities plus intracellular phenol concentrations. *Bioresour. Technol.* 101, 7951–7957. doi:10.1016/j.biortech.2010.05.010

Lea, U.S., Slimestad, R., Smedvig, P., Lillo, C., 2007. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway. *Planta* 225, 1245–1253. doi:10.1007/s00425-006-0414-x

LeDuc, D.L., Terry, N., 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 32, 514–520. doi:10.1007/s10295-005-0227-0

Lee, B.-H., et Scholz, M., 2007. What Is the Role of *Phragmites Australis* in Experimental Constructed Wetland Filters Treating Urban Runoff? *Ecological Engineering* 29, 87-95. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.08.001.

Lee, C., Fletcher, T.D., Sun, G., 2009. Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Eng. Life Sci.* 9, 11–22. doi:10.1002/elsc.200800049

Lee, S., Pardue, J.H., Moe, W.M., Valsaraj, K.T., 2003. Mineralization of desorption-resistant 1, 4-dichlorobenzene in wetland soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2312–2322.

Lesage, E., 2006. Behaviour of heavy metals in constructed treatment wetlands. Ghent University.

Leto, C., Tuttolomondo, T., La Bella, S., Leone, R., Licata, M., 2013. Effects of plant species in a horizontal subsurface flow constructed wetland – phytoremediation of treated urban wastewater with *Cyperus alternifolius* L. and *Typha latifolia* L. in the West of Sicily (Italy). *Ecol. Eng.* 61, 282–291. doi:10.1016/j.ecoleng.2013.09.014

Levenspiel, O., 1999. Chemical Reaction Engineering. *Ind. Eng. Chem. Res.* 38, 4140–4143. doi:10.1021/ie990488g

Lewis, B.G., Johnson, C.M., Delwiche, C.C., 1966. Release of volatile selenium compounds by plants. Collection procedures and preliminary observations. *J. Agric. Food Chem.* 14, 638–640.

Li, H., Wang, J., Teng, Y., Wang, Z., 2006. Study on the mechanism of transport of heavy metals in soil in western suburb of Beijing. *Chin. J. Geochem.* 25, 173–177.

Li, X., Manman, C., & Anderson, B. C. (2009). Design and performance of a water quality treatment wetland in a public park in Shanghai, China. *ecological engineering*, 35, 18-24.

Liang, M.-Q., Zhang, C.-F., Peng, C.-L., Lai, Z.-L., Chen, D.-F., et Chen, Z.-H., 2011. Plant Growth, Community Structure, and Nutrient Removal in Monoculture and Mixed Constructed Wetlands. *Ecological Engineering* 37, 309-316. doi:10.1016/j.ecoleng.2010.11.018.

- Liebowitz, B.L., Collins, A.G., Theis, T.L., Young, T.C., 2000. Subsurface Flow Wetland for Wastewater Treatment at Minoa, New York. State Energy Research and Development Authority, New York, NY.
- Lin, Q., Shen, K.-L., Zhao, H.-M., Li, W.-H., 2008. Growth response of *Zea mays* L. in pyrene–copper co-contaminated soil and the fate of pollutants. *Journal of Hazardous Materials* 150, 515–521. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.04.132
- Lin, Y.-F., Jing, S.-R., Lee, D.-Y., Chang, Y.-F., Chen, Y.-M., Shih, K.-C., 2005. Performance of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate. *Environ. Pollut.* 134, 411–421. doi:10.1016/j.envpol.2004.09.015
- Lissalde, S., Charriau, A., Poulier, G., Mazzella, N., Buzier, R. et Guibaud, G., (2016). Overview of the Chemcatchers for the passive sampling of various pollutants in aquatic environments Part B : Field handling and environmental applications for the monitoring of pollutants and their biological effects. *Talanta* 148, 572-582.
- Liu, H., Hu, Z., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W., Liang, S., Fan, J., Lu, S., Wu, H., 2016. Optimizations on supply and distribution of dissolved oxygen in constructed wetlands : A review. *Bioresour. Technol.* 214, 797–805. doi:10.1016/j.biortech.2016.05.003
- Liu, J.-G., Li, G.-H., Shao, W.-C., Xu, J.-K., et Wang, D.-K., 2010. Variations in uptake and translocation of copper, chromium and nickel among nineteen wetland plant species. *Pedosphere* 20, 96-103.
- Lund, J.W.G., Kipling, C. et Le Crene, E.D., 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143-190.
- M**
- Macek, T., Mackova, M., Káš, J., 2000. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnol. Adv.* 18, 23–34.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice Hall/Pearson Education.
- Maier, R.M., Pepper, I.L., Gerba, C.P., 2009. *Environmental Microbiology*. Academic Press.
- Maier, U., DeBiase, C., Baeder-Bederski, O., Bayer, P., 2009. Calibration of hydraulic parameters for large-scale vertical flow constructed wetlands. *J. Hydrol.* 369, 260–273. doi:10.1016/j.jhydrol.2009.02.032
- Maine, M.A., Hadad, H.R., Sánchez, G.C., Di Luca, G.A., Mufarrege, M.M., Caffaratti, S.E., et Pedro, M.C., 2017. Long-Term Performance of Two Free-Water Surface Wetlands for Metallurgical Effluent Treatment. *Ecological Engineering* 98, 372-377. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.07.005.
- Maine, M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G., Bonetto, C., 2006. Nutrient and metal removal in a constructed wetland for wastewater treatment from a metallurgic industry. *Ecol. Eng.* 26, 341–347. doi:10.1016/j.ecoleng.2005.12.004
- Maltais-Landry, G., Chazarenc, F., Comeau, Y., Troesch, S., Brisson, J., 2007. Effects of artificial aeration, macrophyte species, and loading rate on removal efficiency in constructed wetland mesocosms treating fish farm wastewater. *J. Environ. Eng. Sci.* 6, 409–414. doi:10.1139/s06-069
- Mantovi, P., Marmiroli, M., Maestri, E., Tagliavini, S., Piccinini, S., Marmiroli, N., 2003. Application of a horizontal subsurface flow constructed wetland on treatment of dairy parlor wastewater. *Bioresour. Technol.* 88, 85–94.
- Manusadzianas, L., Balkelyt, L., Sadauskas, K., Blinova, I., Pollumaa, L., & Kahru, A., 2003. Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters : selection of the biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices. *Aquatic toxicology*, 63, 27-41.

- Marchand, L., Mench, M., Jacob, D.L., Otte, M.L., 2010a. Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements : A review. *Environ. Pollut.* 158, 3447–3461. doi:10.1016/j.envpol.2010.08.018
- Marchand, L., Mench, M., Jacob, D.L., Otte, M.L., 2010b. Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements : A review. *Environ. Pollut.* 158, 3447–3461. doi:10.1016/j.envpol.2010.08.018
- Mardia, K.V., Kent, J.T., Bibby, J.M., 1979. Multivariate analysis, Probability and mathematical statistics. Academic Press, London ; New York.
- Martin, B.C., George, S.J., Price, C.A., Ryan, M.H., Tibbett, M., 2014. The role of root exuded low molecular weight organic anions in facilitating petroleum hydrocarbon degradation : Current knowledge and future directions. *Sci. Total Environ.* 472, 642–653. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.050
- Masbough, A., Frankowski, K., Hall, K.J., Duff, S.J.B., 2005. The effectiveness of constructed wetland for treatment of woodwaste leachate. *Ecol. Eng.* 25, 552–566. doi:10.1016/j.ecoleng.2005.07.006
- Masi, F., Martinuzzi, N., 2007. Constructed wetlands for the Mediterranean countries : hybrid systems for water reuse and sustainable sanitation. *Desalination* 215, 44–55. doi:10.1016/j.desal.2006.11.014
- Masi, F., Rizzo, A., Bresciani, R., Conte, G., 2017. Constructed wetlands for combined sewer overflow treatment: Ecosystem services at Gorla Maggiore, Italy. *Ecol. Eng.* 98, 427–438. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.03.043
- Master, E.R., Lai, V.W.-M., Kuipers, B., Cullen, W.R., Mohn, W.W., 2002. Sequential Anaerobic–Aerobic Treatment of Soil Contaminated with Weathered Aroclor 1260. *Environ. Sci. Technol.* 36, 100–103. doi:10.1021/es001930l
- Matamoros, V., García, J., Bayona, J.M., 2008. Organic micropollutant removal in a full-scale surface flow constructed wetland fed with secondary effluent. *Water Res.* 42, 653–660. doi:10.1016/j.watres.2007.08.016
- Matamoros, V., Puigagut, J., García, J., Bayona, J.M., 2007. Behavior of selected priority organic pollutants in horizontal subsurface flow constructed wetlands : A preliminary screening. *Chemosphere* 69, 1374–1380. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.05.012
- Matamoros, V., Rodríguez, Y., et Bayona, J. M., 2017. Mitigation of Emerging Contaminants by Full-Scale Horizontal Flow Constructed Wetlands Fed with Secondary Treated Wastewater. *Ecological Engineering* 99, 222–227. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.11.054.
- McKinlay, R.G., Kasperek, K., 1999. Observations on decontamination of herbicide-polluted water by marsh plant systems. *Water Res.* 33, 505–511.
- Megateli, S., Semsari, S., Couderchet, M., 2009. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1774–1780. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.05.004
- Mehta, S.K., Gaur, J.P., 1999. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.* 143, 253–259.
- Mench, M., Morel, J.L., Guckert, A., Guillet, B., 1988. Metal binding with root exudates of low molecular weight. *Eur. J. Soil Sci.* 39, 521–527.
- Mench, M., Vangronsveld, J., Didier, V., Clijsters, H., 1994. Evaluation of metal mobility, plant availability and immobilization by chemical agents in a limed-silty soil. *Environ. Pollut.* 86, 279–286.

- Mendez, M.O., Maier, R.M., 2007. Phytostabilization of Mine Tailings in Arid and Semiarid Environments—An Emerging Remediation Technology. *Environ. Health Perspect.* 116, 278–283. doi:10.1289/ehp.10608
- Mendonça, E., Picado, A., Paixão, S.M., Barbosa, M., Cunha, M.A., Silva, L.M., 2011. The role of ecotoxicological evaluation in changing the environmental paradigm of wastewater treatment management, in : 6th Dubrovnik Conference on Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems.
- Meyer, S., 2003. UV-induced blue-green and far-red fluorescence along wheat leaves : a potential signature of leaf ageing. *J. Exp. Bot.* 54, 757–769. doi:10.1093/jxb/erg063
- Michaud, A., 2007. Interaction entre la biodisponibilité, phytotoxicité du cuivre et la nutrition en fer de graminées : mécanismes physiologiques et rhizosphériques. Montpellier, ENSA.
- Milani, M., Toscano, A., 2013. Evapotranspiration from pilot-scale constructed wetlands planted with *Phragmites australis* in a Mediterranean environment. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 48, 568–580. doi:10.1080/10934529.2013.730457
- Milano, M., Ruelland, D., Fernandez, S., Dezetter, A., Fabre, J., Servat, E., 2012. Facing climatic and anthropogenic changes in the Mediterranean basin: What will be the medium-term impact on water stress? *Comptes Rendus Geoscience* 344, 432–440. doi:10.1016/j.crte.2012.07.006
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K., 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65, 1027–1039. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.03.033
- Mitsch, W.J., 2012. What is ecological engineering? *Ecol. Eng.* 45, 5–12. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.04.013
- Mitsch, W.J., Gosselink, J.G., 2000. The value of wetlands : importance of scale and landscape setting. *Ecol. Econ.* 35, 25–33.
- Mohammed, A., Babatunde, A.O., 2017. Modelling heavy metals transformation in vertical flow constructed wetlands. *Ecol. Model.* 354, 62–71. doi:10.1016/j.ecolmodel.2017.03.012
- Molle, P., Liénard, A., Grasmick, A., Iwema, A., 2006. Effect of reeds and feeding operations on hydraulic behaviour of vertical flow constructed wetlands under hydraulic overloads. *Water Res.* 40, 606–612. doi:10.1016/j.watres.2005.11.026
- Moshiri, G.A., 1993. *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. CRC Press. 634 p.
- Mucha, A.P., Teixeira, C., Reis, I., Magalhães, C., Bordalo, A.A., Almeida, C.M.R., 2013. Response of a salt marsh microbial community to metal contamination. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 130, 81–88. doi:10.1016/j.ecss.2013.01.016
- Muga, H.E., Mihelcic, J.R., 2008. Sustainability of wastewater treatment technologies. *J. Environ. Manage.* 88, 437–447. doi:10.1016/j.jenvman.2007.03.008
- Mulamoottil, G., McBean, E.A., Rovers, F., 1998. *Constructed Wetlands for the Treatment of Landfill Leachates*. CRC Press. 304 p.

N

- Neumann, G., 2007. Root Exudates and Nutrient Cycling, in : *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems, Soil Biology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 123–157. doi:10.1007/978-3-540-68027-7_5
- Newton, R.J., Sen, S., Puryear, J.D., 1986. Free proline changes in *Pinus taeda* L. callus in response to drought stress. *Tree Physiol.* 1, 325–332.
- Nichols, D.S., 1983. Capacity of natural wetlands to remove nutrients from wastewater. *J. Water Pollut. Control Fed.* 495–505.

Nivala, J., Hoos, M.B., Cross, C., Wallace, S., Parkin, G., 2007. Treatment of landfill leachate using an aerated, horizontal subsurface-flow constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 380, 19–27. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.12.030

Norman, A.G., 1962. The uniqueness of plants. *Am. Sci.* 50, 436–449.

O

Okurut, T.O., Rijs, G.B.J., Van Bruggen, J.J.A., 1999. Design and performance of experimental constructed wetlands in Uganda, planted with *Cyperus papyrus* and *Phragmites mauritianus*. *Water Sci. Technol.* 40, 265–271.

Omari, K., Revitt, M., Shutes, B., et Garelick, H., 2003. Hydrocarbon removal in an experimental gravel bed constructed wetland. *Water science and technology* 48, 275–281.

Ottová, V., Balcarová, J., Vymazal, J., 1997. Microbial characteristics of constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 35, 117–123.

Ouellet-Plamondon, C., Chazarenc, F., Comeau, Y., Brisson, J., 2006. Artificial aeration to increase pollutant removal efficiency of constructed wetlands in cold climate. *Ecological Engineering* 27, 258–264. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.03.006

Oustriere, N., Marchand, L., Roulet, E., et Mench, M., 2017. Rhizofiltration of a Bordeaux Mixture Effluent in Pilot-Scale Constructed Wetland Using *Arundo Donax* L. Coupled with Potential Cu-Ecocatalyst Production. *Ecological Engineering* 105, 296305. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.04.047.

P

Page, D., Dillon, P., Mueller, J., Bartkow, M., 2010. Quantification of herbicide removal in a constructed wetland using passive samplers and composite water quality monitoring. *Chemosphere* 81, 394–399. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.07.002

Papaevangelou, V. A., Gikas, G. D., Vryzas, Z., et Tsihrintzis, V. A., 2017. Treatment of Agricultural Equipment Rinsing Water Containing a Fungicide in Pilot-Scale Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands. *Ecological Engineering* 101, 193–200. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.01.045.

Parnesan, C., 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37, 637–669. doi:10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100

Passy, S.I., 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* 86, 171–178. doi:10.1016/j.aquabot.2006.09.018

Passy, S.I., Bode, R.W., 2004. Diatom model affinity (DMA), a new index for water quality assessment. *Hydrobiologia* 524, 241–252.

Passy, S.I., Pan, Y., Lowe, R.L., 1999. Ecology of the major periphytic diatom communities from the Mesta River, Bulgaria. *International Review of Hydrobiology* 84, 129–174.

Pearce, F., & Crivelli, A. J., 1994. Characteristics of Mediterranean wetlands. *Fondation Tour du Valat, France*. 89 p.

Persson, J., Somes, N.L.G., Wong, T.H.F., 1999. Hydraulics efficiency of constructed wetlands and ponds. *Water Sci. Technol.* 40, 291–300. doi:10.1016/S0273-1223(99)00448-5

Persson, J., Wittgren, H.B., 2003. How hydrological and hydraulic conditions affect performance of ponds. *Ecol. Eng.* 21, 259–269. doi:10.1016/j.ecoleng.2003.12.004

Petit M.-E., Nehmtow J., Masotti V., Guittonny-Philippe A., Flutet N., Delabrosse J., Alary A., Viglione J., Laffont-Schwob I. (2016). Concevoir un système pilote de phytoépuration des

effluents industriels : contraintes et potentiels en conditions réelles. 7èmes Journées du Réseau d'Échanges et de Valorisation en Écologie de la restauration. 18-20 janvier, Bordeaux, France.

- Picard, C.R., Fraser, L.H., Steer, D., 2005. The interacting effects of temperature and plant community type on nutrient removal in wetland microcosms. *Bioresour. Technol.* 96, 1039–1047. doi:10.1016/j.biortech.2004.09.007
- Picard, D., 1992. De la communication à l'interaction : l'évolution des modèles. *Communication et langages* 93, 69–83. doi:10.3406/colan.1992.2380
- Pilet, S., 2009. Etude des interactions de compétition entre plantes subordonnées et dominantes.
- Pilon-Smits, E., 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol* 56, 15–39.
- Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P., 2007. *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*, Second Edition. CRC Press.
- Polade, S.D., Pierce, D.W., Cayan, D.R., Gershunov, A., Dettinger, M.D., 2015. The key role of dry days in changing regional climate and precipitation regimes. *Scientific Reports* 4. doi:10.1038/srep04364
- Polprasert C., 2004. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Principles and Practices, In: Wong, M.H. (Eds.), *Developments in Ecosystems*, volume 1. Elsevier B.V., pp. 285 – 310.
- Price, T. and Probert, D., 1997. Role of constructed wetlands in environmentally-sustainable developments. *Applied Energy*. 57, 129-174.
- Proctor, L.M., Gunsalus, R.P., 2000. Anaerobic respiratory growth of *Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri* and *Photobacterium leiognathi* with. *Environ. Microbiol.* 2, 399–406.

Q

- Qian, J.-H., Zayed, A., Zhu, Y.-L., Yu, M., Terry, N., 1999. Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: III. Uptake and Accumulation of Ten Trace Elements by Twelve Plant Species. *J. Environ. Qual.* 28, 1448–1455. doi:10.2134/jeq1999.00472425002800050009x

R

- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation
- Rabier, J., Laffont-Schwob, I., Bouraïma-Madjèbi, S., Léon, V., Prudent, P., Viano, J., Nabors, M.W., Pilon-Smits, E.A.H., 2007. Characterization of Metal Tolerance and Accumulation in *Grevillea Exul* VAR *Exul*. *Int. J. Phytoremediation* 9, 419–435. doi:10.1080/15226510701606315
- Rabier, J., Laffont-Schwob, I., Pricop, A., Ellili, A., D'Enjoy-Weinkammerer, G., Salducci, M.-D., Prudent, P., Lotmani, B., Tonetto, A., Masotti, V., 2014. Heavy Metal and Arsenic Resistance of the Halophyte *Atriplex halimus* L. Along a Gradient of Contamination in a French Mediterranean Spray Zone. *Water. Air. Soil Pollut.* 225. doi:10.1007/s11270-014-1993-y
- Rameau, J.C., Mansion, D. et Dume, G., 1993. Flore forestière française, Guide écologique illustré. Tome 3 Méditerranée. Institut pour le Développement Forestier. 2426 p.
- Ran, N., Agami, M., et Oron, G., 2004. A Pilot Study of Constructed Wetlands Using Duckweed (*Lemna Gibba* L.) for Treatment of Domestic Primary Effluent in Israel. *Water Research* 38, 2241–2248. doi:10.1016/j.watres.2004.01.043.
- Rash, J.K., Liehr, S.K., 1999. Flow pattern analysis of constructed wetlands treating landfill leachate. *Water Sci. Technol.* 40, 309–315.
- Reddy, K.R., DeLaune, R.D., 2008. *Biogeochemistry of Wetlands: Science and Applications*. CRC Press.

- Reeb, G., Werckmann, M., 2005. First performance data on the use of two pilot-constructed wetlands for highly loaded non-domestic sewage. *Natural and constructed wetlands: nutrients, metals and management*, 43-51.
- Rehman, F., Pervez, A., Mahmood, Q., Nawab, B., 2017. Wastewater remediation by optimum dissolve oxygen enhanced by macrophytes in constructed wetlands. *Ecological Engineering* 102, 112–126. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.01.030
- Reuter, D., Robinson, J.B., 1997. *Plant Analysis : An Interpretation Manual*. Csiro Publishing.
- Reynolds, C.S., 2006. *Ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge; New York. 551 p.
- Reynolds, C.S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., Melo, S., 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.* 24, 417–428.
- Richardson, A.E., Barea, J.-M., McNeill, A.M., Prigent-Combaret, C., 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321, 305–339. doi:10.1007/s11104-009-9895-2
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Garcia, P.C., Lopez-Lefebvre, L.R., Sánchez, E., Romero, L., 2001. Resistance to cold and heat stress : accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Sci.* 160, 315–321.
- Roads, J., Oglesby, R., Hoffman, F., Robertson, F., 2005. Acceleration of the global hydrologic cycle. *Encyclopedia of Hydrological Sciences*.
- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., 2009. *L'analyse de l'eau*. Dunod, Paris.
- Rollin, C., Quiot, F., 2005. *Hydrocarbures aromatiques polycycliques, guides méthodologique. Acquisition des données d'entrée des modèles analytiques ou numériques de transferts dans les sols et les eaux souterraines. Rapport d'études INERIS n°66244-DESP-R01*, 85 p.
- Rovira, A.D., 1959. Root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant Soil* 11, 53–64. doi:10.1007/BF01394753
- ## S
- SAFEGE, 2009. *Ruisseau du Bausset et Vallat du Ceinturon, synthèse des investigations*, 378 p.
- Sala, O.E., Austin, A.T., 2000. Methods of estimating aboveground net primary productivity. *Methods in ecosystem science*, 31-43.
- Sala, O.E., Jackson, R.B., Mooney, H.A., Howarth, R., 2013. *Methods in Ecosystem Science*. Springer Science & Business Media.
- Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 49, 643–668.
- Sand-Jensen, K., Borum, J., 1991. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquat. Bot.* 41, 137–175.
- Sandrin, T.R., Maier, R.M., 2003. Impact of Metals on the Biodegradation of Organic Pollutants. *Environmental Health Perspectives* 111, 1093–1101. doi:10.1289/ehp.5840
- Saradhi, P.P., AliaArora, S., Prasad, K.V.S.K., 1995. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation. *Biochemical and biophysical research communications*, 209, 1-5.
- Schindler, D.W., 1998. Whole-ecosystem experiments: replication versus realism : the need for ecosystem-scale experiments. *Ecosystems* 1, 323–334.
- Scholz, M., Lee, B., 2005. Constructed wetlands : a review. *Int. J. Environ. Stud.* 62, 421–447. doi:10.1080/00207230500119783
- Schröder, P., Navarro-Aviñó, J., Azaizah, H., Goldhirsh, A.G., DiGregorio, S., Komives, T., Langergraber, G., Lenz, A., Maestri, E., Memon, A.R., Ranalli, A., Sebastiani, L., Smrcek, S.,

- Vanek, T., Vuilleumier, S., Wissing, F., 2007. Using phytoremediation technologies to upgrade waste water treatment in Europe. *Environ. Sci. Pollut. Res. - Int.* 14, 490–497. doi:10.1065/espr2006.12.373
- Schwartz, M.E., Boyd, C.E., 1995. Constructed wetlands for treatment of channel catfish pond effluents. *Progress. Fish-Cult.* 57, 255–266.
- Seeger, E. M., Kuschik, P., Fazekas, H., Grathwohl, P., et Kaestner, M., 2011. Bioremediation of Benzene-, MTBE- and Ammonia-Contaminated Groundwater with Pilot-Scale Constructed Wetlands. *Environmental Pollution* 159, 3769–3776. doi:10.1016/j.envpol.2011.07.019.
- Seidel K., 1953. Pflanzungen zwischen Gewässern und Land. *Mitteilungen Mas-Planck Gessellschaft.* 17-20.
- Shaibur, M.R., Kitajima, N., Sugawara, R., Kondo, T., Huq, S.M.I., Kawai, S., 2006. Physiological and mineralogical properties of arsenic-induced chlorosis in rice seedlings grown hydroponically. *Soil Sci. Plant Nutr.* 52, 691–700. doi:10.1111/j.1747-0765.2006.00085.x
- Shelef, O., Golan-Goldhirsh, A., Gendler, T., et Rachmilevitch, S., 2011. Physiological Parameters of Plants as Indicators of Water Quality in a Constructed Wetland. *Environmental Science and Pollution Research* 18, 12341242. doi:10.1007/s11356-011-0473-9.
- Sheoran, A.S., Sheoran, V., 2006. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands : A critical review. *Miner. Eng.* 19, 105–116. doi:10.1016/j.mineng.2005.08.006
- Shutes, R.B.E., Revitt, D.M., Lagerberg, I.M., Barraud, V.C.E., 1999. The design of vegetative constructed wetlands for the treatment of highway runoff. *Sci. Total Environ.* 235, 189–197. doi:10.1016/S0048-9697(99)00212-0
- Simons, J., Van Beem, A.P., 1990. Spirogyra species and accompanying algae from pools and ditches in the Netherlands. *Aquatic Botany.* 37, 247–269.
- Singer, A., 2006. The chemical ecology of pollutant biodegradation : Bioremediation and phytoremediation from mechanistic and ecological perspectives. *Phytoremediation Rhizoremediation* 5–21.
- Sinicrope, T.L., Langis, R., Gersberg, R.M., Busnardo, M.J., Zedler, J.B., 1992. Metal removal by wetland mesocosms subjected to different hydroperiods. *Ecol. Eng.* 1, 309–322.
- Smith, V.H., Tilman, G.D., Nekola, J.C., 1999. Eutrophication : impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environ. Pollut.* 100, 179–196.
- Sobolewski, A., 1996. Metal species indicate the potential of constructed wetlands for long-term treatment of metal mine drainage. *Ecol. Eng.* 6, 259–271.
- Soda, S., Hamada, T., Yamaoka, Y., Ike, M., Nakazato, H., Saeki, Y., Kasamatsu, T., Sakurai, Y., 2012. Constructed Wetlands for Advanced Treatment of Wastewater with a Complex Matrix from a Metal-Processing Plant : Bioconcentration and Translocation Factors of Various Metals in Acorus Gramineus and Cyperus Alternifolius. *Ecological Engineering* 39, 63-70. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.11.014.
- Souza, M.B.G., Barros, C.F.A., Barbosa, F., Hajnal, É., Padisák, J., 2008. Role of atelomixis in replacement of phytoplankton assemblages in Dom Helvécio Lake, South-East Brazil. *Hydrobiologia* 607, 211–224. doi:10.1007/s10750-008-9392-2
- Stalter, D., Magdeburg, A., Quednow, K., Botzat, A., Oehlmann, J., 2013. Do Contaminants Originating from State-of-the-Art Treated Wastewater Impact the Ecological Quality of Surface Waters? *PLOS ONE* 8, e60616. doi:10.1371/journal.pone.0060616
- Steer, D., Fraser, L., Boddy, J., Seibert, B., 2002. Efficiency of small constructed wetlands for subsurface treatment of single-family domestic effluent. *Ecol. Eng.* 18, 429–440.
- Stefanakis, A. I., Seeger, E., Dorer, C., Sinke, A., et Thullner, M., 2016. Performance of Pilot-Scale Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands Treating Groundwater Contaminated with

Phenols and Petroleum Derivatives. *Ecological Engineering* 95, 514-526.
doi:10.1016/j.ecoleng.2016.06.105.

- Steiner, G.R., Freeman, R.J.Jr., 1989. Configuration and substrate design considerations for constructed wetlands wastewater treatment. In : D. A. Hammer (Ed.), *Constructed wetlands for wastewater treatment: municipal, industrial, and agricultural*. Lewis Publishers, Chelsea, MI. 56 p.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschik, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Müller, R.A., Moormann, H., 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93–117. doi:10.1016/j.biotechadv.2003.08.010
- Stumm, W., Morgan, J.J., 2012. *Aquatic Chemistry : Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. John Wiley & Sons.
- Sundaravadivel, M., Vigneswaran, S., 2001. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 31, 351–409. doi:10.1080/20016491089253
- Susarla, S., Medina, V.F., McCutcheon, S.C., 2002. Phytoremediation : an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol. Eng.* 18, 647–658.
- Syranidou, E., Christofilopoulos, S., Kalogerakis, N., 2017. *Juncus* spp.—The helophyte for all (phyto)remediation purposes? *New Biotechnol.* 38, 43–55. doi:10.1016/j.nbt.2016.12.005
- T**
- Tabachnick, B. G., Fidell, L. S., & Osterlind, S. J. (2001). *Using multivariate statistics*. 980 p.
- Tanner, C.C., 2001. Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 9–17.
- Tanner, C.C., Nguyen, M.L., Sukias, J.P.S., 2005. Nutrient removal by a constructed wetland treating subsurface drainage from grazed dairy pasture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 105, 145–162. doi:10.1016/j.agee.2004.05.008
- Tanner, C.C., Sukias, J.P., 1995. Accumulation of organic solids in gravel-bed constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 32, 229–239.
- Tao, W., Hall, K.J., Duff, S.J.B., 2006. Performance evaluation and effects of hydraulic retention time and mass loading rate on treatment of woodwaste leachate in surface-flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 26, 252–265. doi:10.1016/j.ecoleng.2005.10.006
- Terzakis, S., Fountoulakis, M.S., Georgaki, I., Albantakis, D., Sabathianakis, I., Karathanasis, A.D., Kalogerakis, N., et Manios, T., 2008. Constructed Wetlands Treating Highway Runoff in the Central Mediterranean Region. *Chemosphere* 72, 141-149. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.02.044.
- Thybaud, E., Petit-Poulsen, V., Monod, G., Lagadic, L., Caquet, T., 1999. Utilisation de mésocosmes comme outils d'aide à l'évaluation des risques écotoxicologiques, in: *Colloque PNETOX“ Préserver et Améliorer La Qualité Des Milieux.”* pp. 74–90.
- Tilley, E., Ulrich, L., Lüthi, C., Reymond, P., Zurbrügg, C. (Eds.), 2014. *Compendium of Sanitation Systems and Technologies*. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (EAWAG), Duebendorf, Switzerland.
- Tinker, P.B., Barraclough, P.B., 1988. Root-soil interactions, in : *Reactions and Processes*. Springer, pp. 153–175.
- Toet, S., Van Logtestijn, R.S., Kampf, R., Schreijer, M., Verhoeven, J.T., 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.

- Toscano, A., Marzo, A., Milani, M., Cirelli, G. L., et Barbagallo, S., 2015. Comparison of Removal Efficiencies in Mediterranean Pilot Constructed Wetlands Vegetated with Different Plant Species. *Ecological Engineering* 75, 155-160. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.12.005.
- Tremblay, N., Wang, Z., Cerovic, Z.G., 2012. Sensing crop nitrogen status with fluorescence indicators. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 451–464. doi:10.1007/s13593-011-0041-1
- Tromp, K., Lima, A.T., Barendregt, A., Verhoeven, J.T.A., 2012. Retention of Heavy Metals and Poly-Aromatic Hydrocarbons from Road Water in a Constructed Wetland and the Effect of de-Icing. *Journal of Hazardous Materials* 204, 290-298. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.12.024.
- Truu, M., Juhanson, J., Truu, J., 2009. Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 407, 3958–3971. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.11.036
- Tulbure, M.G., Johnston, C.A., Auger, D.L., 2009. Rapid invasion of a Great Lakes coastal wetland by non-native *Phragmites australis* and Typha.
- Tunçsiper, B., 2009. Nitrogen removal in a combined vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetland system. *Desalination* 247, 466–475. doi:10.1016/j.desal.2009.03.003
- Turner, K., 1991. Economics and Wetland Management. *Ambio* 20, 59–63.

U

- Utermöhl H., 1958 — Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton - Methodik. *Mitteilung der internationale Vereinigung für Limnologie* 9: 1-39.

V

- Vasseur, P., Ferard, J. F., Vial, J., & Larbaigt, G. (1984). Comparaison des tests microtox et daphnie pour l'évaluation de la toxicité aigue d'effluents industriels. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 34, 225-235.
- Vrhovšek, D., Kukanja, V., Bulc, T., 1996. Constructed wetland (CW) for industrial waste water treatment. *Water Res.* 30, 2287–2292. doi:10.1016/0043-1354(96)00114-5
- Vymazal J., 2001. Types of constructed wetlands for wastewater treatment: their potential for nutrient removal. In: Vymazal J, editor. *Transformations of nutrients in natural and constructed wetlands*. p. 1-93.
- Vymazal, J., Dvořáková Březinová, T., Koželuh, M., et Kule, L., 2017. Occurrence and Removal of Pharmaceuticals in Four Full-Scale Constructed Wetlands in the Czech Republic – the First Year of Monitoring. *Ecological Engineering* 98, 354-364. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.08.010.
- Vymazal, J., 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25, 478–490. doi:10.1016/j.ecoleng.2005.07.010
- Vymazal, J., 2009. The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. *Ecol. Eng.* 35, 1–17. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.08.016
- Vymazal, J., 2011. Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow : a review. *Hydrobiologia* 674, 133–156. doi:10.1007/s10750-011-0738-9
- Vymazal, J., 2013a. Emergent plants used in free water surface constructed wetlands : A review. *Ecol. Eng.* 61, 582–592. doi:10.1016/j.ecoleng.2013.06.023
- Vymazal, J., 2013b. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal : A review of a recent development. *Water Res.* 47, 4795–4811. doi:10.1016/j.watres.2013.05.029
- Vymazal, J., Kröpfelová, L., 2008. Wetland Plants. *Wastewater Treat. Constr. Wetl. Horiz. Sub-Surf. Flow* 93–120.

W

- Wallace, S.D., Knight, R.L., Water Environment Research Foundation, 2006. Small-scale constructed wetland treatment systems: feasibility, design criteria, and O & M requirements. WERF ; IWA Publishing, Alexandria, Va.; London.
- Wang, M., Zhang, D.Q., Dong, J.W., Tan, S.K., 2017. Constructed wetlands for wastewater treatment in cold climate : a review. *J. Environ. Sci.* doi:10.1016/j.jes.2016.12.019
- Wang, R., Korboulewsky, N., Prudent, P., Domeizel, M., Rolando, C., Bonin, G., 2010. Feasibility of using an organic substrate in a wetland system treating sewage sludge : Impact of plant species. *Bioresour. Technol.* 101, 51–57. doi:10.1016/j.biortech.2009.07.080
- Weihe, P.E., Neely, R.K., 1997. The effects of shading on competition between purple loosestrife and broad-leaved cattail. *Aquat. Bot.* 59, 127–138.
- Weis, J.S., Weis, P., 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environ. Int.* 30, 685–700. doi:10.1016/j.envint.2003.11.002
- Werner, T.M., Kadlec, R.H., 2000. Wetland residence time distribution modeling. *Ecol. Eng.* 15, 77–90. doi:10.1016/S0925-8574(99)00036-1
- White, K.D., 1995. Enhancement of nitrogen removal in subsurface flow constructed wetlands employing a 2-stage configuration, an unsaturated zone, and recirculation. *Water Sci. Technol.* 32, 59–67.
- Wießner, A., Kusch, P., Kästner, M., Stottmeister, U., 2002. Abilities of Helophyte Species to Release Oxygen into Rhizospheres with Varying Redox Conditions in Laboratory-Scale Hydroponic Systems. *Int. J. Phytoremediation* 4, 1–15. doi:10.1080/15226510208500069
- Winkel-Shirley, B., 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 218–223.
- Wolverton, B.C., n.d. Method for treating wastewater using microorganisms and vascular aquatic plants. US4415450.
- Wong, M.H. (Ed.), 2004. Wetlands ecosystems in Asia : function and management, 1st ed. ed, Developments in ecosystems. Elsevier, Amsterdam ; Boston.
- Wong, T.H.F., Breen, P.F., Somes, N.L.G., Lloyd, S.D., 1999. Managing urban stormwater using constructed wetlands. Cooperative Research Centre for Catchment Hydrology, Clayton, Vic. 50 p.
- Wood, A., Hensman, L. C., 1989. Research to develop engineering guidelines for implementation of constructed wetlands for wastewater treatment in Southern Africa. In *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*; Hammer, D. A., Ed.; Lewis Publishers: Chelsea, MI.
- Woulds, C., Ngwenya, B.T., 2004. Geochemical processes governing the performance of a constructed wetland treating acid mine drainage, Central Scotland. *Appl. Geochem.* 19, 1773–1783. doi:10.1016/j.apgeochem.2004.04.002
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S., Fan, J., Liu, H., 2015. A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation. *Bioresour. Technol.* 175, 594–601. doi:10.1016/j.biortech.2014.10.068

Y

- Yalcuk, A., Ugurlu, A., 2009. Comparison of horizontal and vertical constructed wetland systems for landfill leachate treatment. *Bioresour. Technol.* 100, 2521–2526. doi:10.1016/j.biortech.2008.11.029
- Ye, J., Wang, L., Li, D., Han, W., et Ye, C., 2012. Vertical Oxygen Distribution Trend and Oxygen Source Analysis for Vertical-Flow Constructed Wetlands Treating Domestic Wastewater. *Ecological Engineering* 41, 8-12. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.12.015.

Younger, P.L., 2000. The adoption and adaptation of passive treatment technologies for mine waters in the United Kingdom. *Mine Water Environ.* 19, 84–97.

Z

Zhang, B.Y., Zheng, J.S., Sharp, R.G., 2010. Phytoremediation in Engineered Wetlands : Mechanisms and Applications. *Procedia Environ. Sci.* 2, 1315–1325. doi:10.1016/j.proenv.2010.10.142

Zhang, C.-B., Wang, J., Liu, W.-L., Zhu, S.-X., Ge, H.-L., Chang, S.X., Chang, J., Ge, Y., 2010. Effects of plant diversity on microbial biomass and community metabolic profiles in a full-scale constructed wetland. *Ecol. Eng.* 36, 62–68. doi:10.1016/j.ecoleng.2009.09.010

Zhang, D.Q., Gersberg, R.M., Zhu, J., Hua, T., Jinadasa, K.B.S.N., Tan, S.K., 2012. Batch versus continuous feeding strategies for pharmaceutical removal by subsurface flow constructed wetland. *Environ. Pollut.* 167, 124–131. doi:10.1016/j.envpol.2012.04.004

Zhang, H., Dang, Z., Zheng, L.C., Yi, X.Y., 2009. Remediation of soil co-contaminated with pyrene and cadmium by growing maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Environmental Science & Technology* 6, 249–258.

Zhi, W., Ji, G., 2012. Constructed wetlands, 1991–2011: A review of research development, current trends, and future directions. *Sci. Total Environ.* 441, 19–27. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.09.064

Pérennité, fonctionnalité, efficacité d'une ZHA en milieu méditerranéen : un nouvel écosystème au service du traitement secondaire des effluents industriels

Les zones humides naturelles méditerranéennes sont des écosystèmes rares et vulnérables souvent altérés par les pollutions des milieux adjacents. Le développement de zones humides artificielles (ZHA) servant au traitement secondaire des pollutions permettrait de limiter l'impact des activités industrielles sur les milieux naturels. Pour végétaliser ces ZHA et tolérer les contraintes du climat méditerranéen, l'utilisation d'espèces végétales locales éco-adaptées est recommandée. Toutefois ce type de ZHA, utilisant des plantes locales méditerranéennes, a fait l'objet d'un nombre restreint de travaux. Les objectifs de cette thèse sont donc :

- de suivre la biocénose implantée et spontanée d'une ZHA pour évaluer la mise en place de ce nouvel écosystème (suivis floristique, faunistique et phytoplanctonique),
- d'évaluer ses fonctionnalités et son efficacité épuratoire (suivis physico-chimique et biologique),
- de questionner la pérennité de tels systèmes dans une contexte de changements globaux, notamment climatique.

Les résultats montrent qu'un nombre restreint d'espèces végétales locales sélectionnées peut permettre la création d'un nouvel écosystème fonctionnel et durable qui soutient l'enjeu de biodiversité, tout en améliorant le traitement des effluents rejetés par le bassin industrialisé. En plus des services épuratoires rendus par la biocénose, des services de bioindication de l'efficacité de traitement peuvent être assurés par certaines hélophytes ciblées. Cependant le changement, même temporaire, de régime hydrique affecte drastiquement le fonctionnement de la ZHA, mais à l'échelle pluri-annuelle, une résilience écologique est observée.

Ces travaux valident l'intérêt des ZHA à hélophytes locales en méditerranée pour traiter les pollutions de bassins versants industrialisés mais un effort de recherche reste à faire pour adapter la conception aux spécificités des sites dans une véritable démarche d'ingénierie écologique.

Mots-clés : résilience, écotoxicité, zone humide artificielle, phytoépuration, biodiversité, multi-pollution, phytoplancton, hélophytes

Durability, functions, reliability of a constructed wetland in Mediterranean area: a novel ecosystem dedicated to secondary treatment of industrial wastewater

Natural wetlands in Mediterranean areas are rare and vulnerable ecosystems, frequently impacted by various pollutants from nearby environments. In order to decrease industrial activities lethal effects on natural areas, constructed wetlands (CWs) are an interesting opportunity to remediate their pre-treated wastewaters. Such CWs would take advantage with using local plant species, well adapted to Mediterranean climate's rigors. Nevertheless, CWs planted with Mediterranean plant species are still scarce and poorly studied. Aims of this thesis are thus:

- to follow up on planted and adventive biocenosis of a CW (flora, fauna and phytoplankton), in order to assess a novel ecosystem settlement,
- to get better knowledge on its functions and remediation efficiency (physico-chemical and biological parameters),
- to question durability of such techno-ecosystems in a context of global changes (with focus on climate).

Main result let us know that it only takes a few local plant species, wisely chosen, to allow the settlement of a sustainable and fully functional ecosystem, supporting biodiversity stakes while increasing the remediation of pre-treated wastewaters collected from industrialized catchment. On top of their remediation services, some helophytes are also able to provide feedback on treatment efficiency of the overall system. However, changes in water regime, even if temporary can affect dramatically the reliability of CW, though it demonstrates ecological resilience at a several years scale.

This work assess CWs planted with local helophytes as a powerful tool to treat industrialized catchment wastewaters in Mediterranean area, but researches are still needed to fit each design with each site characteristics, following a sustainable ecological engineering approach.

Keywords: constructed wetland, phytoremediation, biodiversity, resilience, ecotoxicity, helophytes, multipollution, phytoplankton