Séminaire doctorant : ARC Environnement - Axe Ecotechnologies
8 juin 2015

Influence des techniques alternatives de gestion des eaux pluviales sur le transfert de la matière organique et des micro-organismes dans les nappes phréatique

Jérémy Voisin

UMR 5023 LEHNA (F. Mermillod-Blondin)
UMR 5557 Ecologie Microbienne (B. Cournoyer)

L'eau pluviale en milieu urbain

Urbanisation =
Imperméabilisation des sols

Conséquence : Modification du cycle de l'eau
Diminution de l'infiltration et augmentation du ruissellement

L'eau pluviale en milieu urbain

Evénement pluvieux
=> Ruissellement

↓

Collecte des eaux de ruissellement

Problèmes :
Engorgement des systèmes d'assainissement
Inondations urbaines

Ecotechnologies et gestion des eaux pluviales

Réseau séparatif (collecte indépendante des eaux pluviales et des eaux usées)

Les eaux pluviales sont rejetées dans les cours d'eau ou les nappes phréatiques

Utilisation de noues, fossés, tranchées, puits et **bassins d'infiltration**

Bassin de rétention/infiltration

Le système bassin dôinfiltration

Objectifs BI :

-Evacuer flux d'eau lors temps de pluie

-Recharger les aquifères urbains

-Epurer les eaux pluviales

Eau de ruissellement et contaminants

Pollutions :

- Chimiques
- Métalliques
- **Microbiennes (dont pathogènes)**

[Contaminants]

Contaminants microbiens

Espèces détectées :

- *E. coli*
- *P. aeruginosa*
- *A. caviae**é***

(Bernardin, Ribun et al.)

Gastro-entérites

Otites, infections pulmonaires

Infections cutanées

Impact de lôinfiltration?

Matières organiques, polluants et bactéries

Microbiologie des eaux de nappe

Infiltration et transfert de bactéries?

Infiltration et diversité microbienne?

Infiltration et bactéries pathogènes?

Hypothèses générales de la thèse?

1 ï L'**infiltration des eaux pluviales** via des bassins d'infiltration induirait un **transfert des bactéries** vers les nappes phréatiques (dont des bactéries pathogènes) et des **changements des paramètres physico-chimiques clés**.

2 ï Ces deux conditions réunies seraient favorables à un **enrichissement bactérien** et un **changement de communauté** avec présence de **pathogènes**.

Hypothèses générales de la thèse?

3 ï La **zone non saturée** aurait une influence sur le **transfert des ressources trophiques** et les communautés microbienne de la nappe phréatique

Influence de la **hauteur** de la ZNS

Influence de la **composition** de la ZNS

Description des sites d'études

Sur chaque site : 2 piézomètres pour échantillonner les eaux

Amont (contrôle non impacté par la recharge en eau pluviale)

Aval (impacté par la recharge en eau pluviale)

Instrumentation pour l'acquisition de chroniques

Hauteur toit de la nappe

Température

Conductivité

Oxygène dissous

Plan expérimental

1 - Influence de la zone non saturée sur le transfert de COD : quelles conséquences sur l'état trophique de la nappe et les communautés microbiennes ?

- 6 bassins d'infiltration

3 sites avec une ZNS peu profonde (< 5m)

3 sites avec une ZNS profonde (> 10m)

-1 ou 2 campagnes de prélèvements

- Expériences :

Caractérisation de la physico-chimie des eaux

Dosages biochimique (biomasse et activités microbienne)

Analyses de diversité microbienne : méthode d'empreinte moléculaire (ARISA)

Plan expérimental

1 - Influence de la zone non saturée sur le transfert de COD : quelles conséquences sur lõétat trophique de la nappe et les communautés microbiennes ?

2 - <u>Impact de l'infiltration sur le transfert de bactéries pathogènes et leur devenir dans la nappe phréatique ?</u>

- 1 site dõétude ï Bassin dõinfiltration de Django Reinhardt (Chassieu)

- Plusieurs campagnes

Effet saison (été/hiver)

Temps de pluie/temps sec

- <u>Expériences :</u>

Caractérisation de la physico-chimie des eaux

Métagénomique *tpm* et/ou PCR quantitative = outils spécifiques pour les pathogènes

Stratégies d'échantillonnage

Importance de l'échantillonnage dans les études microbiologiques

Différentes stratégies existent pour l'échantillonnage dans les milieux aquatiques

Echantillonnage actif *vs* Echantillonnage passif

Première partie de la thèse : (travaux effectués jusqu'à maintenant)

Avoir la stratégie la plus efficace pour répondre à nos objectifs

Stratégies d'échantillonnage

Echantillonnage actif :

Eau de nappe (par pompage)

- Bactéries « libres » = estimation biaisée de l'abondance et diversité
- Nappes phréatiques impactées = systèmes dynamiques

Stratégies d'échantillonnage

Echantillonnage actif :

Eau de nappe (par pompage)

- Bactéries « libres » = estimation biaisée de l'abondance et diversité
- Nappes phréatiques impactées = systèmes dynamiques

Autre solution :

Matrice solide = sédiments de la nappe

- Trop difficile à mettre en place sur nappes profondes (ZNS > 5 m)

Stratégies d'échantillonnage

Echantillonnage passif :

Incubation de substrats artificiels dans la nappe = surface disponible pour l'adhésion et la croissance des micro-organismes sous forme de biofilm

- Echantillonnage des communautés bactériennes dans le temps
- Diminution de la variabilité
- Coût faible, facile à mettre en ï uvre (sur sites déjà équipés de piézomètres)

Echantillonnage passif au sein de l'équipe

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Ecological Indicators

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

Ecological assessment of groundwater trophic status by using artificial substrates to monitor biofilm growth and activity

Florian Mermillod-Blondin[a,*], Arnaud Foulquier[a,b], Chafik Maazouzi[a], Simon Navel[a], Yannick Negrutiu[a], Antonin Vienney[a], Laurent Simon[a], Pierre Marmonier[a]

[a] Université de Lyon, UMR5023 Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, Université Lyon 1, ENTPE, CNRS, 6 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne, France
[b] IRSTEA, UR MALY, Ecologie Microbienne des Hydrosystèmes Anthropisés, 3 bis quai Chauveau, CP 220, F-69336 Lyon Cedex 09, France

<u>Support utilisé :</u>

Billes de verre de 4 mm de diamètre

<u>Objectif :</u>

Utilisation de l'échantillonneur passif pour la bioindication

Corrélation entre apport de COD via infiltration et biomasse du biofilm

Amélioration de lœchantillonneur passif

- Bioindication :

Biofilm comme bioindicateur de lœtat trophique des nappes phréatiques
(Smith *et al*. 1986, Goldscheider *et al*. 2006, Griebler and Lueders 2009, Williamson *et al*. 2012)

=> Avoir un biofilm suffisamment développé pour des analyses biochimiques fiables

- Diversité microbienne :

=> Capter une diversité suffisamment représentative du milieu afin dœffectuer des comparaisons inter-sites

- Détection de pathogènes :

=> Etre capable de détecter des bactéries pathogènes si elles sont présentes dans le milieu

- Efficacité :

Préparation des supports et sachets
Installation dans les piézomètres (contraintes de taille, circulation eau)
Protocole dœextraction dœADN
Protocoles analyses biochimiques

Objectif 1 :

L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

Objectif 1 :
L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

Objectif 1 : Lœchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Test de 4 diamètres (4, 6, 8 et 10mm)

Effet diamètre significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **diamètres 8 et 10 mm**

Quantité de protéines par unité de surface en fonction des diamètres
Chaque boxplot représente l'ensemble des données aux différents jours

Objectif 1 : Lõéchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Effet diamètre significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **diamètres 8 et 10 mm**

Choix du diamètre 8

Objectif 1 :
L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

Objectif 1 :

L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

- Sur la biomasse

- Sur l'activité

Objectif 1 : Lõéchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la nature du substrat artificiel **sur la biomasse**

Test de 3 substrats (Argile, Gravier et verre)
3 eaux différentes (Eaux usées, surface, nappe)

Effet substrat significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **substrats Argile et Graviers**

Quantité de protéines par unité de surface en fonction des substrats
Chaque boxplot représente l'ensemble des données aux différents jours

Objectif 1 : Lœchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la nature du substrat artificiel **sur la biomasse**

Effet substrat significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **substrats Argile et Graviers**

Billes d'argile

Objectif 1 :
L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

- Sur la biomasse

- Sur l'activité

Objectif 1 : Lõéchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la nature du substrat artificiel **sur lôactivité**

Test de 3 substrats (Argile, Gravier et verre)
3 eaux différentes (Eaux usées, surface, nappe)

Effet substrat significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **substrats Argile et Graviers**

Activité respiratoire par unité de surface en fonction des substrats
Chaque boxplot représente l'ensemble des données aux différents jours

Objectif 1 : Lõéchantillonneur passif comme outil de bioindication

Influence de la nature du substrat artificiel **sur lôactivité**

Effet substrat significatif

p<0,001

Quantité de protéines plus importante pour **substrats Argile et Graviers**

Billes d'argile

Objectif 1 :

L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Objectif 2 :

Echantillonneur passif et diversité bactérienne

Métagénomique *rrs*

Principe :

Amplifier **l'ensemble des gènes** codant pour la sous unité 16S du ribosome
Gène présent chez toutes les espèces bactériennes (1 ou plusieurs copies)

Séquençage massif de tous les amplifiats via des méthodes dites NGS (i.e. Illumina MiSeq)

L'analyse bioinformatique des séquences permet **l'obtention d'une liste de genre bactérien pour chaque échantillon**

Objectif 2 : Echantillonneur passif et diversité bactérienne

Test de 3 substrats (Argile, Gravier et Verre)
3 eaux différentes (Eaux usées, surface, nappe)

Stress = 0,05

- Pour EU et S : La communauté des 3 substrats est très similaires
- Pour N : La communauté sur le verre est éloignée des deux autres substrats

Objectif 2 : Echantillonneur passif et diversité bactérienne

Stress = 0,05

Substrats équivalents ?

Affiner les analysesé

Objectif 1 :
L'échantillonneur passif comme outil de bioindication

Objectif 2 :
Echantillonneur passif et diversité bactérienne

Objectif 3 :
Echantillonneur passif et piégeage des bactéries pathogènes

Objectif 3 : Echantillonneur passif et bactéries pathogènes

Présence des principaux genres d'intérêt (susceptibles de contenir des espèces pathogènes)

Objectif 3 : Echantillonneur passif et bactéries pathogènes

Tests PCR effectués pour deux espèces pathogènes

Aeromonas caviae

Pseudomonas aeruginosa

- Détection des *A. caviae* dans les eaux usées et sur les 3 supports
- Pas de détection de *P. aeruginosa*

Conclusion :

Amélioration significative de l'échantillonneur passif

Billes d'argile
Diamètre 8 mm

Semblent être le meilleur compromis pour utilisation comme échantillonneur passif suivant nos trois objectifs

Expériences de terrain sur les bassins d'infiltration vont pouvoir commencer fin juin

Merci de votre attention