

Développement bactérien sur billes d'argiles in situ pour le suivi du niveau trophique et des communautés bactériennes dans les nappes

Mots-clés : billes d'argile, trophie, pathogène, nappe, eaux pluviales

Type d'outil	Milieus étudiés	Disciplines mobilisées	Destinataires
<ul style="list-style-type: none"> - Méthodologie - Indicateur 	<ul style="list-style-type: none"> - Nappes - Cours d'eau de surface 	<ul style="list-style-type: none"> - Biochimie - Microbiologie 	<ul style="list-style-type: none"> - Gestionnaires - Collectivités - Animateur captage

OBJECTIFS

Mesurer l'impact des techniques d'infiltration des eaux pluviales sur la qualité de la nappe selon 2 paramètres :

- Le développement microbien qui renseigne sur la disponibilité en carbone organique ;
- La composition des communautés bactériennes et notamment la présence de pathogènes.

CONTEXTE

Dans le cadre de la Directive cadre sur l'eau, de nombreux indicateurs ont été développés pour évaluer la qualité des eaux de surface. En revanche peu d'outils existent pour caractériser les milieux souterrains particulièrement du point de vue biologique et écologique. En effet, ces milieux sont étudiés classiquement d'après leurs caractéristiques chimiques et hydrogéologiques sans prendre en compte leur état écologique.

C'est pourquoi dans le cadre de l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU), le LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés) et le LEM (Laboratoire d'Ecologie Microbienne) se sont penchés sur la conception d'un outil pour l'analyse des milieux souterrains.

Dans un premier temps, l'objectif a été la mise au point d'une technique de détection des flux d'eau pollués en matière organique de la surface à la nappe par l'analyse de la croissance des bactéries. A partir de cette première approche, des études des communautés bactériennes peuvent être réalisées pour détecter la présence de souches pathogènes.

PRINCIPE

Cette méthode est basée sur l'étude des communautés bactériennes présentes dans le milieu souterrain et de leur activité biologique.

Pour cela, elle s'appuie sur l'analyse de leur développement in situ sur un substrat artificiel (billes d'argile).

Les analyses des caractéristiques chimiques et biologiques des eaux souterraines effectuées classiquement par prélèvement d'eau ont pour inconvénient de ne donner qu'une image à un instant T de l'état de la nappe et nécessitent la réalisation d'un nombre de relevés important. Une méthode intégrant le temps est donc essentielle.

La méthode développée par le LEHNA et le LEM permet de pallier ces lacunes en se basant sur l'étude de bactéries se développant sur un substrat artificiel constitué de billes en argile. Le temps d'incubation permet ainsi d'enregistrer les événements hydrologiques à travers la composition de la communauté bactérienne. Le développement de biofilm sur les billes permet quant à lui d'obtenir, après extraction, des solutions plus concentrées que les eaux pour réaliser les analyses.

L'ESSENTIEL

La vie souterraine, pour se développer, dépend des apports exogènes en nutriments et carbone organique. De ce fait, les communautés bactériennes présentes dans la nappe donnent une image du niveau de pollution organique et peuvent servir d'indicateur de fonctionnement et de qualité (présence de pathogènes).

L'innovation de la méthode des billes d'argile est qu'elle permet d'enregistrer les flux organiques et de pathogènes sur de longues périodes par une incubation des bactéries directement dans la nappe.

Le protocole se déroule en deux phases :

- Une phase de déploiement des substrats artificiels, de développement des micro-organismes et de collecte sur le terrain
- Une phase d'analyse en laboratoire

Phase de culture et de collecte sur le terrain :

Pour échantillonner les bactéries en milieu souterrain, un tube en inox perforé contenant des billes d'argile préalablement stérilisées est incubé dans la nappe via un piézomètre.

Les billes, servant de substrat pour le développement de biofilm bactérien, sont laissées à incuber 10 jours dans l'eau de la nappe. A la fin de la période d'incubation, l'ensemble des billes des différents piézomètres sont récupérées et conservées dans des sacs stérilisés à 4°C (dans une glacière) jusqu'à l'analyse en laboratoire.

Phase d'analyse en laboratoire :

La phase de laboratoire consiste à réaliser des analyses biochimiques et génétiques.

- Les analyses biochimiques permettent d'estimer quatre indicateurs microbiens qui rendent compte de la teneur en carbone organique dissous (trophie) du milieu.

Ces indicateurs utilisés pour estimer le développement microbien et l'activité métabolique de ces micro-organismes sont :

- La quantité de protéines comme proxy de la biomasse microbienne produite
- Comptage des bactéries pour estimer l'abondance de la communauté
- L'activité déshydrogénasique (respiration)
- L'activité hydrolytique (dégradation de la matière organique)

Chaque indicateur étant corrélé positivement avec le niveau de trophie, il est ainsi possible d'estimer des différences entre piézomètres situés dans des zones où la nappe est plus ou moins impactée par des activités humaines (ex : infiltration d'eaux pluviales).

- Les analyses génétiques peuvent se faire par métagénomique (séquençage haut-débit) pour étudier la structure des communautés bactériennes ou par PCR ciblées afin de rechercher certains pathogènes bactériens.

AVANTAGES	INCONVENIENTS
<ul style="list-style-type: none"> + Intégration sur 10 jours des flux de carbone organique et de pathogènes + Concentration du matériel biologique à analyser + Faible coût des analyses biochimiques 	<ul style="list-style-type: none"> - Bonne connaissance des piézomètres pour que le tube inox soit en contact avec les crépines et qu'il y ait un écoulement de l'eau - Méthode non normée, valeurs seuils propres à chaque nappe nécessitant d'avoir des comparatifs - Coût élevé des analyses génétiques

MISE EN ŒUVRE

Temps



Pour 6-7 piézomètres sur un territoire de l'échelle du Grand Lyon :

Préparation/ installation : 1 jour

Incubation : 10 jours

Analyse biochimique : 15 jours

Analyse moléculaire : 30 jours

Moyens humains : 2 personnes

Compétences : Amateur

Matériel

In situ :

Pompe, sonde multi paramètres, tubes inox, billes d'argile, fil de pêche

En laboratoire :

Sacs stériles, flacons, tubes en verre, réactifs (kits protéines, diacétate de fluorescéine, chlorure de iodinitrotetrazolium), spectrophotomètre

Coûts

Terrain : frais de déplacement et rémunération employé

Laboratoire : ~5€ par analyse (consommables)

PERSPECTIVES ET PRECONISATIONS

Depuis janvier 2017 a débuté le projet FROG (Fonctional Responses Of Groundwater ecosystems to managed aquifer recharge in urban areas) financé par l'ANR (Agence Nationale de la Recherche) qui a pour objectif d'étudier « le fonctionnement des écosystèmes souterrains et leurs réponses et vulnérabilité fonctionnelle à des perturbations physiques, chimiques et biologiques. ». Au cours de ce projet, la méthode présentée ici sera appliquée et testée sur 6 sites de l'Est Lyonnais. Suite à cette phase test, la méthode pourra être validée ou non et des recommandations seront formulées le cas échéant. Dans l'hypothèse où la méthode serait validée, elle fera l'objet d'une diffusion auprès des gestionnaires, notamment dans le cadre des actions de l'OTHU.

PERSONNES RESSOURCES

Benoît COURNOYER

Labo/structure : UMR 5557 – LEM
benoit.cournoyer@univ-lyon1.fr
Tél. : 04 72 43 14 95

Florian MERMILLOD-BLONDIN

Labo/structure : LEHNA UMR 5023
Florian.Mermillod-Blondin@univ-lyon1.fr
Tél.: 04 72 43 13 64

DOCUMENT(S) SOURCE

MERMILLOD-BLONDIN F., FOULQUIER A., MAAZOUZI C., NAVEL S., NEGRUTIU Y., VIENNEY A., SIMON L., MARMONIER P., 2013, *Ecological assessment of groundwater trophic status by using artificial substrates to monitor biofilm growth and activity*, Ecological Indicators, 25, 230-238, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.09.026>

VOISIN J., COURNOYER B., MERMILLOD-BLONDIN F., 2016, *Assessment of artificial substrates for evaluating groundwater microbial quality*, Ecological Indicators, 71, 577-586 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.07.035>

AUTEUR(S)

COURNOYER B., FOULQUIER A., MAAZOUZI C., MARMONIER P., MERMILLOD-BLONDIN F., NAVEL S., NEGRUTIU Y., SIMON L., VIENNEY A., VOISIN J.

STRUCTURE(S) PORTEUSE(S) DU PROJET

Université Lyon 1, CNRS, UMR 5023 – LEHNA, équipe E3S : Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, Ecologie Evolution Ecosystèmes souterrains

UMR 5557 – LEM, équipe BPOE : Laboratoire d'Ecologie Microbienne, Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement

SITES ET OBSERVATOIRES DE LA ZABR MOBILISES

Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU)

THEMATIQUES ZABR ABORDEES

Flux polluants, écotoxicologie, écosystèmes

