

Écologie / Ecology

Variations spatiale et temporelle des abondances bactériennes dans quatre bassins de traitement du lixiviat de la décharge d'Étueffont (Belfort, France)

Hichem Khattabi^a, Émilien Belle^{b,c}, Pierre Servais^d, Lotfi Aleya^{c,*}

^a « Écologie des hydrosystèmes fluviaux », UMR CNRS 5023, université Claude-Bernard (Lyon-1), bât. Forel (403), 43, bd du 11-Novembre-1918, 69622 Villeurbanne cedex, France

^b Laboratoire de géosciences, université de Franche-Comté, 16, route de Gray, 25030 Besançon cedex, France

^c Laboratoire de biologie environnementale, UsC Inra, place Leclerc, 25030 Besançon, France

^d « Écologie des systèmes aquatiques », université libre de Bruxelles, campus Plaine, CP 221, B1050 Bruxelles, Belgique

Reçu le 21 octobre 2006, accepté après révision le 9 mars 2007

Présenté par Pierre Buser

Résumé

Le compartiment bactérien ainsi que différents paramètres physicochimiques ont été suivis mensuellement, de mai 1998 à mai 1999, dans le lixiviat brut et les quatre bassins de la station de traitement des ordures ménagères d'Étueffont (Territoire de Belfort, France). Les densités bactériennes varient de $0,04 \times 10^6$ à $0,35 \times 10^6$ bactéries ml^{-1} ($m \pm sd = 0,13 \times 10^6 \pm 0,12 \times 10^6$ bactéries ml^{-1}) et diminuent du premier au dernier bassin. Ces abondances semblent très aléatoires et inférieures à celles rapportées dans la littérature pour des milieux de richesse comparable en matière organique. Ces faibles abondances sont vraisemblablement liées aux effets toxiques des lixiviats. *Pour citer cet article* : H. Khattabi et al., C. R. Biologies 330 (2007).

© 2007 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Temporal and spatial fluctuations in bacterial abundances in four basins of a landfill leachate treatment (Étueffont, France). The seasonal distribution of bacterial communities was assessed in a landfill leachate station located in Étueffont (Territoire de Belfort, France). Water samples were taken monthly from May 1998 to May 1999 from both the gross leachate and four lagooning basins. Bacterial numbers varied from $0,04 \times 10^6$ to $0,35 \times 10^6$ cells ml^{-1} ($m \pm sd = 0,13 \times 10^6 \pm 0,12 \times 10^6$ cells ml^{-1}). They decreased from the first to the last basin and were overall lower than those reported in literature for aquatic systems with comparable organic matter content. This may be ascribed to the leachate toxicity on bacteria. *To cite this article*: H. Khattabi et al., C. R. Biologies 330 (2007).

© 2007 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Lixiviats ; Lagunage ; Bactéries ; DBO ; DCO

Keywords : Landfill leachates ; Lagooning ; Bacteria ; BOD ; COD

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : lotfi.aleya@univ-fcomte.fr (L. Aleya).

Abridged English version

The landfill leachates are usually very rich in organic matter and also in inorganic compounds such as heavy metals. These substances can be responsible for the contamination of surrounding natural surface freshwaters as well as groundwaters. Different types of treatments can reduce the pollutant content of the leachates; lagooning is one of them. In this type of treatment, bacteria are responsible for the removal of organic matter. To our knowledge, very few studies were up to now devoted to the seasonal dynamics of bacteria in lagooning systems used to treat landfill leachates. In the present study, spatial and temporal distribution of bacterial abundance and biomass was assessed in a landfill leachate station located in Étueffont (Territoire de Belfort, France). Water samples were taken monthly from May 1998 to May 1999 from both the gross leachate and four successive lagooning basins. Some physicochemical analyses were performed in parallel with the microbiological analysis: temperature, pH, conductivity, metals concentrations, biological oxygen demand (BOD), and chemical oxygen demand (COD).

BOD of the gross leachate varied between 25 and 187 mg l⁻¹, with an average of 62 mg l⁻¹, while the BOD in the fourth basin was on average 20 mg l⁻¹. This indicates an average removal of 42 mg l⁻¹. COD of the gross leachate varied between 313 and 1550 mg l⁻¹, with an average of 868 mg l⁻¹, while the COD in the fourth basin was on average 260 mg l⁻¹. Bacterial numbers in the gross leachate varied from 0.04 × 10⁶ to 0.35 × 10⁶ cells ml⁻¹ ($m \pm sd = 0.13 \times 10^6 \pm 0.12 \times 10^6$ cells ml⁻¹). The seasonal distribution of bacterial abundance showed high numbers in summer, which significantly correlated with increased BOD levels in the leachate. In the lagooning basins, bacterial abundance varied between 0.01 × 10⁶ to 0.19 × 10⁶ cells ml⁻¹. Overall, the temporal distribution of bacterial densities in the four basins was complex and seemed to be influenced by environmental conditions and the leachate quality. In the first basin, a correlation was found between the bacterial abundance and the ratio BOD/COD, which is an index of the biodegradability of organic matter. This indicates the prevailing role of the biodegradable organic matter from the landfill in the development of bacterioplankton. Bacterial abundance and biomass in the four lagooning basins were overall lower than those reported in literature for aquatic systems with comparable organic matter content. This may be ascribed to the leachate toxicity on bacteria.

1. Introduction

Les progrès réalisés dans la vie urbaine ont généré une inquiétante accumulation de déchets d'ordures ménagères. En France, la moyenne annuelle de ces déchets est estimée à 31,4 millions de tonnes (360 kg par personne) [1], qui doivent être mis finalement en décharge [2]. La conséquence majeure et inévitable d'une telle mise en décharge est la production d'un lixiviat pouvant faire émerger de sérieux problèmes écologiques [3]. Plus précisément, lorsque le site n'est pas pourvu d'un système de confinement, les lixiviats riches en matières organique et inorganique, mais aussi en métaux lourds [4–7], peuvent contaminer les systèmes aquatiques souterrains et de surface. Plusieurs travaux ont rapporté divers problèmes de santé (anomalies congénitales et cancers de l'estomac, de la vessie, des poumons et des cas de leucémies) chez les personnes résidant près des sites de décharge d'ordures ménagères [8,9]. Cette charge polluante est souvent atténuée par le rôle bénéfique des microorganismes, et plus précisément des bactéries, qui jouent un rôle primordial dans la stabilisation des déchets. Les bactéries hétérotrophes aquatiques, en utilisant le carbone organique dissous des lixiviats, contribuent à son transfert à travers la chaîne trophique lorsqu'elles subissent la pression de prédation par les espèces bactériivores [10–13]. À notre connaissance, les études à long terme ayant trait à la dynamique saisonnière du compartiment bactérien dans les lixiviats de décharge sont très rares, se limitant le plus souvent à l'étude du rôle des bactéries hétérotrophes dans la dégradation de la matière organique dans les eaux de lixiviation [12–16]. Or, le rôle central du bactérioplancton dans le fonctionnement des écosystèmes marin et lacustre, des retenues de barrage, des eaux usées, des réservoirs d'eau potable n'est plus à démontrer [17–26]. De plus, les performances d'un traitement par lagunage en série des déchets issus des activités domestiques et agro-industrielles sont largement tributaires de l'efficacité des bactéries hétérotrophes dans la dégradation de la matière organique [27]. Dans ces conditions, il est apparu important de suivre l'évolution spatio-temporelle des abondances et des biomasses du bactérioplancton, couplée à divers facteurs environnementaux dans le lixiviat brut et au cours de son traitement par lagunage dans la station d'Étueffont (Belfort, France).

Tableau 1
Caractéristiques morphométriques des quatre bassins de la station d'Étueffont

	Bassin 1	Bassin 2	Bassin 3	Bassin 4
Longueur (m)	78	46	66	48
Largeur (m)	5	43	28	23,5
Profondeur (m)	0,8	1	1	1
Perméabilité ($m s^{-1}$)	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}
Épaisseur de la vase (m)	0,09	0,07	0,07	0,05
Surface (m^2)	390	1934	1848	1128
Volume (m^3)	312	1934	1848	1128
Volume total (m^3)			5222	
Débit moyen de sortie ($m^3 S^{-1}$)	0,001	0,001	0,001	0,001
Temps de séjour (j)	5	32	31	19
Temps de séjour total (j)			86	

2. Matériel et méthodes

2.1. Site étudié

La décharge d'ordures ménagères du Pays sous-vosgien est située au nord-est de Belfort (France, Fig. 1). Les caractéristiques morphométriques des quatre bassins de lagunage sont résumées dans le Tableau 1. La décharge occupe une surface de $4000 m^2$; elle est haute de 25 m, dont 4 m en profondeur. Elle a été fonctionnelle à partir de 1974 jusqu'à 1999, et présente un mode d'exploitation à ciel ouvert par broyage des déchets sans compactage. Cette gestion entraîne la production d'un lixiviat collecté en aval de la décharge et traité par lagunage naturel à air libre dans quatre bassins étanchéifiés. Le lixiviat traité est ensuite rejeté dans un petit ruisseau avoisinant.

2.2. Échantillonnage

Les prélèvements d'eau destinés aux analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été effectués mensuellement de mai 1998 à mai 1999 entre 12 h 00 et 14 h 00 (heure légale) à la buse de sortie du lixiviat brut et dans les quatre bassins (moyenne des trois prélèvements effectués par bassin : un prélèvement au milieu correspondant au point le plus profond de chaque bassin, et les deux autres à proximité des deux berges amont et aval de chaque bassin).

2.3. Paramètres physicochimiques

Les mesures de la température, du pH, de la conductivité électrique et de l'oxygène dissous ont été effectuées in situ à l'aide d'une sonde multiparamètre (Multiline P3 PH/LF-SET). Les chlorures et les ions métalliques ont été dosés par chromatographie ionique (Dionex DX-100) La demande biochimique en oxygène

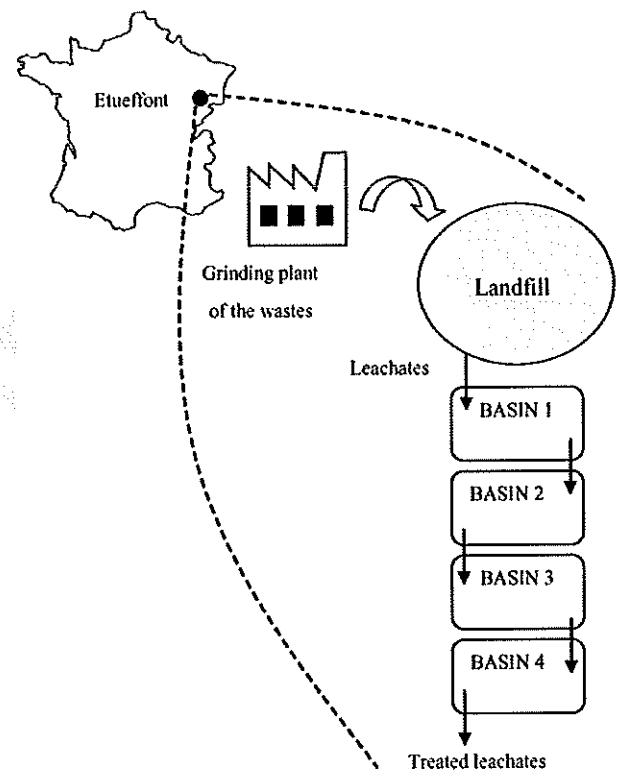


Fig. 1. Localisation géographique du site étudié.

(DBO) et la demande chimique en oxygène (DCO) ont été mesurées respectivement selon les normes NF EN 1899-1 et NF T 90-101 (Afnor, 2001).

2.4. Numération bactérienne

Une fraction de 50 ml de chaque prélèvement a été préfiltrée sur une toile en nylon de $160 \mu m$ de vide de mailles, puis fixée au formaldéhyde (concentration finale : 2%). Au laboratoire, 5 ml de chaque échantillon ont été colorés au DAPI (4,6-diamino-2-phénylindol) et filtrés sur une membrane millipore noire de poro-

Tableau 2

Valeurs moyennes et écart-types (σ) de la température ($^{\circ}\text{C}$), du pH et des teneurs (mg l^{-1}) en O_2 dissous, en Cl, en DBO, en DCO et en éléments métalliques dans les lixiviats de la station d'Étueffont

	Lixiviat brut		Bassin 1		Bassin 2		Bassin 3		Bassin 4	
	moyenne	sd	moyenne	sd	moyenne	sd	moyenne	sd	moyenne	sd
T ($^{\circ}\text{C}$)	15	6	14	7	13	8	13	8	13	8
pH	7,09	1,24	6,91	1,24	6,88	1,27	7,04	1,41	7,23	1,47
O_2 (mg l^{-1})	3,95	3,96	3,56	3,76	5,39	3,63	6,12	4,32	7,95	4,68
Cl (mg l^{-1})	605	246	283	168	230	136	186	89	167	82
Fe (mg l^{-1})	4,4	3,54	5,57	4,23	3,48	2,16	2,90	1,67	2,42	1,33
Mn (mg l^{-1})	3,6	3,03	2,96	1,82	2,50	1,19	2,39	1,39	2,22	1,03
Ni (mg l^{-1})	2,14	2,85	1,68	2,68	1,17	2,16	1,0	2,37	1,36	2,39
Cr (mg l^{-1})	0,47	0,56	0,16	0,14	0,95	2,73	0,09	0,06	0,08	0,07
Sn (mg l^{-1})	0,43	0,54	0,30	0,39	0,21	0,24	0,3	0,32	0,12	0,16
Zn (mg l^{-1})	1,02	0,56	0,87	0,86	0,94	0,67	0,82	0,69	1,04	0,68
Cu (mg l^{-1})	0,46	0,52	0,24	0,13	0,18	0,33	0,10	0,06	0,15	0,26
DBO (mg l^{-1})	63	45	46	26	24	23	17	9	20	13
DCO (mg l^{-1})	868	482	436,08	188	319,77	113	271	81	260	74

sité $0,2 \mu\text{m}$. Afin d'avoir une répartition homogène des cellules, un filtre noir en acétate de cellulose (Sartorius, taille de pores : $1,2 \mu\text{m}$) est placé au dessous du filtre noir. Après une incubation de 15 min, le filtre est monté entre lame et lamelle et immédiatement congelé à -25°C . Le dénombrement bactérien a été effectué à l'aide d'un microscope inversé à épifluorescence (Leica DM IRB, objectif $\times 40$) en ultraviolet [28]. Lors du comptage, entre 500 et 800 cellules, réparties sur 20 champs différents, ont été dénombrées. Cela correspond à une précision de comptage supérieure à 10% au seuil de confiance de 90% [29,30]. Lors des énumérations microscopiques, il a été vérifié que les événements comptés ne possédaient de pigment chlorophyllien ; dans la suite de cet article, le terme de bactéries correspond donc aux bactéries hétérotrophes.

2.5. Estimation de la biomasse bactérienne

Pour chaque échantillon, on a estimé un biovolume moyen en mesurant au minimum une centaine de cellules à l'aide d'un micromètre oculaire. Le biovolume cellulaire moyen a été calculé à partir de la formule suivante [31] :

$$\text{biovolume cellulaire} = \pi/4 \times l^2 \times (L - (l/3))$$

avec l la taille des bactéries (μm) et $L = 1$ pour les formes cocci.

Les biomasses sont estimées à partir du biovolume cellulaire, en utilisant le facteur de conversion proposé par [32] : $0,56 \times 10^{-6} \mu\text{g C } \mu\text{m}^{-3}$.

2.6. Analyse statistique

Les analyses de la variance ont été calculées en utilisant Statistica (interface Windows) par le biais du test paramétrique Anova. Les résultats statistiques sont considérés significatifs pour $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Température

Les températures enregistrées dans le lixiviat brut varient de $7,4$ à $19,5^{\circ}\text{C}$ ($m \pm \text{sd} = 14 \pm 5^{\circ}\text{C}$) (Tableau 2). Les résultats mettent en évidence une évolution saisonnière similaire dans les quatre bassins, avec des lixiviats plus chauds en été et plus froids en hiver. En général, une légère diminution de la température est observée en passant du premier au dernier bassin, certainement liée à la température plus élevée du lixiviat brut.

3.2. Oxygène dissous

Les concentrations en oxygène dissous mesurées à la sortie de décharge varient de $0,5$ à 11 mg l^{-1} ($m \pm \text{sd} = 3,64 \pm 3,09 \text{ mg l}^{-1}$) (Tableau 2). Les teneurs en oxygène dissous relevées dans les lixiviats des quatre bassins d'Étueffont oscillent entre $0,17$ et $12,5 \text{ mg l}^{-1}$ ($m \pm \text{sd} = 3,56 \pm 3,8 \text{ mg l}^{-1}$) en B1, entre $0,25$ et $13,6 \text{ mg l}^{-1}$ ($m \pm \text{sd} = 5,4 \pm 3,6 \text{ mg l}^{-1}$) en B2, entre $1,5$ et $17,1 \text{ mg l}^{-1}$ ($m \pm \text{sd} = 6,1 \pm 4,3 \text{ mg l}^{-1}$) en B3, et entre $1,5$ et $16,1 \text{ mg l}^{-1}$ ($m \pm \text{sd} = 7,9 \pm 4,5 \text{ mg l}^{-1}$) en B4 (Tableau 2). Le suivi de ce paramètre met en évidence la présence de deux pics de concentration en oxygène, le premier, très marqué, enregistré en été et le

deuxième, avec des valeurs moins importantes, observé en hiver. Les valeurs les plus faibles ont été observées dans le premier bassin.

3.3. pH

Les valeurs de pH relevées dans le lixiviat brut varient de 5,1 à 8,2 ($m \pm sd = 7,09 \pm 1,08$) (Tableau 2). Les valeurs de pH du lixiviat mesurées dans les quatre bassins varient de 4,02 à 8,08 ($m \pm sd = 6,91 \pm 1,24$) en B1, de 4,62 à 8,21 ($m \pm sd = 6,88 \pm 1,27$) en B2, de 4,74 à 8,39 ($m \pm sd = 7,23 \pm 1,47$) en B3, et de 4,55 à 8,86 ($m \pm sd = 7,23 \pm 1,47$) en B4 (Tableau 2). Ce paramètre présente une évolution saisonnière bien marquée, avec des pH basiques en été et en automne et des pH acides en hiver et au printemps.

3.4. DBO

Lixiviat brut. Les valeurs de la teneur en matières organiques biodégradables (DBO) rejetées par la décharge varient de 25 à 187 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 62 \pm 44,5\ mg\ l^{-1}$) (Tableau 2). Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en novembre 1998, avec 187 $mg\ l^{-1}$. En été, on observe une légère diminution des concentrations de DBO, de l'ordre de 25 $mg\ l^{-1}$, qui coïncide avec les maxima de températures ambiantes enregistrées sur le site. En automne (octobre et novembre 1998), on assiste à une augmentation des teneurs en DBO dans le jus de décharge. Celles-ci commencent à diminuer avec l'arrivée de l'hiver, tout en demeurant élevées.

Bassins. Les valeurs de DBO varient de 14 à 100 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 26 \pm 46\ mg\ l^{-1}$) en B1, de 5 à 90 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 24 \pm 23\ mg\ l^{-1}$) en B2, de 2 à 34 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 17 \pm 8\ mg\ l^{-1}$) en B3, et de 2 à 50 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 20 \pm 13\ mg\ l^{-1}$) en B4. En moyenne, la différence de DBO entre le lixiviat brut et l'eau du quatrième bassin est donc de 42 $mg\ l^{-1}$. L'abattement de la DBO semble principalement intervenir dans le premier bassin, puisque la différence entre le bassin 1 et le bassin 4 n'est que de 6 $mg\ l^{-1}$.

3.5. DCO

Lixiviat brut. Les teneurs en DCO fluctuent entre 313 et 1550 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 868 \pm 482\ mg\ l^{-1}$) (Tableau 2). L'évolution saisonnière de la DCO apparaît opposée à celle de la DBO et semble être liée à la dilution des lixiviats par les précipitations hivernales.

Bassins. Les valeurs de la DCO oscillent entre 180 et 735 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 436 \pm 188\ mg\ l^{-1}$) en B1, entre 187 et 602 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 320 \pm 114\ mg\ l^{-1}$) en B2,

entre 166 et 430 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 271 \pm 81\ mg\ l^{-1}$) en B3, et entre 153 et 379 $mg\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 260 \pm 74\ mg\ l^{-1}$) en B4 (Tableau 2). Ces résultats mettent en évidence une évolution spatio-temporelle bien marquée, avec une diminution de la charge organique en passant du premier au dernier bassin et de l'été à l'hiver.

3.6. Abondances et biomasses bactériennes

Lixiviat brut. L'analyse des échantillons récoltés au niveau du lixiviat brut indique que le peuplement bactérien de la station d'Étueffont est représenté majoritairement par les formes cocci (77% du peuplement), avec une dominance des formes libres de grande taille ($\geq 0,5\ \mu m$ pour les cocci et $\geq 0,9\ \mu m$ pour les bacilles). L'effectif bactérien dans le lixiviat brut oscille entre $0,04 \times 10^6\ cell\ ml^{-1}$, valeur observée en avril 1999, et $0,34 \times 10^6\ bactéries\ ml^{-1}$, en octobre 1998 ($m \pm sd = 0,132 \pm 0,122 \times 10^6\ bactéries\ ml^{-1}$) (Fig. 2). Les maxima d'abondance ont été enregistrés en période estivale. Le biovolume bactérien moyen calculé au cours de notre étude ($0,39\ \mu m^3$) est supérieur à celui relevé dans les réservoirs d'eau potable [21] dans les milieux oligotrophes, mésotrophes et eutrophes [29,31,33–37] et proche des valeurs données dans la littérature pour les milieux extrêmes [38–41].

Calculée pour chaque échantillon à partir du biovolume bactérien moyen et de l'abondance, la biomasse bactérienne a varié de 8,78 à 77,51 $\mu g\ C\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 28,94 \pm 26,79\ \mu g\ C\ l^{-1}$) (Fig. 2).

Bassin 1. Le peuplement bactérien est dominé par des formes libres essentiellement représentées par des cocci (91% du peuplement total). La plus forte abondance des formes bacilles a été observée en octobre 1998 (36% du peuplement). Les bactéries sont caractérisées par leur grande taille ($\geq 0,5\ \mu m$ pour les cocci et $\geq 0,9\ \mu m$ pour les bacilles), les rapprochant étroitement des bactéries observées dans le lixiviat brut. L'abondance bactérienne varie de $0,008 \times 10^6$ à $0,15 \times 10^6\ bactéries\ ml^{-1}$ ($m \pm sd = 0,067 \times 10^6 \pm 0,063 \times 10^6\ bactéries\ ml^{-1}$). Les valeurs maximales mesurées dans ce bassin coïncident avec une élévation des teneurs en substances nutritives dans le lixiviat brut et dans le bassin (Fig. 2). L'évolution saisonnière montre des abondances bactériennes faibles en hiver et fortes en été. La biomasse bactérienne varie de 0,2 à 30 $\mu g\ C\ l^{-1}$ ($m \pm sd = 11,98 \pm 12,04\ \mu g\ C\ l^{-1}$) (Fig. 1).

Bassin 2. L'analyse qualitative du peuplement bactérien dans le deuxième bassin met en évidence une forte dominance des formes cocci au dépend des formes bacilles (96% du peuplement bactérien). Toutefois, les bactéries observées dans ce bassin sont caractérisées par

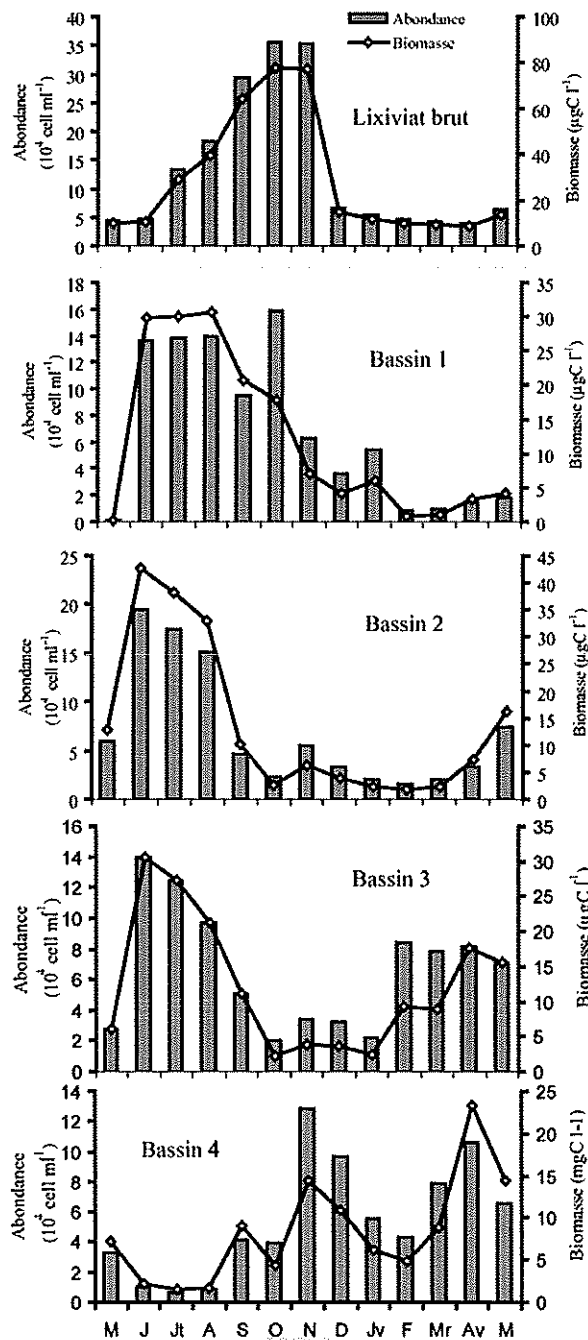


Fig. 2. Distribution spatio-temporelle des abondances (cell l^{-1}) et biomasses bactériennes ($\mu\text{g C l}^{-1}$) dans le lixiviat brut (E) et dans le lixiviat issu des quatre bassins (B1, B2, B3 et B4) de mai 1998 à mai 1999.

leur petite taille ($\leq 0,5 \mu\text{m}$ pour les cocci et $\leq 0,9$ pour les bacilles), à l'exception du mois de mai 1999, où l'on observe des cocci de grande taille, dont le diamètre est compris entre $0,5$ et $0,8 \mu\text{m}$. La densité bactérienne varie de $0,015 \times 10^6$ à $0,19 \times 10^6$ bactéries ml^{-1} ($m \pm sd = 0,069 \times 10^6 \pm 0,062 \times 10^6$ bactéries ml^{-1}) (Fig. 2).

C'est dans ce bassin que la valeur maximale observée dans les quatre bassins durant tout le suivi a été mesurée, en juin 1998. L'évolution saisonnière des densités bactériennes est similaire à celle du premier bassin ; celle-ci diminue en hiver et augmente en été. La biomasse bactérienne varie de $1,74$ à $42,68 \mu\text{g C l}^{-1}$ ($m \pm sd = 13,8 \pm 14,58 \mu\text{g C l}^{-1}$) (Fig. 1).

Bassin 3. D'une façon similaire au cas du bassin 2, les cocci dominent le peuplement bactérien, avec 97% aux dépens des bacilles, qui ne représentent que 3% du peuplement bactérien total. Toutefois, on observe dans ce bassin une domination des cocci de petite taille (diamètre $\leq 0,5 \mu\text{m}$), très présentes en fin d'été. Les abondances bactériennes enregistrées dans le troisième bassin oscillent entre $0,02 \times 10^6$ et $0,14 \times 10^6$ bactéries ml^{-1} ($m \pm sd = 0,066 \times 10^6 \pm 0,0199 \times 10^6$ bactéries ml^{-1}) (Fig. 2). Le peuplement bactérien présente la même évolution que celle mentionnée précédemment, mais avec des densités plus faibles. La biomasse bactérienne varie de $2,23$ à $30 \mu\text{g C l}^{-1}$ ($m \pm sd = 12,29 \pm 9,51 \mu\text{g C l}^{-1}$) (Fig. 2).

Bassin 4. Dans ce dernier bassin, on observe une présence de bacilles, comme dans le premier bassin (4% du peuplement bactérien total). L'étude de la distribution temporelle des diamètres bactériens montre une évolution saisonnière très nette chez les cocci, avec des cocci de petite taille en fin d'été. La densité bactérienne varie de $0,007 \times 10^6$ à $0,10 \times 10^6$ bactéries ml^{-1} ($m \pm sd = 0,055 \times 10^6 \pm 0,038 \times 10^6$ bactéries ml^{-1}) (Fig. 2). Ce bassin est marqué par une évolution saisonnière bactérienne opposée à celles des autres bassins. Cette opposition se manifeste par des densités bactériennes faibles en été et fortes en hiver. La biomasse bactérienne varie de $1,52$ à $23,3 \mu\text{g C l}^{-1}$ ($m \pm sd = 8,39 \pm 6,21 \mu\text{g C l}^{-1}$) (Fig. 2).

4. Discussion

4.1. Paramètres abiotiques

Les valeurs de température du lixiviat enregistrées dans les quatre bassins sont très voisines et varient de 18 à 25°C en été et de 0 à 8°C en hiver. Notons que les bassins ont subi un gel au mois de novembre 1998. Le lixiviat du premier bassin est souvent plus chaud que celui des autres bassins, du fait de sa faible profondeur ($0,7 \text{ m}$) et du réchauffement probable par les lixiviats bruts. Au cours de notre étude, la stratification thermique est peu marquée, l'écart maximal de température entre le fond et la surface est de 6°C (mai 1999). En fait, pendant la période d'été, l'eau de surface de-

vient plus chaude que les eaux du fond. Le phénomène s'inverse en hiver.

Les valeurs de pH enregistrées en été sont élevées (pH = 8), alors qu'en hiver elles diminuent pour atteindre des valeurs faibles (pH = 4). Cette tendance acide de l'eau hivernale semble être due, d'une part, au ralentissement de l'activité photosynthétique et, d'autre part, à l'apport par la décharge de lixiviats acides. L'évolution verticale de ce paramètre ne semble pas être influencée par la profondeur des bassins. Cependant, l'écart des valeurs de pH enregistré durant les douze mois de suivi ne dépasse pas l'unité entre la surface et le fond, pour l'ensemble des points de prélèvement considérés dans cette étude.

Les valeurs d'oxygène dissous enregistrées dans les quatre bassins montrent la présence d'une différence notable entre bassins, entre le fond et la surface et d'une saison à l'autre. Le cycle annuel laisse apparaître deux séquences principales : la première en été avec des valeurs élevées de 3 à 12 mg l⁻¹ dans la zone euphotique et essentiellement liée aux blooms phytoplanctoniques estivaux, la deuxième en hiver avec des valeurs plus faibles, de 0 à 4 mg l⁻¹, liée à l'absence de production primaire et à la dégradation de la matière organique par les bactéries hétérotrophes. Toutefois, au mois de janvier 1999, on enregistre une forte oxygénation du milieu, en raison vraisemblablement de la poussée hivernale d'organismes unicellulaires photosynthétiques et aux agitations mécaniques provoquées par les vents. L'évolution spatiale de cet élément montre une augmentation des teneurs en passant du premier au dernier bassin, indiquant une décroissance de l'intensité de l'activité hétérotrophe. L'étude de la stratification verticale des concentrations en oxygène dissous met en évidence une différence bien marquée entre le fond et la surface, pouvant atteindre jusqu'à 10 mg l⁻¹ en été, qui est liée à l'intensité de l'activité photosynthétique dans la tranche superficielle des eaux.

Les variations saisonnières des valeurs des DBO et DCO sont bien nettes. De plus, nos résultats mettent en évidence une chute des teneurs en matières organiques contenues dans le lixiviat durant son cheminement d'un bassin à un autre. Cette décroissance des teneurs est liée à la fois à des processus physicochimiques (décantation, adsorption, floculation, etc.) et biologiques (biodégradation bactérienne). La décroissance moyenne de la DCO entre le lixiviat brut et l'eau du quatrième bassin (606 mg l⁻¹) est beaucoup plus importante que celle de la DBO (42 mg l⁻¹), ce qui indique que l'abattement de la matière organique dépend davantage des processus physicochimiques que microbiologiques.

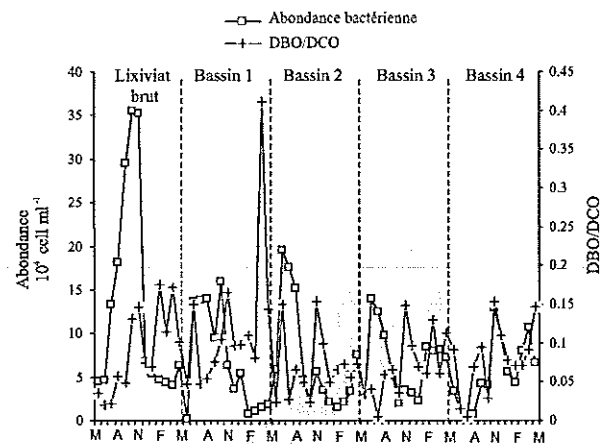


Fig. 3. Variations saisonnières dans le lixiviat brut et les 4 bassins des rapports DBO/DCO et de l'abondance bactérienne.

4.2. Abondances et biomasses bactériennes

Durant tout notre suivi, on observe dans tous les bassins une nette dominance des morphotypes cocci (95% de la population bactérienne) par rapport aux morphotypes bacilles (4% de la population bactérienne) et 1% pour les autres morphotypes. Les formes bacilles sont surtout présentes dans le premier bassin en fin d'été (septembre et octobre 1998), vraisemblablement en liaison avec l'élévation de la température de l'eau et les apports de substrats allochtones par le lixiviat brut dans le premier bassin. Toutefois, les tailles des cellules bactériennes mesurées dans les quatre bassins semblent être supérieures à celles rapportées par certains auteurs dans les milieux eutrophes [29,42–46]. Ces diamètres, assez importants, sont attribuables à la forte charge organique, quasi-permanente dans les quatre bassins. Par ailleurs, les densités bactériennes enregistrées dans les bassins de la station d'Étueffont sont très aléatoires et sont inférieures à celles décrites par [47] dans les eaux usées domestiques [48]. Ces faibles abondances sont vraisemblablement liées à l'effet toxique des lixiviats [48–54]. Il apparaît, d'après nos résultats, que les densités bactériennes sont quasi similaires dans les quatre bassins, ceci est confirmé par l'absence de différences statistiquement significatives ($p = 0,88$; test Anova). Toutefois, l'étude statistique dans le premier bassin met en évidence une corrélation positive significative entre les effectifs bactériens et le rapport DBO/DCO ($r = 0,6$ pour 11 ddl : degrés de liberté) (Fig. 3), qui constitue un indice de la biodégradabilité de la matière organique. Ceci met en évidence le rôle prépondérant de la matière organique biodégradable importée par la décharge dans le développement du bactérioplancton. Dans le deuxième bassin, c'est plutôt le pH qui semble

gouverner l'abondance bactérienne avec une corrélation positive hautement significative ($r = 0,7$ pour 11 ddl). Il apparaît que les effectifs bactériens augmentent avec l'élévation du pH et des teneurs en oxygène dissous. Ce résultat est corroboré par les observations de plusieurs auteurs, mettant en évidence une corrélation positive entre pH et abondances bactériennes ($r = 0,8$) dans les milieux eutrophes [26]. En effet, le pH fait partie des facteurs qui concourent à la clairance bactérienne dans de tels écosystèmes aquatiques. L'influence des variations de pH dans les installations de traitement des eaux usées par lagunage sur la clairance bactérienne a été étudiée par plusieurs auteurs. Ainsi, Oufdou et al. [55] ont montré que les pH alcalins favorisent le développement et la survie de certaines espèces, comme *Vibrio cholerae*. Dans le troisième bassin, l'étude statistique réalisée entre l'abondance bactérienne et les paramètres abiotiques semble mettre en évidence un rôle non négligeable de la matière organique biodégradable, vraisemblablement autochtone, dans l'induction de la prolifération bactérienne ($r = 0,6$ pour 11 ddl). Enfin, dans le dernier bassin, et en conséquence du développement important d'organismes unicellulaires photosynthétiques observé au cours de cette étude et de l'ensemencement permanent du milieu en matière organique, c'est le pH qui semble influencer majoritairement la dynamique du peuplement bactérien ($r = 0,7$ pour 11 ddl).

Les faibles abondances bactériennes se répercutent nettement sur les biomasses bactériennes, qui sont nettement inférieures à ce qui est attendu en fonction de la richesse du milieu en matière organique [56,57].

5. Conclusion

Au terme de cette étude, il apparaît que les densités bactériennes enregistrées dans les bassins de la station d'Étueffont sont très aléatoires et sont inférieures à ce qui est attendu en fonction de la richesse du milieu en matière organique. Ces faibles abondances sont vraisemblablement liées aux effets toxiques des lixiviats du site étudié. De plus, les densités bactériennes semblent être similaires dans les quatre bassins, ce qui suggère une relativement faible contribution de l'activité bactérienne à la charge en matière organique, ce qui est confirmé par l'abattement beaucoup plus faible de la DBO par rapport à celui de la DCO. Sur le plan des successions saisonnières, l'évolution temporelle des densités bactériennes dans les quatre bassins de la station d'Étueffont met en évidence une évolution variable d'un bassin à un autre. En été, on enregistre un développement bactérien important dans les trois premiers bassins, favorisé par l'élévation de la température, cor-

roborant les observations rapportées par divers auteurs [58–61], alors que, dans le dernier bassin, les effectifs bactériens diminuent sous l'effet probable d'une forte pression de prédation. En automne, l'apport par la décharge de lixiviats fortement chargés en substances nutritives et très peuplés en bactéries ($0,35 \times 10^6$ bactéries ml^{-1}) entraîne une augmentation importante des effectifs bactériens dans le premier bassin (octobre 1998) et dans les trois autres (novembre 1998). En hiver, on enregistre une diminution de la densité bactérienne dans l'ensemble des bassins, cela est attribuable à la baisse de la température et à la diminution de la charge organique sous l'effet de la dilution. Enfin, au printemps, l'élévation de la température et le développement des espèces phytoplanctoniques excrétrices de carbone organique dissous [62–65] semblent favoriser à nouveau le développement des bactéries hétérotrophes dans l'ensemble des bassins.

Remerciements

Nous tenons à remercier vivement le Syndicat intercommunal de la collecte et du traitement des ordures ménagères (Sictom) de la zone sous-vosgienne, qui nous a permis de réaliser cette étude.

Références

- [1] Ademe (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), Le traitement des déchets ménagers et assimilés en centres collectifs en 2002, 2003.
- [2] J.R. Emberton, A. Parker, The problems associated with building on landfill sites, *Waste Manage. Res.* 5 (1987) 473–482.
- [3] P. Baccini, R. Henseler, H. Figi, H. Belevi, Water and element balances of municipal solid waste landfills, *Waste Manage. Res.* 5 (1987) 583–599.
- [4] A. Baun, A. Ledin, L.A. Reitzel, P.L. Bjerg, T.H. Christensen, Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills – chemical analysis and toxicity tests, *Water Res.* 38 (2004) 3845–3858.
- [5] H. Khattabi, J. Mania, L. Aleya, H. Bouchaou, M. Mudry, H. Gri-sey, Contribution of some physico-chemical tracers to the study of groundwater contamination by landfill leachates, *Environ. Technol.* 23 (2002) 719–772.
- [6] P. Kjeldsen, M.A. Barlaz, A.P. Rooker, A. Baun, A. Ledin, T.H. Christensen, Present and long-term composition of MSW landfill leachate, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 32 (2002) 297–336.
- [7] J. Schwarzbauer, S. Heim, S. Brinker, R. Litke, Occurrence and alteration of organic contaminants in seepage and leakage water from a waste deposit landfill, *Water Res.* 36 (2002) 2275–2287.
- [8] M. Vrijheid, Health effects of residence near hazardous waste landfill sites: a review of epidemiologic literature, *Environ. Health Perspect.* 108 (2000) 101–112.
- [9] M. Vrijheid, H. Dolk, B. Armstrong, Hazard potential ranking of hazardous waste landfill sites and risk of congenital anomalies, *Occup. Environ. Med.* 59 (2002) 768–776.

- [10] S.J. Bennette, R.W. Sanders, K.G. Porter, Heterotrophic, autotrophic, and mixotrophic nanoflagellates: seasonal abundance and bacterivory in a eutrophic lake, *Limnol. Oceanogr.* 35 (1990) 1821–1832.
- [11] M.L. Pace, J.J. Cole, S.R. Carpenter, J.F. Kiltchell, J.R. Hodgson, M.C. Van De Bogert, D.L. Bade, E.S. Kritzberg, D. Bastviken, Whole-lake carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs, *Nature* 15 (2004) 240–243.
- [12] T.J. Phelps, E.G. Raione, D.C. White, C.B. Fliermans, Microbial activities in deep subsurface environments, *Geomicrobiol. J.* 7 (1988) 79–91.
- [13] F.R. Pick, P.B. Hamilton, A comparison of seasonal and vertical patterns of phagotrophic flagellates in relation of bacteria and algal biomass in temperate lakes, *Mar. Microb. Food Webs* 8 (1994) 201–215.
- [14] P.B. McMahon, F.H. Chapelle, Microbial production of organic acids in aquifer sediments and its role in aquifer geochemistry, *Nature* 349 (1991) 233–235.
- [15] W. Verstraete, E. Top, Soil clean-up: lessons to remember, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 43 (1999) 147–153.
- [16] L. Ludvigsen, H.J. Albrechtsen, D.B. Ringelberg, F. Ekelund, T.H. Christensen, Distribution and composition of microbial populations in a landfill leachate contaminated aquifer (Grindsted, Denmark), *Microbial. Ecol.* 37 (1999) 197–207.
- [17] L. Aleya, J. Devaux, O. Marvalin, Production primaire et activité bactérienne hétérotrophe potentielle au sein d'un lac eutrophe (lac d'Aydat, Puy-de-Dôme, France), *Rev. Sci. Eau.* 1 (1988) 23–35.
- [18] F. Azam, T. Fenchel, J.G. Field, J.S. Gray, L. Mayer, F. Thingstad, The ecological role of water column microbes in the Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10 (1983) 257–263.
- [19] F. Azam, A. Worden, Microbes, molecules and marine ecosystems, *Science* 12 (2004) 1622–1624.
- [20] K. Hornak, M. Masin, J. Jezbera, Y. Bettarel, J. Nedoma, T. Sime-Ngando, K. Simek, Effects of decreased resource availability, protozoan grazing and viral impact on a structure of bacterioplankton assemblage in a canyon-shaped reservoir, *FEMS Microbiol. Ecol.* 52 (2005) 315–327.
- [21] E. Masseret, C. Amblard, G. Bourdier, Changes in the structure and metabolic activities of periphytic communities in a stream receiving treated sewage from a waste stabilization pond, *Water Res.* 32 (1998) 2299–2314.
- [22] A.G. Murray, P.M. Eldridge, Marine viral ecology: incorporation of bacteriophage into the microbial planktonic food web paradigm, *J. Plankton Res.* 16 (1994) 627–641.
- [23] C. Pedros-Allio, Toward and autecology of bacterioplankton, in: U. Sommer (Ed.), *Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities*, Brock/Springer, Berlin, 1989, pp. 297–336.
- [24] L.R. Pomeroy, W.J. Wiebe, Energetics of microbial food webs, *Hydrobiologia* 159 (1988) 7–18.
- [25] L.M. Proctor, J.A. Fuhrman, Mortality of marine bacteria in response to enrichment of the size fraction from seawater, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 87 (1992) 283–293.
- [26] B. Riemann, M. Sondergaard, *Carbon Dynamics in Eutrophic Temperate Lakes*, Elsevier, 1986 (284 p.).
- [27] H.M. Cauhcie, M.F. Jaspas-Versali, L. Hoffmann, J.P. Thome, Potential of using *Daphnia magna* (crustacea) developing in an aerated waste stabilisation pond as a commercial source of chitin, *Aquaculture* 205 (2002) 103–117.
- [28] K.G. Porter, Y.S. Feig, The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora, *Limnol. Oceanogr.* 25 (1980) 943–948.
- [29] O. Marvalin, L. Aleya, H.J. Hartmann, S. Lazarek, Coupling of the seasonal patterns of bacterioplankton and phytoplankton in a eutrophic lake, *Can. J. Microbiol.* 35 (1989) 706–712.
- [30] J. Overbeck, *Microbiology and biochemistry*, Mih. Int. Verein. *Limnol.* 20 (1974) 198–228.
- [31] J.-F. Carrias, La boucle microbienne en milieu lacustre : structure et fonctionnement des communautés picoplanctoniques et des protistes flagellés et ciliés, thèse de 3^e cycle, université Blaise-Pascal, Clermont-Ferrand, 1996 (174 p.).
- [32] M. Simon, M.M. Tilzer, Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance, *J. Plankton. Res.* 9 (1987) 535–552.
- [33] L.J. Albright, S.K. McCrae, Annual cycle of bacterial specific biovolumes in Howe sound, a Canadian West Coast Fjord Sound, *Appl. Environ. Microbiol.* 12 (1987) 345–369.
- [34] M.J. Jordan, G.E. Likens, Measurement of planktonic bacterial production in an oligotrophic lake, *Limnol. Oceanogr.* 25 (1980) 719–732.
- [35] N. Krstulovic, T. Pucher-Petrovic, M. Solic, The relation between bacterioplankton and phytoplankton production in the mid adriatic sea, *Aquat. Microb. Ecol.* 9 (1995) 41–45.
- [36] T. Nagata, The microflagellate-picoplankton food linkage in the water column of Lake Biwa, *Limnol. Oceanogr.* 33 (1988) 504–517.
- [37] D. Scavia, G.A. Laird, Bacterioplankton in Lake Michigan: dynamics, controls, and significance to carbon flux, *Limnol. Oceanogr.* 32 (1987) 1017–1033.
- [38] C. Amblard, G. Bourdier, J.-F. Carrias, N. Maurin, C. Quiblier, Étude des réseaux trophiques microbiens du lac de Vassivière en Limousin, rapport scientifique, université Blaise-Pascal, Clermont-Ferrand, 1994 (68 p.).
- [39] I.B. Andersson, Bacterioplankton in the acidified lake Gardsjon, *Hydrobiologia* 101 (1983) 59–64.
- [40] J.A. Johansson, Seasonal development of bacterioplankton in two forest lakes in central Sweden, *Hydrobiologia* 101 (1983) 71–88.
- [41] C.A. Ochs, J.J. Cole, G.E. Likens, Population dynamics of bacterioplankton in an oligotrophic lake, *J. Plankton Res.* 17 (1995) 365–391.
- [42] Y. Bettarel, T. Sime-Ngando, C. Amblard, J.-F. Carrias, C. Portelli, Virioplankton and microbial communities in aquatic systems: a seasonal study in two lakes of different trophic, *Freshw. Biol.* 48 (2003) 810–822.
- [43] U. Dorigo, Diversité comparée des communautés bactériennes et virales dans les grands lacs alpins et étude des facteurs et processus impliqués dans la structuration des communautés, thèse, université de Savoie, Chambéry, Annecy, 2005 (382 p.).
- [44] R. Sommaruga, Microbial and classical food webs: A visit to a hypertrophic lake, *FEMS Microbiol. Ecol.* 17 (1995) 257–270.
- [45] R. Sommaruga, R.D. Robarts, The significance of autotrophic and hypertrophic picoplankton in hypertrophic ecosystems, *FEMS Microbiol. Ecol.* 24 (1997) 187–200.
- [46] A.C. Yannarel, A.D. Kent, G.H. Lauster, T.K. Kratz, E.W. Triplett, Temporal patterns in bacterial communities in three temperate lakes of different trophic status, *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (2003) 391–405.
- [47] M.A. Bahlaoui, B. Baleux, M. Troussellier, Dynamics of pollution-indicator and pathogenic bacteria in high-rate oxidation wastewater treatment ponds, *Water Res.* 31 (1997) 630–638.
- [48] J.P. Deneuvy, Les lixivats de décharges, approche méthodologique de leur toxicité aiguë en fonction des différents modes de traitement, Thèse de doctorat de troisième cycle, Insa de Lyon, 1987 (325 p.).

- [49] B. Clément, G. Persoone, C. Janssen, A. Le Du-Delpierre, Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates, *Chemosphere* 11 (1996) 2203–2320.
- [50] M. Devare, M. Bahadir, Biological monitoring of landfill leachate using plants and luminescent bacteria, *Chemosphere* 28 (1994) 261–271.
- [51] B. Ferrari, C.M. Radetski, A.-M. Veber, J.-F. Ferard, Ecotoxicological assessment of solid wastes: a combined liquid and solid phase testing approach using a battery of bioassays and biomarkers, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 1195–1202.
- [52] W.R. Linkernst, P. Hennigar, K. Doe, S. Wade, G. Julien, Characterization of the chemical constituents and toxicity to aquatic organisms of a municipal landfill leachate, *Water Pollut. Res. J. Can.* 29 (1994) 89–101.
- [53] M. Ward, G. Bitton, T. Townsend, M. Booth, Determining toxicity of leachates from Florida municipal solid waste landfills using a battery-of-tests approach, *Environ. Toxicol.* 17 (2002) 258–266.
- [54] S. Plotkin, N.M. Ram, Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 13 (1984) 197–206.
- [55] K. Oufdou, N. Mezrioui, Effets du pH et du rayonnement solaire sur la survie de *Vibrio cholerae* et d'*Escherichia coli* au cours d'un traitement des eaux usées par lagunage, in : 4^e Conférence internationale des limnologues d'expression française, tome 2, Marrakech, Maroc, 1994.
- [56] A.L. Furtado, P. Casper, F.A. Esteves, Bacterioplankton abundance, biomass and production in a Brazilian coastal lagoon and in two German lakes, *An. Acad. Bras. Cienc.* 73 (2001) 39–49.
- [57] L. Hakanson, V. Boulion, Empirical and dynamical models of production and biomass of benthic algae in lakes, *Hydrobiologia* 522 (2004) 75–97.
- [58] W.M. Aloice, N. Tatsuya, Effects of temperature and pH on the growth of heterotrophic bacteria in waste stabilization ponds, *Water Res.* 30 (1996) 447–455.
- [59] E. Jaspers, K. Nauhaus, H. Cypionka, J. Overmann, Multitude and temporal variability of ecological niches as indicated by the diversity of cultivated bacterioplankton, *FEMS Microbiol. Ecol.* 36 (2001) 153–164.
- [60] J.T. Novac, Temperature-substrate interaction in biological treatment, *J. Water Pollut. Control. Fed.* 46 (1974) 1984–1994.
- [61] S.J. Pirt, *Principles of Microbes and Cell Cultivation*, Blackwell, London, 1971.
- [62] J.-P. Descy, B. Leporeq, L. Viroux, C. François, P. Servais, Phytoplankton production, exudation and bacterial reassimilation in the River Meuse (Belgium), *J. Plankton. Res.* 24 (2002) 161–166.
- [63] J.J. Cole, G.E. Likens, D.L. Stayer, Photosynthetically produced dissolved organic carbon: An important carbon source for planktonic bacteria, *Limnol. Oceanogr.* 27 (1982) 1080–1090.
- [64] M. Feuillade, P. Dufour, J. Feuillade, Organic carbon release by phytoplankton and bacterial reassimilation, *Schweiz. Z. Hydrol.* 50 (1988) 115–135.
- [65] D. Girollo, V. Henriques, A. Armando, Polymeric and free sugars released by three phytoplanktonic species from a freshwater tropical eutrophic reservoir, *J. Plankton Res.* 27 (2005) 695–705; Voir aussi : Afnor, Qualité de l'eau. Analyses biochimiques et biologiques – Analyses microbiologiques, tome 4, Agence française de normalisation, Paris, France, 2001.