

Projet LIFE ADSORB

LIFE17 ENV/FR/000398 LIFE ADSORB project is supported by the European Union LIFE program

Le projet LIFE17 ENV/FR/000398 LIFE ADSORB bénéficie du soutien financier du programme LIFE de l'Union européenne

LIFE ADSORB

LIFE17 ENV/FR/000398



Deliverable C.1.3 : Become pollutants in the filter

Reporting date

V1	September 2025
----	----------------



Table des matières

<i>Abstract</i>	3
<i>Résumé</i>	4
1. <i>Introduction</i>	5
2. <i>Matériel et méthodes</i>	7
2.1. Site d'étude et prélèvements des substrats	7
2.2. Procédures expérimentales.....	8
2.3. Produits chimiques et réactifs.....	10
2.4. Analyses du BPA, 4-OP et 4-NP	10
2.5. Analyses microbiennes et biochimiques	11
2.5.1. Diversité fonctionnelle microbienne des substrats	11
2.5.2. Activité enzymatique totale des substrats.....	12
2.5.3. Diversité génétique bactérienne des substrats.....	12
2.6. Analyse des données	12
2.6.1. Modélisation de la cinétique de biodégradation.....	12
2.6.2. Traitement bioinformatique de la diversité génétique	14
2.6.3. Analyses statistiques.....	14
3. <i>Résultats</i>	15
3.1. Caractérisation des substrats.....	15
3.2. Cinétique de (bio)dégradation	16
3.3. Évolution des propriétés microbiologiques et biochimiques.....	21
3.3.1. Activité enzymatique totale et diversité fonctionnelle	21
3.3.2. Structure et diversité de la communauté bactérienne	22
4. <i>Discussion</i>	29
4.1. La (bio)dégradation et la fraction résiduelle des OMP	29
4.2. Capacité des communautés microbiennes à biodégrader les OMP	31
4.2.1. Existence de communautés microbiennes distinctes dans les substrats.....	31
4.2.2. Toutes les communautés contiennent des bactéries dégradant les OMP	32
4.3. L'effet de l'ajout d'OMPs et de la présence de <i>P. australis</i> sur les communautés microbiennes.....	34
4.3.1. Impact minimal de l'exposition aux OMP	34
4.3.2. Impact accru de la présence de <i>Phragmites australis</i>	36
5. <i>Conclusion</i>	38
6. <i>Références</i>	40

Abstract

To reduce the impact of contaminated stormwater runoff on the Seine, the City of Paris implemented an innovative constructed wetland filter (CWF) planted with reeds for stormwater treatment, composed of sand and a commercial adsorbent named Rainclean® (RC). The main objectives of this project were to evaluate and monitor the efficiency of the CWF and to understand the fate of contaminants within the filter. This work focuses on the fate of three emerging organic micropollutants (OMPs), namely bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP), and 4-t-octylphenol (4-OP), through biodegradation experiments in planted (*Phragmites australis*) and unplanted columns containing sand, RC, or sediment. Results showed that 68% to 92.5% of degradation was due to biotic processes. BPA was the most rapidly degraded compound, with half-lives (DT50) ranging from 2.34 to 4.06 days in sand and RC, compared to 2.55 to 15.63 days for 4-NP and 4.83 to 13.63 days for 4-OP, depending on the substrate. *P. australis* contributed to biodegradation by increasing the total percentage of degradation in both substrates and reducing DT50 only in sand. The physicochemical differences among the three substrates led to distinct microbial communities, all capable of degrading the three OMPs. The presence of *P. australis* had a more pronounced impact on bacterial communities. These findings are crucial as they indicate a low risk of OMP accumulation in CWFs. However, sediment and unplanted RC showed high residual levels of OMPs due to their adsorptive properties, suggesting a potential risk of long-term accumulation requiring ongoing monitoring.

Keywords: Biodegradation, organic micropollutants, bacterial communities, runoff, constructed wetland filter, *Phragmites australis*

Version française d'un article soumis à « The Science of the total Environment »

Rôle des microorganismes et de la végétation dans la (bio)dégradation des micropolluants organiques issus des eaux de ruissellement routier dans un filtre planté de roseaux

Julia Roux^{(1)*}, Martin Seidl⁽²⁾, Narimane Chibane⁽¹⁾, Lila Boudahmane⁽¹⁾, Vanessa Alfonse⁽¹⁾, Mohamed Barakat⁽³⁾, Wafa Achouak⁽³⁾, Emilie Caupos⁽¹⁾, Alexandre Livet⁽¹⁾, Pascale Neveu⁽⁴⁾ and Nouredine Bousserhine⁽¹⁾.

⁽¹⁾ *Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (LEESU), 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 - Créteil Cedex, France.*

⁽²⁾ *LEESU, 6-8 avenue Blaise Pascal, Cité Descartes, Champs sur Marne, 77 455 Marne-La-Vallée Cedex 2, France.*

⁽³⁾ *CNRS équipe LEMIRE, CEA Cadarache, Zone Cité des Énergies, 13115 St Paul lez Durance, France.*

⁽⁴⁾ *Direction de la Propreté et de l'Eau (DPE) Ville de Paris, 103 avenue de France, 75013 Paris, France.*

Résumé

Afin de limiter l'impact des eaux de ruissellement contaminées sur la Seine, la Ville de Paris a mis en place un filtre planté de roseaux (FPR) innovant pour le traitement des eaux de ruissellement, composé de sable et d'un adsorbant commercial nommé Rainclean® (RC). Les objectifs principaux de ce projet étaient d'évaluer et suivre l'efficacité du FPR et de comprendre le devenir des contaminants dans le filtre. Ce travail se concentre sur le devenir de trois micropolluants organiques émergents (MOP), à savoir le bisphénol A (BPA), le 4-nonylphénol (4-NP) et le 4-t-octylphénol (4-OP), au moyen d'expériences de biodégradation en colonnes plantées (*Phragmites australis*) et non plantées contenant du sable, du RC ou du sédiment. Les résultats ont révélé que 68 % à 92,5 % de la dégradation était due à des processus biotiques. Le BPA est le composé le plus rapidement dégradé, avec des demi-vies (DT50) comprises entre 2,34 et 4,06 jours dans le sable et le RC, contre 2,55 à 15,63 jours pour le 4-NP et 4,83 à 13,63 jours pour le 4-OP, selon le substrat. *P. australis* a contribué à la biodégradation en augmentant le pourcentage de dégradation totale dans les deux substrats et en diminuant le DT50 uniquement dans le sable. Les différences physico-chimiques entre les trois substrats ont conduit à la présence de communautés microbiennes distinctes, toutes capables de dégrader les trois MOP. La présence de *P. australis* a eu un impact plus marqué sur les communautés bactériennes. Ces résultats sont essentiels car ils indiquent un faible risque d'accumulation de MOP dans les FPR. Toutefois, le sédiment et le RC non planté ont montré des niveaux résiduels élevés de MOP en raison de leurs propriétés adsorbantes, suggérant un risque d'accumulation à long terme nécessitant un suivi dans le temps.

Mots-clés : Biodégradation, micropolluants organiques, communautés bactériennes, ruissellement, filtre planté de roseaux, *Phragmites australis*

1. Introduction

Les zones urbaines se caractérisent par le nombre et l'importance des surfaces imperméables telles que les toitures, les routes et les parkings, qui empêchent l'infiltration de l'eau de pluie dans le sol (Miller *et al.*, 2014). Ces surfaces ont été identifiées comme des sources majeures de polluants (Gromaire *et al.*, 2013 ; Revitt *et al.*, 2014 ; Markiewicz *et al.*, 2017) en raison de l'entraînement des polluants et des micro-organismes présents en surface vers les eaux de ruissellement (Barbosa *et al.*, 2012). Parmi ces polluants, on retrouve fréquemment des métaux traces (Pb, Zn, Cu, Cd, Cr, Ni), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et plus récemment des alkylphénols (AP), des phtalates (PAE) et du bisphénol A (BPA) (Tchounwou *et al.*, 2012 ; Patel *et al.*, 2020 ; Xing *et al.*, 2022). Ces derniers, appelés micropolluants organiques émergents (MOP), suscitent des inquiétudes en raison de leurs effets potentiels sur la santé et l'environnement, même à faibles concentrations. Dans le contexte du trafic routier, les MOP tels que le BPA, le 4-nonylphénol (4-NP) et le 4-t-octylphénol (4-OP) sont émis par les peintures, composants et pneus des véhicules ainsi que par les dépôts atmosphériques (Revitt *et al.*, 2014 ; Markiewicz *et al.*, 2017 ; Lamprea *et al.*, 2018), contribuant à la dégradation de l'environnement aquatique récepteur des eaux de ruissellement s'ils ne sont pas traités (Peters, 2009 ; Walsh *et al.*, 2012). Il est donc essentiel de renforcer la gestion des eaux pluviales pour atteindre les objectifs de protection environnementale et sanitaire, tels que définis par exemple par la Directive Cadre Européenne sur l'Eau (CE, 2000).

Pour répondre à cette problématique, différents systèmes de traitement des eaux pluviales ont été développés, combinant des processus physiques, biologiques et chimiques (Fletcher *et al.*, 2015). Ces systèmes sont généralement extensifs et implantés au plus près des zones de production du ruissellement (Molle *et al.*, 2013). Parmi ces techniques, les filtres plantés de roseaux (FPR), appartenant à la famille des zones humides artificielles (ou marais construits), sont de plus en plus utilisés pour le traitement des eaux pluviales (Malaviya et Singh, 2012). Cette technique repose sur une dépression étanche remplie de couches successives de matériaux filtrants (substrats), de granulométrie croissante en profondeur, surmontée de macrophytes (généralement *Phragmites australis*) (Kadlec et Wallace, 2009 ; Molle *et al.*, 2013). Un tel système permet de combiner le stockage, la restitution au milieu des eaux à débit contrôlé, la rétention et la dégradation des contaminants. L'écoulement de l'eau peut être vertical ou horizontal (Vymazal *et al.*, 2006).

Plusieurs mécanismes de rétention des polluants existent dans les FPR. Qu'ils soient physiques, chimiques ou biologiques, ces mécanismes dépendent principalement de la distribution des contaminants entre fractions particulaire et dissoute. Les polluants particulaires décantent à la surface et sont filtrés par les substrats, entraînant la formation d'une couche de sédiments en surface et l'enrichissement des premiers centimètres du substrat (Kania *et al.*, 2019). Pour les polluants dissous, les processus d'adsorption sur le substrat et les sédiments déposés dominent (Zhang *et al.*, 2012). En raison de l'affinité de nombreux polluants pour la matière particulaire, la fraction dissoute est généralement moins retenue dans les FPR (LeFevre *et al.*, 2014 ; Flanagan *et al.*, 2019a). Or, l'impact de cette fraction dissoute sur les milieux récepteurs est plus rapide que celui des particules, d'où l'intérêt de se concentrer sur son traitement. Bien que plusieurs auteurs aient démontré une bonne efficacité des FPR pour éliminer les MOP dans les eaux pluviales urbaines (Vymazal, 2014 ; Hsieh *et al.*, 2015 ; Schmitt *et al.*, 2015 ; Walaszek *et al.*, 2018 ; Tondera *et al.*, 2019), les mécanismes de traitement, notamment la biodégradation, restent encore peu renseignés.

La biodégradation des MPO tels que le BPA, le 4-NP et le 4-OP a été étudiée en laboratoire, en colonnes de sol ou en réacteurs de type batch, par plusieurs auteurs. Ces travaux ont mis en évidence la possibilité d'une biodégradation relativement rapide de ces composés (Toyama *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2013 ; Tran *et al.*, 2015 ; A *et al.*, 2017 ; Kuzikova *et al.*, 2019). Pour décrire la diminution de la concentration des MPO dans le temps, un modèle cinétique d'ordre 1 est généralement privilégié. Toutefois, certains auteurs rapportent une meilleure adéquation entre données et modèles cinétiques biphasés, intégrant une phase initiale de dégradation rapide suivie d'une phase plus lente, voire d'une absence de dégradation (Sjöström *et al.*, 2008 ; Langdon *et al.*, 2011). Le choix du modèle cinétique influence fortement la détermination de la demi-vie (DT50), paramètre standard pour évaluer la dégradation (Boesten *et al.*, 2014).

En synthétisant les données disponibles dans la littérature (Tableau 1), les valeurs de DT50 pour le BPA varient de 0,81 à 8,7 jours, avec une moyenne de 4,6 jours ; pour le 4-NP, de 4,6 à 25 jours, avec une moyenne de 12,3 jours ; et pour le 4-OP, de 5 à 19,3 jours, avec une moyenne de 11,2 jours. La biodégradation du BPA est donc généralement plus rapide que celle du 4-NP et du 4-OP. Étant donné que la voie de dégradation implique des intermédiaires tels que l'hydroquinone, les légères différences observées dans les DT50 peuvent être attribuées à la nature de la chaîne alkyle en position iso sur le noyau benzénique (Kolvenbach *et al.*, 2007 ; Takeo *et al.*, 2020). De plus, les types de sols étudiés étant toujours différents, leurs propriétés physico-chimiques ainsi que la composition de leurs communautés microbiennes varient, influençant ainsi les vitesses de dégradation.

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont montré que la présence de plantes favorise la biodégradation des MPO (Sun *et al.*, 2010 ; Toyama *et al.*, 2011 ; Chen *et al.*, 2015 ; Leroy *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2019), notamment grâce aux effets de la rhizosphère, tels qu'une meilleure oxygénation et la présence d'exsudats racinaires organiques (Oberai et Khanna, 2018 ; Gupta *et al.*, 2020). Les vitesses de dégradation et les pourcentages de dégradation totale observés sont ainsi généralement plus élevés en conditions végétalisées.

Tableau 1 : Synthèse des demi-vies moyennes (DT50) et des valeurs minimales et maximales (entre parenthèses), calculées pour les trois micropolluants organiques (MPO) étudiés, à partir des références citées et comparaison avec certaines de leurs propriétés physico-chimiques.

A : Ying et Kookana, 2005 ; Hseu, 2006 ; Chang *et al.*, 2007 ; Sjöström *et al.*, 2008 ; Brown *et al.*, 2009 ; Langdon *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2013 ; Kuzikova *et al.*, 2019.

B : Ying et Kookana, 2005 ; Shibata *et al.*, 2006 ; Langdon *et al.*, 2011.

C : Ying et Kookana, 2005 ; Xu *et al.*, 2009 ; Langdon *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2013.

(*) : D'après la base de données de l'ECHA (ECHA, 2023a ; 2023b ; 2023c).

Organic micropollutant	DT50 (day): Average (min-max)	Molecular weight (g/mol) (*)	Log Kow (*)	Reference
4-NP	12.3 (4.6-23)	220.3	5,4	A (n=8)
4-OP	11.2 (5-19.3)	206.3	4,8	B (n=3)
BPA	4.6 (0.81-8.7)	228.3	3,4	C (n=4)

Pour assurer la biodégradation des MPO, les principaux acteurs sont les bactéries. Plusieurs genres bactériens sont reconnus pour leur capacité à dégrader ces composés, qualifiés de bactéries dégradant les MPO. Par exemple, les genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter* et *Sphingobium* sont bien documentés pour leur rôle dans la dégradation des alkylphénols ainsi que du BPA (Matsumura *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2015 ; Im et Löffler, 2016 ; Zhang *et al.*, 2016 ; Ma *et al.*, 2016 ; Oh et Choi, 2019 ; Shi *et al.*, 2022 ; Tian *et al.*, 2022). La majorité des études existantes ont été menées sur des sols agricoles, des boues d'épuration ou des sédiments de rivière, principalement dans des essais en batch. À notre connaissance, aucun travail n'a spécifiquement porté sur la dégradation des MPO dans des filtres plantés de type FPR traitant des eaux de ruissellement urbain, ni sur le lien entre biodégradation et diversité microbienne.

Ce travail propose ainsi un focus sur la cinétique de biodégradation de certains MPO présents dans le ruissellement urbain — à savoir le BPA, le 4-NP et le 4-OP — et sur les rôles des communautés bactériennes, de la végétation et du type de substrat dans ce processus de dégradation. L'étude s'inscrit dans le cadre du projet européen Life ADSORB, au sein duquel un filtre planté à flux vertical innovant a été mis en place pour traiter une partie des eaux de ruissellement du périphérique parisien. L'approche consistant à suivre la cinétique de dégradation de ces MPO émergents dans des colonnes expérimentales plantées et non plantées, associée à une évaluation de la diversité bactérienne, n'a, à notre connaissance, jamais été proposée dans la littérature. Les auteurs espèrent ainsi que les résultats obtenus permettront une meilleure compréhension du fonctionnement des filtres plantés dans la gestion des eaux pluviales et contribueront à l'optimisation de leur conception et de leur efficacité pour réduire les flux de polluants organiques vers les écosystèmes aquatiques.

2. Matériel et méthodes

Le principe des expériences de biodégradation repose sur le suivi des teneurs en BPA, 4-OP et 4-NP dans des colonnes plantées et non plantées contenant des substrats de filtre planté de roseaux enrichis artificiellement par ces composés. La configuration expérimentale s'appuie sur des expériences antérieures en laboratoire sur des sols contaminés (Seidl *et al.*, 2021) ainsi que sur des études en colonnes de biodégradation (Bertelkamp *et al.*, 2015). Les lignes directrices des essais de biodégradation sur le sol de la norme ISO 11266 (ISO, 1994) ont été suivies.

2.1. Site d'étude et prélèvements des substrats

Le filtre planté de roseaux (FPR) est situé dans le parc du Bois de Boulogne, à l'ouest de Paris (France, 48°52'28.6"N 2°15'43.6"E). Il est subdivisé en deux parties en forme de haricot d'environ 600 m² chacune. Leur structure est similaire : de haut en bas, on retrouve une couche filtrante (40 cm), puis une couche de transition (10 cm) et enfin une couche de drainage submergée (50 cm). La différence réside dans la composition de la couche filtrante. Dans le FPR conventionnel (FPR-S), cette couche est composée de 40 cm de sable, tandis que dans le filtre innovant (FPR-R), une couche de 20 cm de substrat adsorbant commercial, le Rainclean® (RC), est insérée entre deux couches de 10 cm de sable. Sa composition exacte n'est pas connue, mais le RC contient principalement des carbonates, des fibres de coco, de la pouzzolane et du charbon actif. Les deux filtres sont plantés de roseaux communs (*Phragmites australis*). Depuis février 2021, les filtres sont alimentés alternativement (un mois sur deux) par des pompes situées dans une bache de stockage qui se remplit avec des eaux de nappe (eaux

claires parasites permanentes) et/ou des eaux de ruissellement. En période de fortes pluies, les filtres fonctionnent simultanément, avec un écoulement vertical descendant jusqu'à 20 L/s.

Pour les expérimentations, des échantillons représentatifs de substrats ont été prélevés en avril 2022 au centre du FPR-R : sédiment de surface (qui s'est développé avec le temps), sable et RC. Les échantillons ont été séchés à l'air (25°C) pendant deux semaines. Une légère décompaction a été effectuée pour les sédiments afin de séparer les agrégats. Aucun tamisage n'a été réalisé, mais les racines et débris végétaux ont été retirés avant utilisation. Les échantillons secs ont été conservés à température ambiante dans des contenants fermés à l'abri de la lumière jusqu'au montage des colonnes.

Les propriétés physico-chimiques des substrats ont été caractérisées : pH (NF ISO 10 390), carbone organique total (COT, combustion catalytique à haute température, 960°C), azote total (NT, NF ISO 13 878), capacité d'échange cationique (CEC, NFX 31-130) et granulométrie (NF ISO 13320-1). Les teneurs initiales en BPA, 4-OP et 4-NP ont été quantifiées pour déterminer les niveaux de fond des MOP dans les substrats (voir section 2.4).

2.2. Procédures expérimentales

Les expériences de biodégradation aérobie ont été conduites en triplicat (pour une condition donnée, substrat et pas de temps) dans des colonnes cylindriques en acier inoxydable (12 cm de hauteur, 7 cm de diamètre) avec à leur base par une grille en acier inoxydable de 100 µm de maille et remplies avec 10 cm de sable ou de RC issus du FPR-R (Figure 1). Pour évaluer également la dégradation dans les sédiments accumulés, des colonnes non plantées contenant 5 cm de sédiment ont été réalisées. Les colonnes ont été remplies avec les substrats traités au préalable, en veillant à maintenir une masse volumique identique à celle mesurée sur le terrain. Tous les matériaux utilisés ont été rincés à l'acétone ou calcinés (2 heures à 550 °C).

Deux conditions d'exposition aux MOP ont été mises en place : substrats plantés et non plantés. Pour corriger les effets de la dégradation abiotique, un contrôle stérile non planté a été mis en place pour les trois substrats. Les échantillons témoins ont été stérilisés juste avant l'exposition aux MOP par trois cycles d'autoclavage à 121°C pendant 30 minutes avec 24 heures de repos entre chaque cycle, puis maintenus hermétiquement fermés. Pour corriger les éventuelles évolutions naturelles des communautés microbiennes, des contrôles non pollués ont été réalisés pour tous les substrats ; il s'agit de substrats collectés sur site (déjà en contact avec les MOP) mais non enrichis en laboratoire. Pour la condition plantée, de jeunes roseaux communs (*P. australis*) de 15 cm de hauteur, fournis par la société Santonine, ont été utilisés. Le substrat initial présent dans le pot a été retiré, les racines lavées à l'eau déminéralisée, puis les jeunes plants ont été placés au centre des colonnes contenant du sable ou du RC. Chaque plant possédait plusieurs tiges.

Toutes les colonnes, à l'exception des témoins abiotiques, ont ensuite été pré-incubées pendant deux semaines afin d'acclimater les plantes et les microorganismes aux nouvelles conditions. La pré incubation a eu lieu en chambre climatique (KBWF 720, Binder) avec des conditions proches de celles du terrain : 16 h de lumière à 20°C et 8 h d'obscurité à 15°C, avec une humidité de l'air constante de 60 %. Les colonnes ont été positionnées aléatoirement dans la chambre et arrosées tous les deux jours pour compenser l'évapotranspiration.

L'eau utilisée pour l'irrigation était une eau minérale stérile (Volvic), proche de l'eau de pluie en composition (12 mg/L Ca^{2+} , 8 mg/L Mg^{2+} , 12 mg/L Na^+ , 6 mg/L K^+ , 9 mg/L SO_4^{2-} , 74 mg/L HCO_3^- , 7.3 mg/L NO_3^- , 15 mg/L Cl^- , 32 mg/L SiO_2 , pH 7).

À la fin de la pré incubation, chaque colonne a été artificiellement contaminée avec du BPA, du 4-NP et du 4-OP (sauf les contrôles non pollués), en les immergeant doucement dans un bécher d'1 L contenant 10 cm d'eau Volvic enrichie (4-NP : 3.5 mg/L, 4-OP : 1 mg/L, BPA : 2.57 mg/L). Les concentrations choisies sont basées sur les moyennes trouvées dans les eaux de ruissellement à Paris (Gaspero *et al.*, 2022), mais augmentées 100 fois pour garantir une détection suffisante dans les substrats à la fin de l'essai. Après 4 h d'exposition, les colonnes ont été égouttées pendant 1 h pour éliminer l'eau gravitaire. Enfin, elles ont été incubées en chambre climatique dans les mêmes conditions que pour la préincubation.

À chaque intervalle de temps défini (0 ; 1 ; 4 ; 7 ; 14 ; 30 jours), un triplicat de colonnes a été prélevé, puis leur contenu homogénéisé pour permettre les différentes analyses. Le temps initial (T_0) correspond à 5 h après exposition aux MOP. La contribution de la végétation est calculée par la différence entre colonnes plantées et non plantées. Celle des microorganismes est calculée par la différence entre colonnes non plantées et les témoins abiotiques.

Un test préliminaire unique a été réalisé avec du sable et du RC non plantés, comparé à des essais en batch avec un ratio substrat/liquide de 1:2 selon la norme EPA OPPTS 835.3180 (Ranchoux, 2021), afin de valider la configuration et de déterminer la durée de test appropriée.

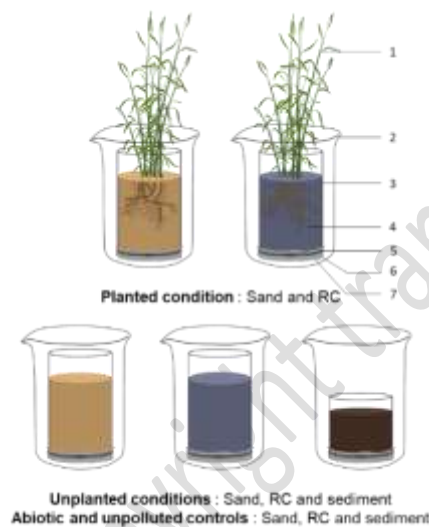


Figure 1 : Les différentes colonnes mises en place pour l'expérience. 1 : *P. australis* (conditions de plantation) ; 2 : Bécher en verre (1 L) ; 3 : Colonnes en acier inoxydable (12*7.2 cm ou 7*7.2 cm) ; 4 : Substrat : sable, RC ou sédiment - stérile ou non ; 5 : Pince en acier inoxydable ; 6 : Grille en acier inoxydable (maille de 75 μm) ; 7. Structure en aluminium stérile (invisible, pour surélever les colonnes).

2.3. Produits chimiques et réactifs

Le bisphénol A (BPA : 4-[2-(4-hydroxyphényl)propan-2-yl]phénol, CAS 80-05-7) et le 4-nonylphénol (4-NP : 4-(7-méthyl-octyl)phénol, CAS 84852-15-3), ont été achetés chez Sigma-Aldrich, avec une pureté analytique >99 % et >90 % respectivement. Le 4-tert-octylphénol (4-OP : 4-(2,4,4-triméthylpentan-2-yl)phénol, CAS 140-66-9) a été fourni par Cil Cluzeau, avec une pureté analytique >98 %.

Les standards internes d'injection 4-nNP, BPA-d16, nNP2EC et nNP1EO ont été achetés auprès de LGC (>99 % de pureté). Les standards d'extraction BPA-d6, NP1EO-d2 et OP-d17 ont été achetés respectivement auprès de CIL, Sigma-Aldrich et CDN (>99 % de pureté).

Les solutions mères de MOP ont été préparées à une concentration de 2 g/L dans du méthanol et conservées à l'obscurité à 4°C. Les solvants organiques utilisés – acétone, dichlorométhane (DCM) et acétate d'éthyle (EtAce) – ont été achetés chez Supelco-Sigma Aldrich, et le méthanol (MeOH) chez Fisher Chemical, tous de qualité analytique ($\geq 99,9$ % de pureté). L'eau ultrapure (UP-H2O, IQ 7000, Merck) utilisée présentait une résistivité de 18,2 M Ω ·cm et un COT de 2,1 ppb.

2.4. Analyses du BPA, 4-OP et 4-NP

Afin de quantifier la rétention des MOP dans les substrats, leurs concentrations ont été mesurées dans l'eau enrichie avant et après trempage. Pour estimer les cinétiques de biodégradation, les teneurs en MOP ont été analysées dans des échantillons représentatifs de substrats à chaque laps de temps. L'évaporation et l'absorption par les plantes n'ont pas été prises en compte, car jugées négligeables pour ces composés (Soares *et al.*, 2008).

Avant l'analyse, les substrats issus des colonnes ont été congelés (-18°C), lyophilisés (Alpha 1-2 LD Plus, CHRIST) puis broyés dans un broyeur à billes planétaire en agate (PM100, Retsch) afin d'obtenir une poudre fine. Ensuite, 500 mg de substrat homogénéisé ont été extraits par une méthode solvant/micro-ondes. L'extraction micro-ondes a été réalisée en ajoutant 20 mL d'un mélange de solvants (MeOH/DCM 60/40 v/v) et 25 μ L de standards d'extraction deutérés dans des tubes en Téflon. Les tubes ont été chauffés par micro-ondes (Multiwave 3000, Anton Paar) à 140°C, 7 bars, à 800 W pendant 5 min, puis à 300 W pendant 10 min. Après refroidissement, les extraits ont été filtrés avec un filtre papier pré-nettoyé (5-8 μ m, VWR) pour éliminer les particules. Le volume des extraits a ensuite été réduit par évaporation rotative (Rotavapor R-114 avec régulateur de vide V-850, Büchi) à environ 2 mL. Les ballons d'évaporation ont été rincés avec 2 mL de MeOH et les extraits récupérés. Les échantillons ont été transférés dans des flacons en verre, puis évaporés à sec sous un flux d'azote (Visiprep DL, Supelco). Ils ont été repris avec 500 μ L de mélange MeOH/eau ultrapure (50/50 v/v) pour être purifiés sur cartouches SPE OASIS® HLB (200 mg / 6 mL, Waters).

Les cartouches SPE ont été conditionnées avec 3 mL de MeOH, puis 3 mL d'un mélange eau ultrapure/MeOH (80/20 v/v) et 3 mL d'eau ultrapure (IQ 7000 Merck), puis séchées pendant 30 min. Les échantillons ont été élués avec 9 mL d'un mélange MeOH/DCM/EtAce (40/40/20 v/v/v). 50 μ L de standards d'injection ont été ajoutés à chaque éluat, puis évaporés à sec.

Les échantillons finaux ont été repris dans 1 mL de phase mobile A1/B1 (50/50 v/v) : A1 = eau ultrapure + 0,05 % NH₄OH ; B1 = MeOH + 0,05 % NH₄OH. Pour les échantillons liquides (eau), seuls 50 µL de standard d'injection ont été ajoutés à 950 µL d'échantillon filtré (0,2 µm) avant analyse.

L'analyse du BPA, 4-NP et 4-OP a été réalisée par chromatographie liquide ultra-performante (UPLC, ACQUITY, Waters) couplée à une spectrométrie de masse en tandem (MS-MS, ACQUITY TQD, Waters). Les composés ont été élués sur une colonne Acquity UPLC BEH C18 (100 mm × 2,1 mm × 1,7 µm) au cours d'un gradient de 8 minutes. L'ionisation a été effectuée par électrospray et la détection/quantification par deux transitions MS-MS spécifiques par molécule.

Des blancs d'extraction ont été préparés et analysés selon le même protocole pour évaluer toute contamination. Les concentrations en MOP dans les substrats ou solutions ont été calculées en prenant en compte le rendement d'extraction des standards ainsi que l'aire des pics des standards d'injection. Une courbe d'étalonnage interne à douze points a été utilisée, basée sur le rapport entre les aires des pics des MOP et des standards d'injection, puis corrigée par le rendement d'extraction. Les valeurs finales ont été ajustées par soustraction de la moyenne des blancs d'extraction.

2.5. Analyses microbiennes et biochimiques

2.5.1. Diversité fonctionnelle microbienne des substrats

Les profils d'utilisation des sources de carbone par les micro-organismes présents dans les colonnes ont été évalués à chaque phase de prélèvement à l'aide de microplaques spécifiques. Pour évaluer la diversité fonctionnelle microbienne du sol, conformément à Weber et Legge (2010) et Garland et Mills (1991), des plaques Biolog EcoPlates™ (Biolog Inc., CA, USA) ont été utilisées. Des suspensions cellulaires microbiennes ont été préparées en agitant 4 g de substrat dans 36 mL de solution de NaCl stérile (9 g·L⁻¹) pendant 1 heure à 40 rpm. Pour éliminer les particules de sol, la suspension a été centrifugée à 3000 rpm pendant 10 minutes. 150 µL d'une dilution au 1/100e du surnageant ont été ajoutés dans chaque puits de la plaque EcoPlate. Les plaques ont été incubées à 25°C et l'absorbance à 595 nm mesurée avec un spectrophotomètre Multiskan FC (ThermoScientific) après 0, 24, 48, 72, 96, 120 et 168 heures. Les puits avec une absorbance supérieure à 0,25 ont été considérés comme positifs (A *et al.*, 2017), après correction par la soustraction des valeurs initiales et du blanc. L'indice AWCD (Average Well Color Development) a été calculé selon l'équation (1) (Garland, 1996). La richesse catabolique a été déterminée en divisant le nombre de substrats positifs par le nombre total de substrats (31).

$$(1) AWCD = \sum (C - C_0 - B) / 31$$

où C est l'absorbance de chaque puits, C₀ l'absorbance initiale et B le blanc.

2.5.2 Activité enzymatique totale des substrats

L'activité enzymatique microbienne totale a été évaluée par l'hydrolyse du diacétate de fluorescéine (FDA), selon la méthode décrite par Green *et al.* (2006). 96 puits ont été remplis avec 100 μL de solution d'échantillon (1 g de substrat dans 5 mL d'eau déminéralisée), 50 μL de tampon borate de sodium-acide chlorhydrique (pH alcalin) et 50 μL de solution de FDA (3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Les microplaques ont été incubées à 37°C pendant 2 heures sur un agitateur (200 rpm). Après incubation, les plaques ont été centrifugées 10 minutes à 1500 rpm. 100 μL du surnageant de la première plaque ont été transférés dans une nouvelle plaque contenant 100 μL du même tampon (refroidi). L'absorbance de chaque puits a ensuite été mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre SAFAS Monaco (Xenius XML). La quantité de fluorescéine produite a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage et exprimée en μg de fluorescéine / g de sol sec / h.

2.5.3 Diversité génétique bactérienne des substrats

L'ADN a été extrait à partir de 500 mg de substrat à l'aide du kit FastDNA® Spin pour sols (MP Biomedical, USA), selon le protocole du fabricant. L'ADN a été extrait aux temps initial et final d'incubation. La qualité de l'extraction a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose (1 %) et la quantité d'ADN mesurée avec un spectrophotomètre Nanovue Plus (Biochrom). La composition des communautés bactériennes a été analysée par séquençage haut débit (Illumina MiSeq), réalisé par Eurofins Genomics (Allemagne). Les régions variables V3–V4 du gène 16S de l'ARNr ont été amplifiées avec les amorces TAC GGG AGG CAG CAG (sens) et CCA GGG TAT CTA ATC C (antisens), puis les produits PCR séquencés.

Les séquences obtenues ont été traitées avec le logiciel open source QIIME 2 version 2021.11 (Bolyen *et al.*, 2019). Les séquences brutes ont d'abord été filtrées selon leur score de qualité, puis débruitées et les chimères éliminées à l'aide du plug-in DADA2 (Callahan *et al.*, 2016). Les séquences ont été alignées avec MAFFT (Kato et Standley, 2013), puis une phylogénie a été construite avec FastTree (Price *et al.*, 2009). L'annotation taxonomique des ASV (Amplicon Sequence Variants) a été réalisée à l'aide de la base de données Greengenes 13.8 (McDonald *et al.*, 2012) et de la commande « feature-classifier ». Une raréfaction a été effectuée afin d'uniformiser le nombre de séquences par échantillon, en les ramenant au nombre minimal de séquences observé. Cette méthode permet de comparer les communautés bactériennes selon un même effort d'échantillonnage.

2.6. Analyse des données

2.6.1. Modélisation de la cinétique de biodégradation

La modélisation de la cinétique de biodégradation des OMP a été réalisée avec le logiciel Gmkin (Ranke, 2021) du logiciel R (R Core Team, version 4.2.2, 2022). Les données ont été converties en pourcentage d'OMP (en fonction de la teneur initiale), et la modélisation a été basée sur six étapes temporelles et trois répétitions. Pour sélectionner le modèle qui correspond le mieux à la cinétique de dégradation des OMP, le manuel du groupe de travail FOCUS (Boesten *et al.*, 2014) a été utilisé. Quatre modèles cinétiques ont été testés : Single First-Order (SFO, équation (2)), First-order multi-compartment (FOMC, équation (3)), Hockey-Stick (HS, équations (4.1) et (4.2)) et Modified Hockey-Stick (MHS, équations (4.1) et (4.2)).

SFO est une équation exponentielle simple qui suppose que le nombre de molécules d'intérêt est faible par rapport au nombre de micro-organismes de dégradation et de leurs enzymes. FOMC est un modèle bi-phasique du premier ordre qui suppose que le sol est un milieu hétérogène et le divise ensuite en un petit nombre de sous-compartiments, chacun ayant une constante de vitesse de dégradation différente (Boesten *et al.*, 2014). HS est également un modèle bi-phasique du premier ordre, mais qui suppose deux courbes séquentielles du premier ordre avec un point de rupture à un moment spécifique. MHS est le même modèle que HS mais introduit une phase de retard sans dégradation avant le point de rupture t_b en fixant $k_1 = 0$ (Boesten *et al.*, 2014).

$$C_t = C_0 * e^{-k*t} \quad (2: SFO)$$

$$C_t = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1\right)^\alpha} \quad (3: FOMC)$$

$$C_t = C_0 * e^{-k_1*t} \quad \text{pour } t \leq t_b \text{ et } C_t = C_0 * e^{-k_1*t_b} * e^{-k_2*(t-t_b)} \quad \text{pour } t > t_b \quad (4.1: HS \text{ and MHS})$$

$$C_t = C_0 \quad \text{pour } t \leq t_b \text{ et } C_t = C_0 * e^{-k_2*(t-t_b)} \quad \text{pour } t > t_b \quad (4.2: HS \text{ and MHS})$$

où C_t est la teneur en OMP (%) au temps t (jour), C_0 est la teneur initiale en OMP (%), k , k_1 et k_2 sont des constantes de vitesse de dégradation (jour⁻¹). α est un paramètre de forme FOMC sans dimension déterminé par le coefficient de variation des valeurs k , β est un paramètre de localisation sans dimension. t_b est le point de rupture HS et MHS (jour) auquel la constante de vitesse change. $k_1 = 0$ décrit dans le modèle MHS la phase initiale sans dégradation, la phase de retard.

Chaque ensemble de données cinétiques a été modélisé selon les quatre modèles décrits ci-dessus, le C_0 a été fixé à 100 % et les autres paramètres ont ensuite été optimisés. Selon (Boesten *et al.*, 2014), le modèle avec le χ^2 le plus faible est celui qui décrit le mieux les données. L'erreur de mesure χ^2 est définie comme l'écart entre les données calculées et observées par rapport à l'incertitude des mesures. Selon (Boesten *et al.*, 2014), un χ^2 inférieur à 15% indique un bon ajustement et valide le modèle. Pour améliorer l'ajustement, les valeurs aberrantes ont été identifiées selon que les valeurs étaient en dehors des courbes min et max définies par les intervalles de confiance des différents paramètres cinétiques (k , α , β) obtenus avec l'ensemble des données. Si des valeurs aberrantes étaient présentes, elles ont été supprimées et les données restantes ont été remodelées. La demi-vie (DT_{50} , temps nécessaire pour que la teneur en OMP diminue de moitié par rapport à la valeur initiale) a été calculée à l'aide du modèle le mieux adapté selon les équations (5, OFS), (6, FOMC) et (7, HS et MHS). Les intervalles de confiance du DT_{50} ont été calculés à partir des intervalles de confiance à 95 % donnés pour les paramètres cinétiques. Seuls les résultats obtenus pour le modèle le mieux ajusté sont présentés dans cet article.

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5: SFO)$$

$$DT_{50} = \beta \left(2^{\frac{1}{\alpha}} - 1 \right) \quad (6: FOMC)$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k_1} \quad \text{if } DT_{50} \leq t_b \quad (7.1: HS \text{ and MHS})$$

$$DT_{50} = t_b + \frac{(\ln 2 - k_1 t_b)}{k_2} \quad \text{if } DT_{50} > t_b \quad (7.2: HS \text{ and MHS})$$

2.6.2 Traitement bioinformatique de la diversité génétique

Pour calculer les métriques de diversité alpha et bêta sur le logiciel QIIME 2, tous les échantillons ont été normalisés au nombre minimal de séquences dans un échantillon qui était de 51 266. La saturation de la diversité est restée suffisante. La diversité alpha a été étudiée par le biais des ASV observés (nombre de taxons différents observés) et de l'indice de Shannon. Les ASV observés ont été sélectionnés pour évaluer la richesse des communautés et l'indice de Shannon pour évaluer la diversité des communautés (Callahan *et al.*, 2017 ; Willis, 2019 ; Faith, 1992). La bêta-diversité a été appliquée pour évaluer les différences de communauté bactérienne entre tous les échantillons en fonction de la composition des ASV (Callahan *et al.*, 2017 ; Anderson *et al.*, 2011). Ainsi, des analyses de coordonnées principales (PCoA) à partir des distances pondérées UniFrac (basées sur l'abondance et la phylogénétique des taxons) et Bray-Curtis (basées sur l'abondance des taxons) ont été réalisées. Sans normalisation des ASV au nombre minimal, la taxonomie bactérienne des échantillons a été évaluée à l'aide d'histogrammes des abondances relatives des taxons, au niveau des phyla, et à l'aide d'une carte thermique du score Z de l'abondance relative des genres (avec une abondance > 1 % pour les deux).

L'enrichissement différentiel des caractéristiques bactériennes entre les conditions et les substrats a été déterminé en utilisant la taille de l'effet de l'analyse discriminante linéaire (LDA) (LEfSe ; Segata *et al.* 2011), avec l'analyse multiclasse un contre un. Un score LDA de 2 et un alpha de signification de 0,05 (test de Kruskal-Wallis) ont été utilisés comme seuils. L'analyse a été effectuée pour chaque substrat en fonction des différentes conditions (comparaison entre planté et non planté et pollué et non pollué) au moment final seulement (T30). Les taxons qui n'ont pas été identifiés au moins au niveau de l'ordre n'ont pas été inclus.

2.6.3 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 4.3.1). Les graphes ont été produits à l'aide des packages ggplot2, cowplot, dplyr et vegan. L'analyse de la variance (ANOVA à un ou deux facteurs) a été utilisée pour tester les différences significatives entre les conditions expérimentales ($p < 0,05$). Lorsque l'ANOVA indiquait des différences significatives, un test post-hoc de Tukey HSD (Honest Significant Difference) a été réalisé pour comparer les groupes deux à deux.

Les cinétiques de dégradation ont été modélisées à l'aide d'une cinétique d'ordre 1, en supposant une décroissance exponentielle de la concentration des MOP dans le temps. Les demi-vies (DT50) ont été calculées en ajustant la fonction suivante :

$$C(t) = C_0 \times \exp^{-kt}$$

où $C(t)$ est la concentration à l'instant t , C_0 la concentration initiale, k la constante de dégradation (jour^{-1}), et t le temps (en jours). La demi-vie DT50 est calculée selon la formule :

$$DT50 = \ln(2) / k$$

Les données ont été ajustées à cette équation par régression non linéaire (nls) et la qualité de l'ajustement vérifiée par le coefficient de détermination R^2 et la visualisation des résidus.

La diversité microbienne a été explorée à l'aide d'indices alpha (richesse, Shannon) et beta (Bray-Curtis), calculés à partir des tables d'ASV obtenues avec QIIME 2. Les différences de structure des communautés microbiennes entre conditions expérimentales ont été testées par analyse de la variance permutée (PERMANOVA, fonction adonis du package vegan). La visualisation des communautés bactériennes a été réalisée par analyses en coordonnées principales (PCoA) sur la base des distances de Bray-Curtis.

3. Résultats

3.1 Caractérisation des substrats

Le Tableau 2 présente les propriétés physico-chimiques des trois substrats évalués. Les données révèlent que les sédiments et le RC sont beaucoup plus organiques (103,6 et 27,5 g/kg de carbone organique respectivement) que le sable (1,6 g/kg), ce qui explique en partie leur plus grande CEC, 19,8 et 37,4 me/100 g respectivement contre 2,2 me/100 g pour le sable. Enfin, le sédiment était moins basique (7,87 contre 8,62 et 8,79 pour le sable et le RC, respectivement) et contenait beaucoup plus d'azote et de limon que le sable et le RC.

Les teneurs initiales en polluants dans le sable et le RC étaient presque toujours inférieures à la limite de détection (0,004 µg/g sec ont été mesurés pour le 4-OP dans le RC), ce qui indique l'absence de contamination. Le sédiment semble être contaminé, contenant des niveaux significatifs de BPA, 4-NP et 4-OP (0,288, 0,372 et 0,060 µg/g sec respectivement). Le 4-NP était donc le composé le plus présent dans les sédiments. Ces valeurs sont du même ordre que celles observées par d'autres auteurs comme (Flanagan *et al.*, 2019b).

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du sable, du Rainclean et des sédiments (COT : carbone organique total ; TN : Azote total ; CEC : Capacité d'échange cationique), teneurs initiales et dopées (écart-type) et rétention (écart type) du bisphénol A (BPA), du 4-nonylphénol (4-NP) et du 4-t-octylphénol (4-OP).

Substrate	TOC g/k g	TN g/k g	pH	CEC me/100 g	Clay %	Silt %	BPA µg/g	4-NP µg/g	4-OP µg/g	BPA retaine d %	4-NP retaine d %	4-OP retaine d %
<u>Sand</u>							<0.002	<0.002	<0.002			
<i>spiked</i>	1.57	0.53	8.62	2.20	1.2	9.1	0.270 (0.09)	0.515 (0.19)	0.086 (0.03)	35.2 (2.87)	92.3 (2.25)	98.4 (0.28)
<u>Rainclean</u>							<0.002	<0.002	0.004			
<i>spiked</i>	27.5	0.37	8.79	37.4	1.5	17.3	0.391 (0.07)	1.321 (0.68)	0.220 (0.04)	52.1 (9.13)	93.3 (3.29)	98.5 (0.52)
<u>Sediment</u>							0.288	0.372	0.060			
<i>spiked</i>	104	5.46	7.87	19.8	6.6	64.1	1.425 (0.03)	2.339 (0.26)	2.166 (0.14)	69.4	97.9	99.8

L'adsorption mesurée à partir du dopage semble être conditionnée par les propriétés physicochimiques des substrats et des OMP. Le 4-NP et le 4-OP ont été davantage retenus que le BPA, en raison de leur capacité d'adsorption plus élevée. L'adsorption du BPA semble être conditionnée par la teneur en carbone organique en raison de sa plus grande solubilité dans l'eau et de son pKa (Soares *et al.*, 2008 ; Corrales *et al.*, 2015).

3.2 Cinétique de (bio)dégradation

Dans ce paragraphe, nous présentons la cinétique de dégradation des OMP étudiés et de leur différence en fonction du substrat, du polluant et de l'exposition. La Figure 1 présente la cinétique de dégradation biotique et abiotique du BPA, du 4-NP et du 4-OP pour les différents substrats et conditions d'exposition (plantée, non plantée, stérile) pendant les 30 jours d'incubation. Les lignes représentent l'ajustement du modèle avec l'erreur du Chi(2) la plus faible. L'erreur χ^2 associée aux différents modèles varie entre 0,77 et 14,32%, avec une moyenne inférieure à 10% (Tableau3). Le test de corrélation de Pearson R-values entre 0,934 et 0,994 (p -value $< 10^{-7}$) confirme que ces modèles décrivent bien les données obtenues et peuvent être validés (Boesten *et al.*, 2014). L'élimination des valeurs aberrantes (écart de plus de 3 SD) a permis d'obtenir des données plus cohérentes et de réduire l'erreur du modèle.

Pour tous les substrats et conditions, une dégradation relativement rapide a été observée durant les 10 premiers jours (Figure 1), période durant laquelle la plus grande partie des composés a été dégradée.

Cette phase a ensuite été suivie d'une dégradation plus lente ou presque nulle. Pour la dégradation des alkylphénols dans le sable, une phase de latence de 3 à 7 jours a été observée. Ce phénomène est également apparu pour d'autres substrats mais était moins systématique et était probablement lié d'une part à la biodisponibilité et d'autre part à la faculté des bactéries à dégrader. Les alkylphénols sont moins solubles dans l'eau et donc moins disponibles pour les bactéries que le BPA, de plus la présence de matière organique comme dans le RC et les sédiments est connue pour augmenter la biodégradabilité (Hayashi *et al.*, 2005). D'autre part, une phase résiduelle des OMP a toujours été observée pour le RC et les sédiments à la fin de l'expérience, sauf pour le BPA et le 4-NP dans le RC plantés.

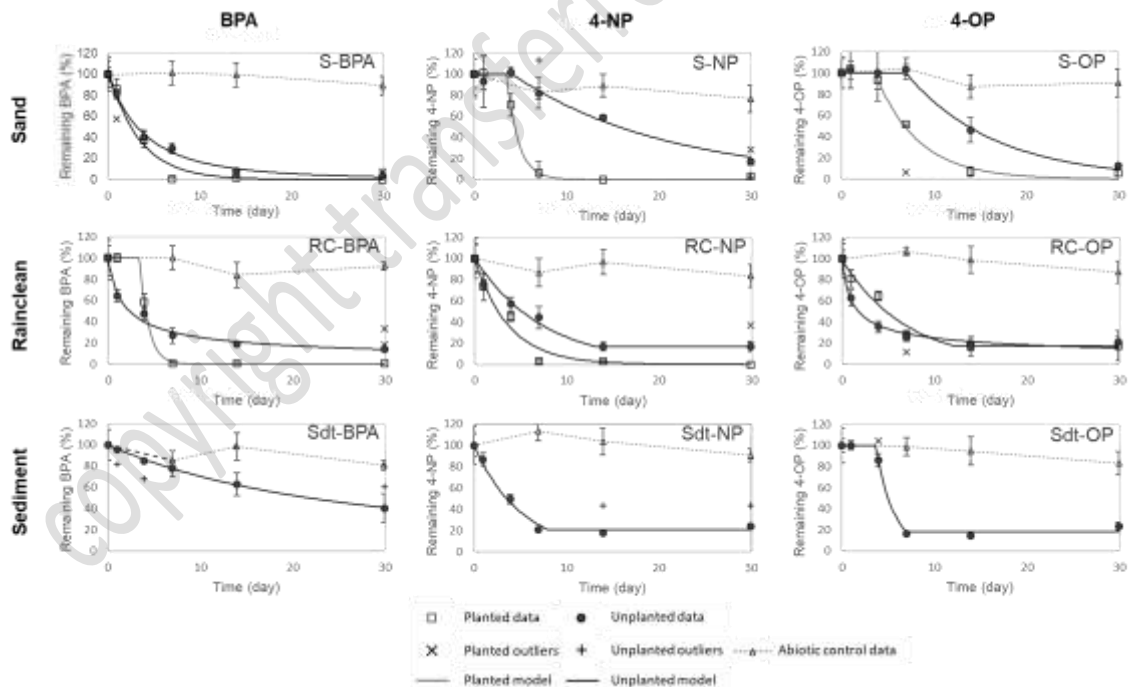


Figure 1 : Cinétique de dégradation du bisphénol A (BPA), du nonylphénol (NP) et de l'octylphénol (OP) dans le sable (S), le Rainclean (RC) et le sédiment (Sdt). Les carrés et les cercles représentent les valeurs mesurées pour les conditions plantées et non plantées respectivement ; les triangles représentent les valeurs de contrôle abiotique ; la croix et le signe plus représentent les valeurs aberrantes. Les lignes représentent les valeurs modélisées. Les barres indiquent l'écart-type de la moyenne (n=3).

Comme le montre le Tableau 3, la dégradation du BPA est globalement mieux décrite par la cinétique du premier ordre (SFO) et du premier ordre à compartiments multiples (FOMC), tandis que les alkylphénols correspondent mieux au modèle de hockey (HS/MHS). La dégradation des alkylphénols dans le sable a été globalement la mieux décrite par le modèle MHS, aussi bien en conditions plantées que non plantées. Pour les deux autres substrats, il n'y a pas de tendance claire. Le RC non planté ainsi que les sédiments ont montré pour tous les OMP une petite partie réfractaire d'environ 20 % restant à la fin de l'expérience, probablement adsorbée sur la matière organique et non disponible pour les microorganismes. Ce comportement a été le mieux décrit par le modèle MHS, avec un point de rupture autour de 10 jours à partir duquel les concentrations en OMP restent constantes et a été le mieux décrit par le FOMC lorsqu'une diminution lente a encore été observée. L'ajustement d'un modèle permet de calculer le temps de demi-dégradation (DT50) des OMP (Tableau 3). Le BPA était le composé le plus rapidement dégradé, avec un DT50 compris entre 2,34 et 4,06 jours en conditions de plantation, et entre 3,18 et 2,32 jours en conditions de non plantation pour le sable et le RC respectivement (Tableau 3). Le RC a donné pour toutes les substances des DT50 inférieurs à ceux du sable (sauf pour le BPA en conditions plantées), avec des DT50 du 4-NP allant de 2,55 à 5,11 jours et de 1,75 à 4,83 jours pour le 4-OP. Le sédiment a montré une dégradation comparable à celle du RC (DT50 de 3,55 et 4,96 jours pour le 4-NP et le 4-OP) à l'exception du BPA (DT50 de 21,7 jours), probablement en raison de l'adsorption élevée du BPA sur la matière organique présente dans le sédiment. L'expérience finale confirme les résultats du test préliminaire. Le test préliminaire (n=6) a également montré que les tests en colonne sont en moyenne $59 \pm 15\%$ plus lents que les tests en batch, avec une plus grande différence pour le sable ($71 \pm 11\%$) que pour le RC ($47 \pm 14\%$). Cela confirme l'importance d'une bonne configuration de l'essai pour représenter de manière adéquate les processus s'exprimant sur le terrain.

Tableau 3 : Paramètres ajustés des trois modèles cinétiques utilisés (Single-First Order SFO, First-order multi-compartment FOMC et Hockey-Stick HS) pour la dégradation du bisphénol-A (BPA), du nonylphénol (4-NP) et de l'octylphénol (4-OP). Les temps de demi-vie (DT50) sont indiqués avec leurs intervalles de confiance à 95 % (min-max). Les pourcentages de dégradation à la fin de l'incubation (30 jours) sont donnés pour les conditions biotiques et abiotiques. La qualité de l'ajustement est donnée par le niveau d'erreur X2et le coefficient de corrélation de Pearson R (toutes les valeurs p du test de corrélation étaient inférieures à 10⁻⁷). Caractéristiques du BPA, du 4-NP et du 4-OP (Yamamoto *et al.*, 2003 ; Corrales *et al.*, 2015 ; base de données ECHA, 2023d).

Modality	Best model	Estimated parameters (according to the model)					Degradation time		Degradation after 30 days		Goodness of fit	
		k or k1 (d-1) SFO/HS/MHS	k2 (d-1) HS/MHS	tb (d)	α FOMC	β	DT50 (d)	Confidence intervals	Biotic system (%)	Abiotic control (%)	χ^2 error level	R Pearson correlation
BPA (log Kow 3.4, water solubility 300 mg/l)												
Planted-sand	SFO	0.296	-	-	-	-	2.34	1.89-2.89	99.6 (0.7)	10.4 (9)	14.12	0.9791
Planted-RC	MHS	0	1.054	3.4	-	-	4.06	3.94-4.20	99.0 (0.1)	7.5 (3.7)	2.22	0.9932
Unplanted-sand	FOMC	-	-	-	2.892	11.753	3.18	2.87-3.56	96.1 (1.9)	10.4 (9)	6.69	0.9823
Unplanted-RC	FOMC	-	-	-	0.57	0.978	2.32	2.12-3.27	85.8 (2.2)	7.5 (3.7)	9.49	0.9601
Unplanted-sediment	FOMC	-	-	-	1.748	44.655	21.73	20.96-68.0	59.6 (13.4)	19.1 (4.8)	0.77	0.9557
4-NP (log Kow 5.4, water solubility 5.7 mg/l)												
Planted-sand	MHS	0	0.798	3.48	-	-	4.35	3.84-5.59	99.1 (1.5)	23.6 (12.6)	2.89	0.9726
Planted-RC	SFO	0.272	-	-	-	-	2.55	1.96-3.31	98.5 (1.6)	16.6 (10.8)	14.32	0.9678
Unplanted-sand	MHS	0	0.0599	4.06	-	-	15.63	11.35-22.42	83.2 (1.8)	23.6 (12.6)	4.9	0.9343
Unplanted-RC	HS	0.136	5.2E-04	13.09	-	-	5.11	4.13-6.31	83.2 (4.7)	16.6 (10.8)	12.66	0.9678
Unplanted-sediment	HS	0.195	1.1E-11	8.07	-	-	3.55	3.09-4.08	78.1 (4.0)	9.4 (5.9)	8.67	0.9851
4-OP (log Kow 4.8, water solubility 7 mg/l)												
Planted-sand	MHS	0	0.218	3.62	-	-	6.81	5.88-8.10	94.5 (2.9)	9.0 (13.3)	5.68	0.9774
Planted-RC	HS	0.144	4.6E-10	12.15	-	-	4.83	3.62-6.44	82.6 (14.1)	12.7 (10.3)	10.29	0.966

Unplanted-sand	MHS	0	0.104	6.97	-	-	13.63	11.58-16.60	87.6 (2.1)	9.0 (13.3)	2.78	0.952
Unplanted-RC	FOMC	-	-	-	0.456	0.491	1.75	1.56-2.36	78.8 (4.6)	12.7 (10.3)	8.03	0.971
Unplanted sediment	Double MHS	0 then 0.509	5.5E-05	3.62 then 6.97	-	-	4.96	4.35-6.04	76.6 (3.6)	16.8 (11.3)	inf	0.994

copyright transferred, do not p

La Figure 4 fournit la réponse à une question fréquemment posée, celle de l'influence de la plante sur la cinétique de dégradation. La Figure 4 A représente les niveaux de dégradation à la fin des expériences, avec la contribution de la dégradation abiotique, biotique sans plante et biotique avec plante. Globalement, entre 60 et 99,6 % des OMP ont été éliminées après 30 jours. Si l'on corrige pour le contrôle abiotique les chiffres sont un peu plus bas, les valeurs varient de 40 (60 si l'on ne tient pas compte des sédiments) à 92%. Ainsi, la dégradation biotique était le principal processus contrôlant l'élimination des OMP. La dégradation biotique diffère significativement de la dégradation abiotique (KW p-values < 0,05), et aucune dégradation significative n'est apparue dans les contrôles abiotiques après 30 jours. Aucune tendance spécifique liée au substrat n'a été observée (valeurs KW p > 0,05). En ce qui concerne les polluants, le BPA a été plus facilement dégradé, sauf dans les sédiments (40 ou 78% sans sédiments 92%) que les alkylphénols, avec peu de différence entre le 4-NP et le 4-OP (60 - 82% et 60 - 85% respectivement). La tendance la plus significative était la différence entre les conditions plantées et non plantées (Figure 3 A), avec des pourcentages de dégradation systématiquement et significativement plus élevés dans tous les traitements plantés après 30 jours (toutes les valeurs KW p < 0,05, sauf 4-OP dans RC).

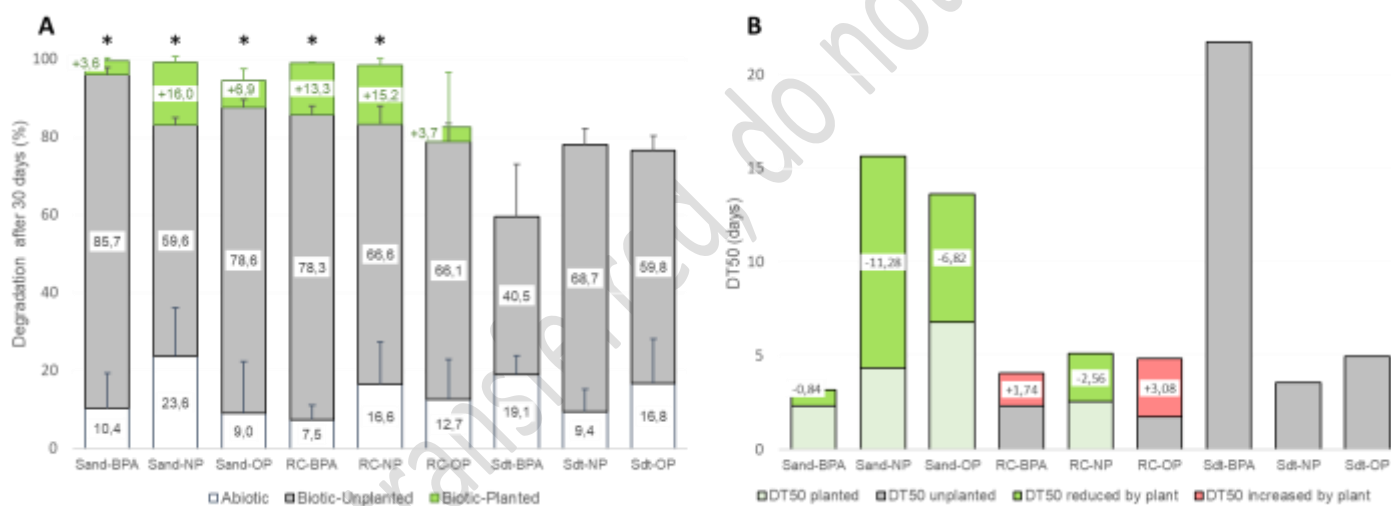


Figure 3 : Comparaison du pourcentage de dégradation (A) et du DT50 (B) pour les différents substrats (sable, RC et sédiments) et les OMP (BPA, 4-NP et 4-OP). A : La contribution abiotique, biotique sans plante et biotique avec plante est représentée (le total des 3 correspond donc à la dégradation totale de la condition plantée). * indique une différence significative (valeur p de Kruskal-Wallis < 0,05) de dégradation entre les conditions plantées et non plantées ; les barres d'erreur correspondent à l'écart-type. B : Lorsque DT50 non planté < DT50 planté, la diminution par la plante est indiquée en vert. Lorsque le DT50 planté > DT50 non planté, l'augmentation par la plante est indiquée en rouge. La diminution ou l'augmentation du DT50 est alors précisée.

Pour les DT50 la vision est moins systématique (Figure 3 B). Dans le sable, les DT50 étaient toujours plus faibles en conditions plantées que non plantées, avec une diminution plus prononcée pour le 4-NP et le 4-OP, passant de 15,6 et 13,6 jours à moins de 5 et 7 jours respectivement. Pour le RC, le 4-NP s'est comporté de la même manière avec une diminution du DT50, mais pour le BPA et le 4-OP, la présence de plantes a augmenté le DT50, ce qui semble contradictoire avec les résultats présentés pour la partie du polluant éliminée après 30 jours (Figure 3 A). Une explication pourrait être trouvée dans les modèles utilisés, en passant de modèles avec et sans phase de décalage comme par exemple pour le BPA.

Parfois, un seul point de mesure est présent entre le niveau minimum et maximum des OMP, ce qui produit une plus grande incertitude pour le DT50 estimé par le modèle.

Pour mieux analyser les données obtenues et clore cette section une analyse en composantes principales (Figure 4) a été réalisée en incluant la cinétique (représentée par le DT50 et le pourcentage de biodégradation), les caractéristiques des polluants (représentées par le coefficient de partage octanol-eau, le Kow en utilisant la base de données de l'ECHA (ECHA database, 2023d), et les substrats (décrits par la teneur en carbone organique et la capacité d'échange, CEC). En fonction de ces variables, l'analyse a identifié 3 groupes principaux d'échantillons liés aux caractéristiques du substrat plutôt qu'au type de polluant : le sable, le RC et les sédiments. En raison de la forte dégradation du BPA, le sable planté et le sable non planté se recoupent, mais le sable planté était corrélé à une dégradation plus importante, tandis que le sable non planté était corrélé à un DT50 plus élevé. Le RC planté et non planté est corrélé à un faible DT50 et le RC planté à une dégradation plus importante. Enfin, les sédiments étaient fortement corrélés à une CEC et à une teneur en carbone organique élevées et étaient plus proches des RC mais uniquement pour l'alkylphénol.

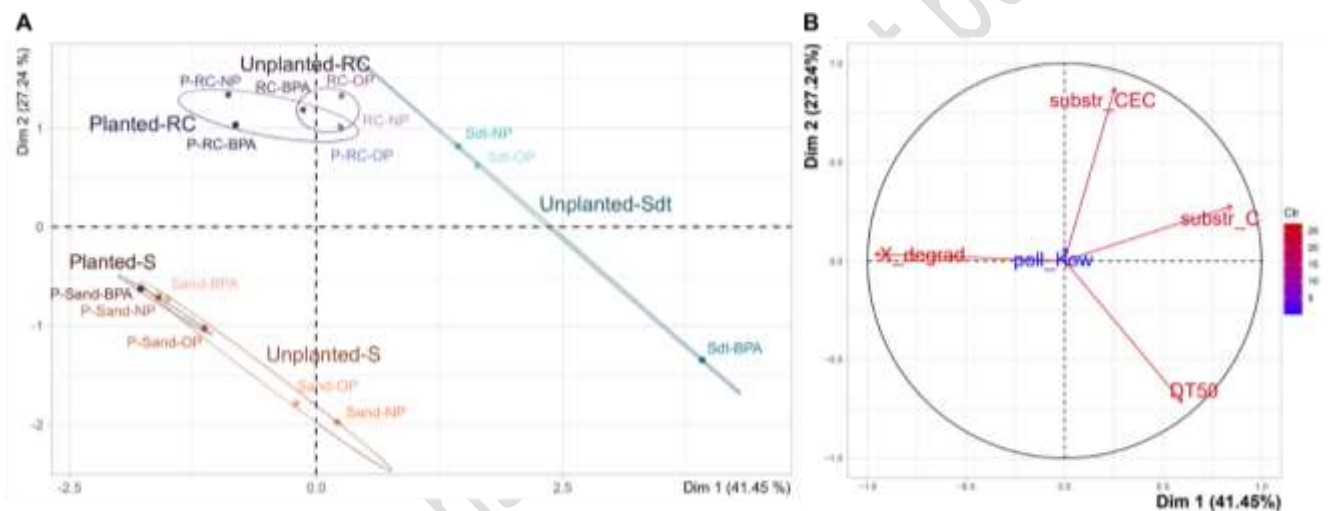


Figure 4 : Analyse en composantes principales (ACP) de tous les échantillons en fonction du polluant Kow (poll_Kow), du pourcentage de dégradation (X_degrad), du DT50, de la teneur en carbone du substrat (substr_C) et de la CEC (substr_CEC). Les axes 1 et 2 expliquent respectivement 41,45 % et 27,24 % de la variance totale.

A : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants en fonction des substrats et de leurs conditions. S : sable, RC : Rainclean. Sdt : sédiment. Les ellipses représentent les intervalles de confiance (95%).

B : diagramme de cercles de corrélation avec des vecteurs variables pour chaque facteur respectif, colorés en fonction de leur contribution.

3.3 Évolution des propriétés microbiologiques et biochimiques

3.3.1. Activité enzymatique totale et diversité fonctionnelle

Le Tableau 4 représente l'évolution de l'activité enzymatique totale au moment initial et final de l'incubation en fonction des différentes conditions expérimentales, mesurée par l'hydrolyse du FDA. Les trois substrats étaient significativement différents les uns des autres (valeurs p KW < 10⁻¹⁶), avec une activité enzymatique totale dans le sédiment (moyenne de 45 µg/g/h) plus élevée que dans le sable (moyenne de 3,5 µg/g/h) et le RC (moyenne de 0,3 µg/g/h). L'activité a légèrement changé avec le temps (cinétique de l'activité enzymatique non montrée),

notamment pour le RC (augmentation entre T0 et T30 pour le RC planté et non planté, valeurs $p < 0,00001$). En conditions plantées, l'activité enzymatique totale du sable était inférieure à celle du témoin (T0 et T30, p -values $< 0,03$). Cet effet était moins prononcé pour le RC.

Tableau 4 : Moyenne ($n=3$ pour l'AWCD, $n=9$ pour l'activité enzymatique) et écart-type () de la diversité fonctionnelle des substrats et de l'activité enzymatique totale au début (T0) et à la fin de l'expérience (T30). AWCD : average well colour development (développement moyen de la couleur du puits). S : Sable ; RC : Rainclean ; Sdt : Sédiment.

Le contrôle est ici le contrôle non pollué. Pour chaque colonne, les valeurs suivies de lettres différentes diffèrent significativement avec $p < 0,05$ avec le test de comparaison de Kruskal-Wallis puis de Conover. Pour un même échantillon entre T0 et T30, une différence significative est exprimée par l'ajout d'un astérisque à T30 (même test statistique).

Sample	AWCD		Total enzymatic activity	
	T0	T30	T0	T30
Planted-S	1.12 (0.13) <i>b</i>	0.99 (0.13) <i>b</i> 0.72 (0.08) <i>a</i>	3.09 (0.56) <i>b</i>	2.84 (0.40) <i>c</i>
Unplanted-S	1.11 (0.23) <i>b</i>	*	3.19 (0.25) <i>bd</i>	3.35 (0.20) <i>cd</i>
Control-S	0.62 (0.02) <i>c</i>	0.33 (0.17) <i>d</i> *	3.71 (0.09) <i>d</i>	3.87 (0.34) <i>d</i>
Planted-RC	0.83 (0.13) <i>a</i>	0.68 (0.16) <i>a</i>	0 (0) <i>a</i>	0.47 (0.11) <i>ab</i> *
Unplanted-RC	0.65 (0.19) <i>c</i>	0.49 (0.10) <i>cd</i>	0.02 (0.01) <i>c</i>	0.57 (0.07) <i>a</i> *
Control-RC	0.69 (0.16) <i>ac</i>	0.51 (0.21) <i>c</i>	0.27 (0.08) <i>c</i>	0.30 (0.12) <i>b</i>
Unplanted-Sdt	2.16 (0.02) <i>d</i>	1.91 (0.08) <i>e</i> *	47.1 (9.88) <i>e</i>	45.1 (4.84) <i>e</i>
Control-Sdt	2.10 (0.04) <i>d</i>	1.81 (0.03) <i>e</i> *	32.2 (2.19) <i>e</i>	49.5 (6.3) <i>e</i> *

L'AWCD calculé à partir du test de dégradation multi-substrat Biolog Ecoplate™ est présenté dans le Tableau 4. Comme pour l'activité enzymatique totale, une différence significative entre les trois substrats a été observée, avec le plus grand nombre de substances dégradées et l'intensité de dégradation la plus élevée dans le sédiment et la plus faible dans le RC (KW p -values $< 0,04$). Cette capacité a légèrement diminué pour tous les substrats avec le temps, mais a diminué de manière significative pour le sable et les sédiments non plantés et le contrôle (taux de variation de l'AWCD entre -12 et -47%, p -valeurs KW $< 0,01$). La présence de *P. australis* a significativement augmenté (KW p -values $< 0,04$) la diversité fonctionnelle dans le sable et le RC, une augmentation plus prononcée à la fin de l'expérience (+ 38%) indiquant que les exsudats racinaires pourraient améliorer le potentiel de dégradation du microbiote. Enfin, la présence d'OMP a induit une capacité de dégradation significativement plus élevée uniquement dans le sable. Les données ont également été analysées en regroupant les substrats carbonés selon les familles moléculaires présentes dans les Ecoplates™ de BIOLOG. Les écarts types élevés associés à ces données ont empêché une meilleure interprétation des résultats.

3.3.2. Structure et diversité de la communauté bactérienne

Initialement, le séquençage a généré une gamme de séquences brutes, variant de 60422 à 244128 selon les échantillons. Après l'étape de débruitage, le nombre de séquences retenues variait de 51294 à 178199, soit 73 à 87 % du nombre initial. Après traitement des données, un

total de 10069 ASV distincts a été identifié. Le nombre de caractéristiques différentes variait entre 600 et 1668, en fonction de l'échantillon.

La composition de la communauté bactérienne a été évaluée pour chaque substrat. La Figure 4 illustre l'abondance relative des phyla bactériens dominants (> 1 %) dans les substrats au moment initial et final de l'expérience de biodégradation. Parmi les 15 embranchements détectés avec des abondances supérieures à 0,1 %, 7 embranchements (Protéobactéries, Actinobactéries, Gemmatimonadetes, Acidobactéries, Firmicutes, Bacteroidetes et Nitrospirae) ont dominé, représentant 98,5 % à 99,4 % de l'ensemble des communautés bactériennes. Les protéobactéries étaient systématiquement le phylum le plus dominant dans tous les substrats, allant de 58 à 63 % dans le sable, de 56 à 74 % dans le RC et de 51 à 60 % dans les sédiments. Les actinobactéries suivaient en tant que deuxième phylum le plus abondant, représentant 22 à 25 % dans le sable, 15 à 33 % dans les CR et 15 à 21 % dans les sédiments. Les Bacteroidetes et les Gemmatimonadetes sont également des contributeurs notables. Les phylums moins abondants comprenaient les Acidobacteria, les Firmicutes, les Nitrospirae et d'autres. Le sable, le RC et les sédiments ont montré des abondances globales similaires de Protéobactéries et d'Actinobactéries, mais des abondances significativement différentes d'embranchements moins représentés (valeurs p KW < 0,05). Dans le sable, les Alphaproteobacteria étaient dominantes, suivies par les Betaproteobacteria, les Gammaproteobacteria et enfin les Deltaproteobacteria. Pour le RC, l'ordre était le même, avec les Alphaproteobacteria similaires aux Betaproteobacteria. Enfin, les Betaproteobacteria dominent, suivies des Alphaproteobacteria et des Gammaproteobacteria dans les sédiments.

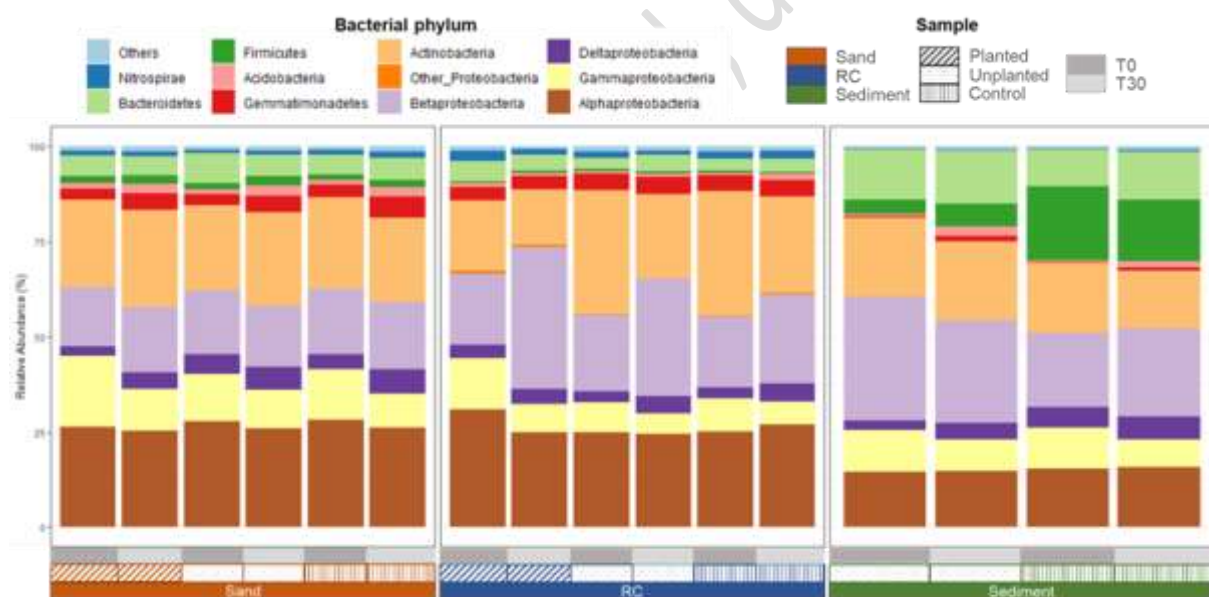


Figure 4 : Abondance relative (%) des embranchements bactériens les plus abondants (>1%) dans le sable, le RC et le sédiment, en fonction de la modalité (planté, non planté et contrôle) et du temps (initial, T0 et final, T30). Les protéobactéries sont divisées en classes, et les embranchements bactériens dont l'abondance est inférieure à 1% sont regroupés dans la catégorie "autres". Le contrôle correspond au contrôle non pollué.

La diversité alpha au sein d'un écosystème particulier, exprimée par le nombre d'espèces et quantifiée par l'indice de Shannon (échelle logarithmique), l'indice de régularité de Pielou (non montré) et le nombre de taxons, a révélé des variations dans les communautés bactériennes à travers tous les échantillons (Tableau 5). Parmi les substrats, le sédiment a montré une

diversité significativement plus faible par rapport au sable et au RC (valeurs p KW < 0,01) en termes d'indice de Shannon (7,97 en moyenne, contre 8,94 et 8,74 dans le sable et le RC, respectivement) et de nombre de taxons observés (771 contre 1409 et 1314 dans le sable et le RC). La présence de *P. australis* a eu un impact sur la diversité alpha initiale dans le sable et le RC (valeurs p KW > 0,05 à T30 pour les deux substrats). Pour le sable, la condition plantée était significativement moins diversifiée que la condition non plantée au début de l'expérience (indice de Shannon et nombre de taxons KW p-values < 0,05). Inversement, pour le RC, c'était le contraire, la condition plantée montrait une diversité significativement plus élevée que la condition non plantée au début de l'expérience (indice de Shannon et nombre de taxons significativement plus bas, valeurs KW p < 0,05). Par conséquent, la présence de *P. australis* a eu des effets différents selon le type de substrat. En ce qui concerne l'exposition aux OMP, aucune différence significative n'a été observée pour tous les substrats (valeurs KW p > 0,05) en comparant les conditions non plantées et les conditions de contrôle. Comme il n'y avait que deux répétitions pour la condition de contrôle (trois pour les conditions plantées et non plantées), la robustesse statistique n'était pas suffisante pour révéler des différences significatives. Dans l'ensemble, la diversité a augmenté de manière significative avec le temps pour le sable (valeurs KW p < 0,05), a diminué de manière significative pour le RC planté (valeurs KW p < 0,05) et est restée inchangée pour les sédiments (valeurs KW p > 0,05).

Tableau 5 : Moyenne (écart-type, n=3) des paramètres de diversité alpha calculés à l'aide de l'indice de Shannon (échelle logarithmique) et du nombre de taxons au temps initial (T0) et final (T30) de la cinétique de biodégradation. S : Sable ; RC : Rainclean ; Sdt : Sédiment. Le contrôle correspond au contrôle non pollué. Pour chaque paramètre, les valeurs suivies de lettres différentes diffèrent significativement avec p < 0,05 avec le test de comparaison de Kruskal-Wallis puis de Conover. Pour un même échantillon entre T0 et T30, une différence significative est exprimée par l'ajout d'un astérisque à T30 (même test statistique).

Sample	Shannon		Taxa number	
	T0	T30	T0	T30
Planted-S	8.46 (0.14) <i>bcd</i>	9.00 (0.12) <i>ad</i> *	1219 (57) <i>bc</i>	1294 (182) <i>abc</i>
Unplanted-S	8.91 (0.11) <i>ae</i>	9.18 (0.06) <i>d</i> *	1484 (52) <i>ad</i>	1580 (51) <i>a</i> *
Control-S	8.72 (0.11) <i>ace</i>	9.35 (0.04) <i>d</i> *	1318 (125) <i>abd</i>	1555 (93) <i>ab</i>
Planted-RC	9.33 (0.02) <i>a</i>	8.61 (0.19) <i>abc</i> *	1619 (59) <i>a</i>	1248 (169) <i>abc</i> *
Unplanted-RC	8.51 (0.11) <i>bcd</i>	8.46 (0.10) <i>bc</i>	1229 (79) <i>bd</i>	1176 (9) <i>abc</i>
Control-RC	8.61 (0.17) <i>cde</i>	8.90 (0.06) <i>acd</i>	1285 (123) <i>bd</i>	1324 (6) <i>abc</i>
Unplanted-Sdt	7.71 (0.04) <i>b</i>	8.09 (0.55) <i>b</i>	624 (25) <i>c</i>	921 (394) <i>bc</i>
Control-Sdt	7.96 (0.50) <i>bd</i>	8.12 (0.04) <i>b</i>	732 (132) <i>bc</i>	805 (15) <i>c</i>

Pour évaluer la diversité bêta à comparer entre les écosystèmes, mesurée comme la quantité de changement d'espèces, une analyse des coordonnées principales (PCoA) a été réalisée en utilisant l'indice de Bray-Curtis (basé sur l'abondance des taxons) (Figure 5). Les trois axes expliquent 71,89 % des différences. L'analyse de la diversité bêta a révélé des différences significatives dans la structure de la communauté bactérienne entre les trois substrats à T0 et T30 (PERMANOVA p-value < 0,001), et ils étaient bien séparés dans les parcelles PCoA. Les distances basées sur l'indice de Bray-Curtis étaient de 0,66 (34 % de similitudes) entre le sable et le RC, de 0,86 (14 % de similitudes) entre le RC et le sédiment et de 0,74 (26 % de similitudes) entre le sable et le sédiment. Ceci suggère que les communautés bactériennes du sable et du

RC sont significativement plus similaires entre elles qu'avec les sédiments et que le principal facteur affectant la diversité bêta est la nature du substrat. La présence de *P. australis* a eu un impact sur la diversité bêta dans le sable et le RC. Les deux substrats présentaient des communautés significativement différentes entre les conditions plantées et non plantées (PERMANOVA p-values < 0,02 pour le sable et < 0,004 pour le RC). En ce qui concerne l'exposition aux OMP, aucune différence significative n'a été trouvée entre les conditions non plantées et les conditions de contrôle pour le sable et le RC (valeurs p > 0,05), mais une différence significative a été observée pour les sédiments (valeur p PERMANOVA < 0,008). En résumé, le sable et le RC diffèrent principalement dans leur condition plantée, montrant des communautés bactériennes plus distinctes par rapport aux conditions non plantées et de contrôle.

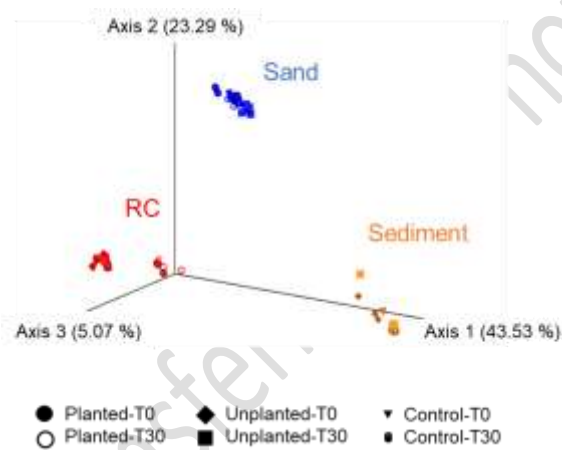


Figure 6 : Analyse des coordonnées principales (PCoA) basée sur la distance de Bray-Curtis (diversité bêta) entre le sable, le Rainclean (RC) et les sédiments de différentes modalités et de différents temps. T0 : temps initial ; T30 : temps final de l'expérience de biodégradation. Le contrôle correspond au contrôle non pollué.

Une carte thermique de regroupement hiérarchique à score Z représentant l'abondance relative des genres les plus abondants a été réalisée au moment final (T30) pour toutes les conditions et tous les substrats (Figure 7). Seuls les genres dont l'abondance était supérieure à 1% ont été sélectionnés, leur somme représentant entre 62 et 74% de l'abondance totale. Parmi ces genres, 36% des taxons ont pu être identifiés jusqu'au genre. Dans le sable, les 10 genres les plus abondants étaient *Skermanella*, les genres non identifiés 5 (G5, de la famille des Sphingomonadaceae), G8 (Comamonadaceae), G9 (Oxalobacteraceae), G11 (famille non identifiée, Betaproteobacteria), *Pseudomonas*, G19 (Sinobacteraceae), G20 (Xanthomonadaceae), *Nocardioides* et G27 (Gaiellaceae), représentant 31 % de l'abondance totale. Dans le RC, il s'agit de *Rhodoplanes*, G3 (Alphaproteobacteria), G5 (Sphingomonadaceae), G8 (Comamonadaceae), G11 (Betaproteobacteria), *Methylothera*, G13 (Methylophilaceae), G15 (Betaproteobacteria), *Nocardioides* et G27 (Gaiellaceae), qui représentent 39 % de l'abondance totale. Enfin, dans les sédiments, les 10 genres les plus abondants étaient *Skermanella*, G8 (Comamonadaceae), G9 (Oxalobacteraceae), G18 (Enterobacteriaceae), G23 (Intrasporangiaceae), *Nocardioides*, G28 (Actinobacteria),

Chryseobacterium, G30 (Weeksellaceae) et *Fusibacter*, représentant 37 % de l'abondance totale. Le regroupement hiérarchique a révélé à nouveau que les trois substrats avaient des communautés bactériennes différentes et que les communautés du sable planté et de le RC étaient plus différentes que celles des conditions non plantées (non plantées et contrôle) (Figure 7).

Ensuite, pour évaluer les taxons bactériens différentiellement abondants pour chaque type d'exposition au moment final, des analyses discriminantes linéaires (LDA) ont été menées pour comparer les conditions plantées/non plantées et polluées/non polluées. Les résultats (Figure 8) mettent en évidence les taxons dont l'abondance est significativement plus élevée dans une condition par rapport à l'autre (valeurs p KW < 0,05) pour le sable et le RC. En comparant les conditions plantées et non plantées, 35 et 58 taxons bactériens indicateurs ont été trouvés dans le sable et 39 et 60 taxons bactériens indicateurs ont été trouvés dans le RC pour les deux conditions respectivement. Parmi les taxons ayant un score LDA supérieur à 3 (Figure 8), 7 genres ont été entièrement identifiés (*Sphingobium*, *Lysobacter*, *Methylothena*, *Nitrospira*, *Methylibium*, *Alicyclobacillus* et *Arthrobacter*) dans le sable planté et 8 genres (*Woodsholea*, *Pedomicrobium*, *Bdellovibrio*, *Methyloversatilis*, *Rhodobacter*, *Hyphomicrobium*, *Methylibium* et *Methylothena*) dans le RC planté. En comparant les conditions polluées et non polluées, aucune différence significative dans l'abondance des taxons bactériens n'a été trouvée entre les deux (valeurs p KW > 0,05, données non montrées).

Copyright transferred, do not

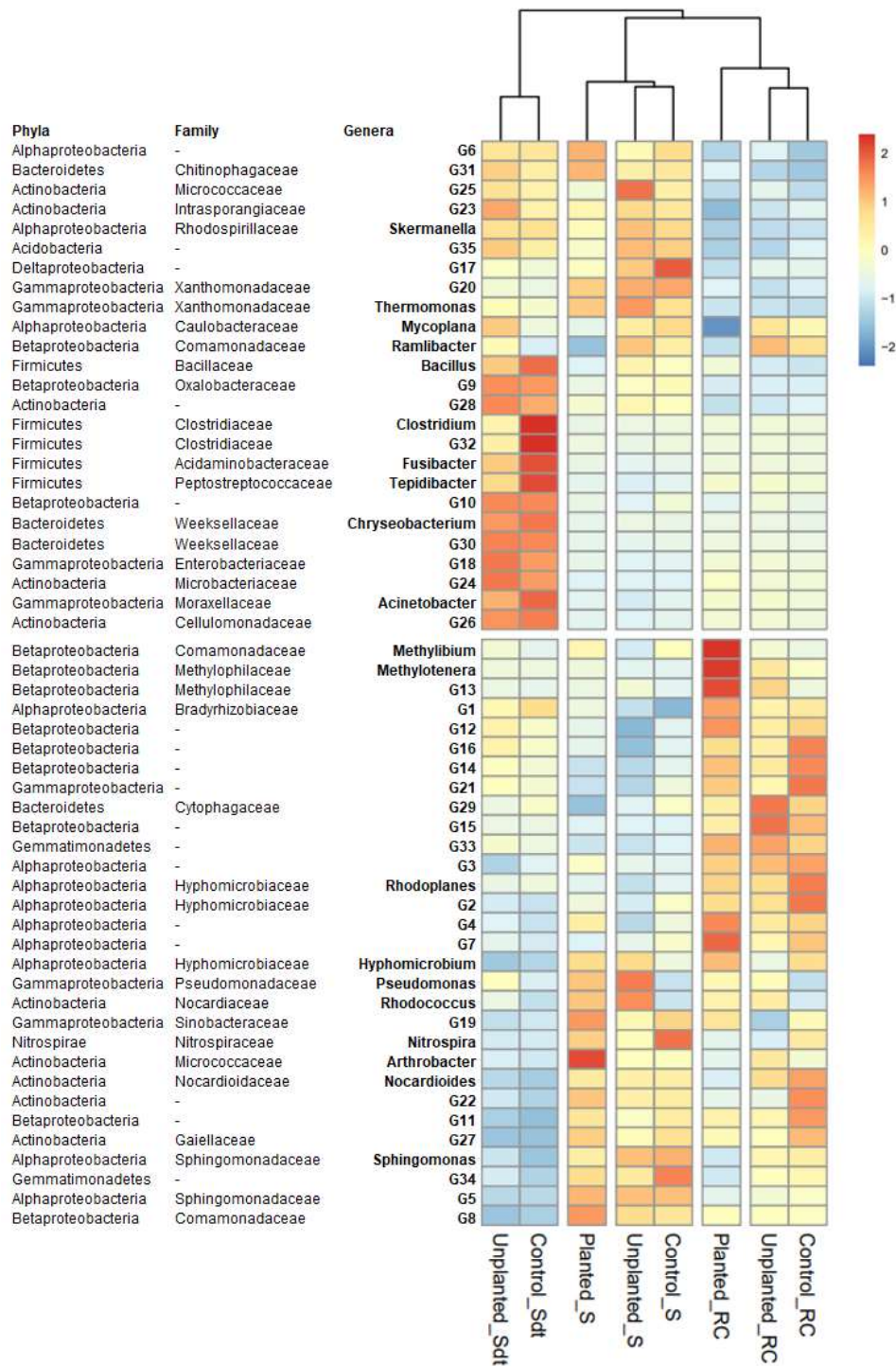


Figure 7 : Carte thermique de regroupement hiérarchique des scores Z représentant l'abondance relative des genres les plus abondants (> 1%) au moment final (T30) pour toutes les conditions et tous les substrats. Un regroupement a été effectué pour relier les conditions avec des populations similaires.

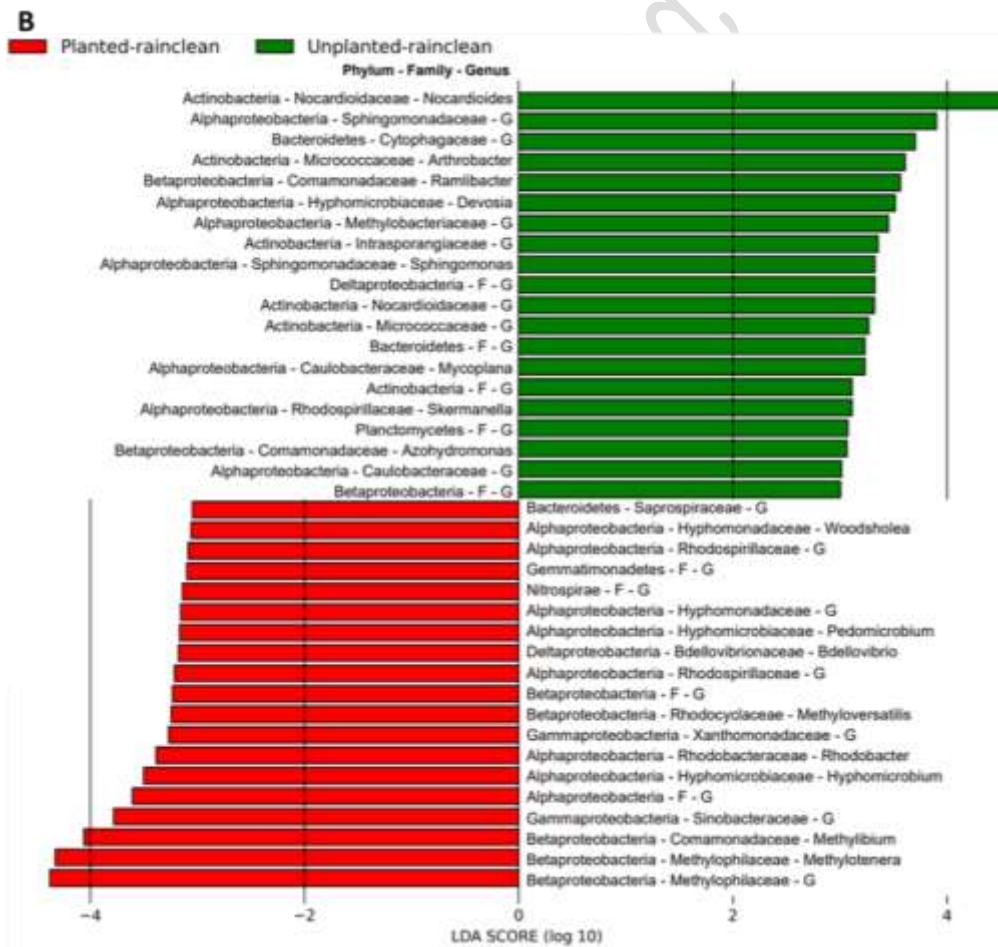
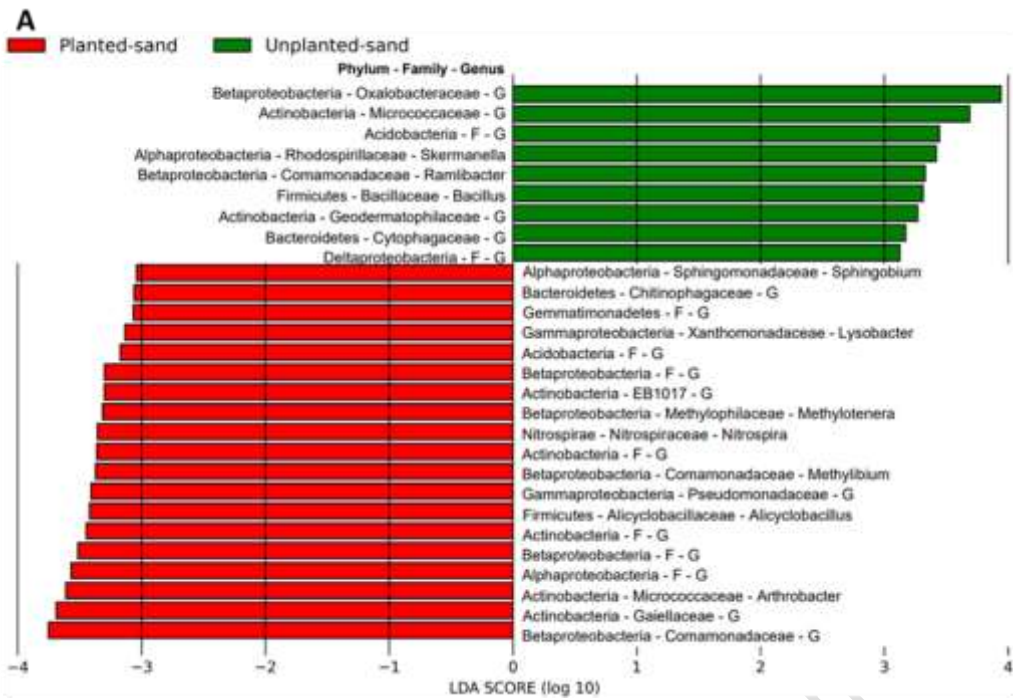


Figure 8 : Analyse LEfSe des différents substrats en fonction des conditions, représentée par les histogrammes des scores LDA des séquences du gène 16S. Seuls les taxons identifiés au moins à l'ordre et ayant un score LDA (log10) supérieur à 3 (significatif avec une valeur $p < 0.05$, tests de Kruskal-Wallis) sont représentés pour une meilleure visibilité. A : Comparaison du sable planté et non planté à T30. B : Comparaison du RC planté et non planté à T30. Lorsque l'identification n'a pas pu atteindre le niveau de la famille ou du genre, les taxons inconnus ont été remplacés par "F" et "G".

4. Discussion

4.1. La (bio)dégradation et la fraction résiduelle des OMP

Les résultats obtenus pour les substrats non stériles ont montré que 68 à 92,5 % de la dégradation totale était due à des facteurs biotiques. Ceci confirme que l'élimination des OMP est principalement due à l'activité des microorganismes, ce qui est en accord avec les études précédentes (Xu *et al.*, 2009 ; Toyama *et al.*, 2011 ; Kuzikova *et al.*, 2019). La plupart des études de biodégradation des OMP de la littérature ont utilisé des sols agricoles pour leurs expériences, mais aussi des boues de station d'épuration ou des sédiments fluviaux et, à notre connaissance, aucune étude ne s'est concentrée sur la dégradation des OMP dans les FPR d'eaux pluviales. En résumant les données disponibles dans la littérature (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), les valeurs DT50 de dégradation du BPA varient de 0,81 à 8,7 jours avec une moyenne de 4,6 jours, les valeurs DT50 du 4-NP varient de 4,6 à 25 jours avec une moyenne de 12,3 jours et les valeurs DT50 du 4-OP vont de 5 à 19,3 jours avec une moyenne de 11,2 jours. Les DT50 obtenues dans notre étude pour le BPA dans le sable et le RC (entre 2,3 et 4,1 jours) étaient proches de la gamme trouvée dans la littérature. Dans le sédiment, cependant, le DT50 était beaucoup plus élevé (21,7 jours).

Pour le 4-NP et le 4-OP, les résultats ont montré des DT50 dans la fourchette basse de la littérature pour les trois substrats (2,6 à 5,1 jours pour le 4-NP et 1,7 à 6,8 jours pour le 4-OP), sauf pour le sable non planté, où les valeurs étaient proches de la moyenne de la littérature (15,6 et 13,6 jours pour le 4-NP et le 4-OP, respectivement). Le 4-OP a montré le DT50 le plus élevé, ce qui est cohérent avec les observations d'autres auteurs lorsque le 4-NP et le 4-OP ont été évalués dans la même étude (Ying et Kookana, 2005 ; Shibata *et al.*, 2006) et le BPA a été le composé le plus dégradé (sauf dans les sédiments) dans cette étude, ce qui est cohérent avec la littérature. Les valeurs inférieures à celles rapportées dans la littérature peuvent s'expliquer tout d'abord par les niveaux inférieurs de MPO dans les substrats dopés (les teneurs initiales dopées dans les colonnes étaient de l'ordre de $\mu\text{g/g}$, soit un ordre de grandeur inférieur à celui des études de dégradation les plus similaires (Chang *et al.*, 2007 ; Toyama *et al.*, 2009 ; Kuzikova *et al.*, 2019). Une autre explication pourrait être que les communautés microbiennes des substrats ont déjà été en contact avec ces OMP par l'intermédiaire des eaux de ruissellement, contrairement à la littérature. Le contact antérieur entre les OMP et les microorganismes autochtones des FPR pourrait conduire à leur sélection au cours du temps, aboutissant à ces DT50 plus faibles. En effet, la perturbation d'un environnement (par exemple, l'apport de polluants) peut entraîner l'adaptation et la résistance des communautés perturbées au cours du temps (Griffiths et Philippot, 2013 ; Mattana *et al.*, 2019).

Cependant, les OMP n'ont pas pu être complètement dégradés dans les différents substrats. Des résidus d'OMP, récalcitrants à une dégradation ultérieure, ont été observés dans les différents substrats à des niveaux différents, suggérant leur persistance potentielle dans ces substrats à long terme. Des résidus d'OMP ont également été rapportés par d'autres auteurs (Sjöström *et al.*, 2008 ; Langdon *et al.*, 2011 ; Kuzikova *et al.*, 2019) tandis que certains n'ont pas

mentionné de phase résiduelle (Ying et Kookana, 2005 ; Shibata *et al.*, 2006 ; Hseu, 2006). Le choix du modèle utilisé est donc crucial pour une représentation précise de la biodégradation. Ces résultats soulignent le rôle important des propriétés des substrats dans la (forte) rétention des OMP, empêchant leur dégradation finale. En effet, le RC et les sédiments ont présenté des teneurs résiduelles plus élevées en fin de cinétique que le sable pour les trois OMP, ce qui peut être directement lié à leurs propriétés physico-chimiques intrinsèques : les deux contiennent plus de particules fines et réactives et plus de carbone organique qui favorisent de fortes adsorptions des polluants organiques, qui sont en retour moins disponibles que dans le sable (Haigh, 1996). Boutrup *et al.* (2008) ont montré que le 4-NP et le 4-OP peuvent s'accumuler et persister dans des milieux environnementaux caractérisés par une forte teneur en matières organiques. Selon Soares *et al.* (2008) c'est la forte sorption des polluants et non l'activité microbienne qui limite la biodégradation totale. Ainsi, la dégradation initiale rapide et la phase de latence, lorsqu'elles sont présentes, pourraient être liées à l'activité des microorganismes, tandis que la dégradation finale lente à très lente est très probablement liée aux propriétés d'adsorption du substrat. Les sédiments ont montré une très faible dégradation du BPA, contrairement au 4-NP et au 4-OP. Une étude précédente (Toyama *et al.*, 2009) avait montré qu'en l'absence de *P. australis*, la dégradation du BPA dans les sédiments était faible, seulement 21% étaient dégradés en 42 jours, avec une phase résiduelle importante contrairement à une dégradation de 90% en condition plantée. Leur hypothèse était qu'une plus grande oxygénation des sédiments avec *P. australis* contribuait à une dégradation meilleure et plus rapide. Cependant, Toyama *et al.* (2011) ont également montré le même effet pour le 4-NP et le 4-OP, avec une faible dégradation en l'absence de plantes (9,2% de 4-NP dégradé). La différence de dégradation du BPA et des alkylphénols dans les sédiments ne peut être expliquée à ce niveau, d'autant plus que le coefficient d'adsorption du 4-NP et du 4-OP est plus élevé que celui du BPA. Concernant le sable, une phase de latence a toujours été observée pour le 4-NP et le 4-OP contrairement aux autres substrats (sauf le 4-OP dans les sédiments) indiquant que les microorganismes ne pouvaient pas dégrader directement les polluants présents.

En outre, les résultats ont révélé qu'en condition plantée, à l'exception du 4-OP dans le RC, aucune phase résiduelle n'a été observée pour les trois OMP contrairement à la condition non plantée. Ces données établissent clairement une amélioration de la biodégradation dans la rhizosphère de *P. australis* en augmentant la disponibilité finale des OMP. Cela signifie que *P. australis* limite la formation de la phase résiduelle en diminuant son adsorption sur le substrat. L'étude de Tong *et al.* (2021) montrant un BPA résiduel plus élevé en conditions non plantées qu'en conditions plantées semble confirmer nos résultats. La présence de *P. australis* a également eu un fort impact sur les taux de dégradation du 4-OP et du 4-NP dans le sable puisque les temps de demi-vie ont diminué de 15,63 et 13,63 jours en condition non plantée à 4,35 et 6,81 en condition plantée pour le 4-NP et le 4-OP respectivement. Toyama *et al.* (2011) ont montré que la présence de *P. australis* favorisait la dégradation des alkylphénols, notamment grâce à la production d'enzymes et de nutriments par les racines du roseau ou à la bonne oxygénation de la rhizosphère, deux paramètres qui peuvent favoriser l'activité microbienne. La dégradation du BPA a été moins favorisée par la présence de *P. australis* probablement en raison de sa biodégradabilité beaucoup plus élevée, observation confirmée par De la Paz *et al.* (2019). Au contraire, la présence de *P. australis* dans le RC n'a pas amélioré de manière significative la biodégradation.

Enfin, même si ces trois substrats avaient des propriétés physicochimiques différentes, les vitesses de dégradation étaient relativement rapides avec des DT50 compris entre 3 et 21 jours et systématiquement plus faibles en présence de *P. australis* pour le sable. Le paragraphe suivant fera donc le lien entre le potentiel de dégradation et les communautés microbiennes présentes.

4.2. Capacité des communautés microbiennes à biodégrader les OMP

4.2.1. Existence de communautés microbiennes distinctes dans les substrats

La diversité fonctionnelle (Biolog Ecoplates), l'activité enzymatique totale et la diversité génétique bactérienne ont révélé des communautés microbiennes distinctes entre les trois substrats (Tableau 4, Figure 6, Figure 7). Les sédiments ont montré une activité enzymatique et des valeurs AWCD plus élevées, tandis que le sable et le RC ont présenté une diversité alpha plus élevée. Le sable et le RC ont montré des valeurs plus proches pour plusieurs mesures par rapport aux sédiments, ce qui indique des communautés microbiennes proches, comme le montrent la diversité bêta et les genres présents. La complexité des sédiments, leur richesse organique, leurs particules plus fines et leurs niveaux de contamination plus élevés contribuent probablement à cette divergence. La granulométrie plus fine des sédiments offre un environnement protecteur pour les communautés microbiennes avec une surface d'échange élevée, facilitant les interactions entre les microorganismes et les produits de décomposition (Truu *et al.*, 2009). Malgré une diversité génétique plus faible dans les sédiments, comme observé précédemment dans un FPR traitant un drainage minier acide (Nicomrat *et al.*, 2008), la diversité fonctionnelle et l'activité enzymatique étaient notablement élevées, démontrant la capacité des microorganismes à dégrader divers composés organiques. Selon Kumar *et al.* (2019) ; Mkhinini *et al.* (2020) le sable présente une activité enzymatique plus faible que les sols ou sédiments organiques en raison de sa faible teneur en carbone et de sa capacité de rétention d'eau (Gispert *et al.*, 2013). Inversement, malgré sa forte teneur en carbone, le RC a montré une activité enzymatique encore plus faible, probablement en raison de son rapport carbone/azote élevé (Girard *et al.*, 2011) et de sa nature industrielle.

Au niveau du phylum (Figure 5), les protéobactéries et les actinobactéries dominent sur tous les substrats, représentant ensemble entre 75 et 85% des phyla détectés. Généralement, dans les sols naturels, les Protéobactéries suivies des Acidobactéries et des Actinobactéries sont dominantes (Janssen, 2006). Dans les FPR d'eaux pluviales, Geronimo *et al.* (2022) ont montré le même ordre de phyla dans le sable. Cependant, dans cette étude, les Acidobactéries présentaient une faible abondance (0,5 à 2,6 %) dans tous les substrats. Cette disparité pourrait être attribuée à la disponibilité accrue de carbone due à l'ajout de polluants dans le VPR, limitant potentiellement la croissance des Acidobactéries, qui sont adaptées aux environnements à faible disponibilité (Naether *et al.*, 2012). Les principales différences entre les substrats sont les Firmicutes et les Bacteroidetes. Les sédiments présentaient des abondances de Firmicutes et de Bacteroidetes 5 à 10 fois plus élevées que le sable et le RC. Des abondances élevées de Bacteroidetes ont été documentées dans des sédiments provenant à la fois de systèmes de gestion des eaux pluviales (Badin *et al.*, 2012) et de FPR pour diverses eaux usées (Desta *et al.*, 2014 ; Sánchez, 2017). Les Bacteroidetes sont connus pour leur capacité à dégrader des composés organiques complexes tels que les composés aromatiques (Desta *et al.*, 2014), qui sont plus concentrés dans les sédiments (données non montrées) que dans le sable.

Les Firmicutes, que l'on trouve principalement dans les sédiments de FPR pour le traitement des eaux usées (Desta *et al.*, 2014), se développent dans des environnements riches en carbone et jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique (Zhalnina *et al.*, 2015). Bien qu'il existe des similitudes dans les communautés microbiennes au niveau du phylum entre les études, des variations dans les ordres et les abondances se produisent en raison de facteurs tels que le type de système de gestion des eaux pluviales, l'eau reçue, la composition du substrat et les conditions climatiques (Truu *et al.*, 2009), ce qui rend les généralisations difficiles. Cette étude a montré que malgré les différences dans les propriétés physicochimiques et microbiologiques des substrats, ils ont tous montré des capacités

globalement similaires à dégrader les OMP. Les différentes communautés microbiennes ont conduit à des temps de dégradation comparables d'un substrat à l'autre, ce qui permet de mieux comprendre les processus en place dans les FPR des eaux pluviales. Il s'agit notamment de la première étude portant sur la dégradation des OMP sur différents substrats au sein d'un même FPR. Dans le sable non planté, la dégradation était plus lente que dans le RC non planté, avec une phase de retard observée pour le 4-NP et le 4-OP, ce qui suggère une moindre activation de la biodégradation sans *P. australis*. Ce substrat inerte et inorganique, qui n'est pas favorable au développement microbien, présente néanmoins des capacités de dégradation prometteuses lorsqu'il est planté. Des résultats similaires obtenus par Afzal *et al.* (2011) ont démontré des taux de dégradation plus faibles dans les sols sablonneux, tandis que de la Paz *et al.* (2019) ont montré que la plantation de *P. australis* dans le sable améliorait l'atténuation de divers OMP par rapport au sable non planté. En revanche, le RC industriel et complexe a favorisé la dégradation rapide des OMP indépendamment de l'état en raison de la colonisation microbienne au fil du temps dans le FPR. Les sédiments ont montré de fortes capacités de dégradation pour le 4-NP et le 4-OP mais pas pour le BPA, bien que les raisons de ce phénomène ne soient pas encore claires à ce stade de l'analyse.

4.2.2. Toutes les communautés contiennent des bactéries dégradant les OMP

Dans chaque substrat, des genres bactériens avec une abondance supérieure à 1% (Figure 7) ont été identifiés, dont plusieurs sont connus pour dégrader les OMP étudiés (appelés bactéries dégradant les OMP). Les genres bactériens identifiés par d'autres auteurs comme étant capables de dégrader le BPA, le 4-NP et le 4-OP sur des milieux solides et dans des conditions aérobies sont résumés dans le tableau 6.

Un grand nombre des bactéries dégradant les OMP mentionnées dans ce tableau étaient présentes dans les contrôles non pollués (substrats sans ajout artificiel d'OMP). Dans le sable témoin, les genres *Hyphomicrobium*, *Sphingomonas* et *Arthrobacter* ont été trouvés en abondance supérieure à 1% ; dans le RC témoin, il s'agissait des genres *Hyphomicrobium* et *Methylothera*, tandis que dans le sédiment témoin, les genres *Bacillus* et *Acinetobacter* ont été identifiés (Figure 7). Ces résultats confirment que tous les substrats étudiés étaient initialement colonisés par des taxons bactériens capables de dégrader les OMP, avec des abondances supérieures à 1%, probablement en raison de la sélection des communautés bactériennes par l'afflux régulier d'OMP provenant du ruissellement routier dans les substrats FPR (Griffiths et Philippot, 2013). La présence d'OMP peut favoriser une augmentation de l'abondance des populations bactériennes dégradantes, potentiellement au détriment des autres (Boonnorat *et al.*, 2014 ; Oh and Choi, 2019).

Tableau 6 : Résumé des genres microbiens rapportés dans la littérature comme capables de dégrader les OMP (appelés bactéries dégradant les OMP) dans les matrices solides en conditions aérobies. Les genres surlignés en bleu sont ceux identifiés comme jouant un rôle hautement probable dans la biodégradation. Les genres soulignés sont également identifiés dans les substrats de cette étude. (1) Soares *et al.*, 2003 ; (2) Chang *et al.*, 2007 ; (3) Watanabe *et al.*, 2012 ; (4) Wang *et al.*, 2015 ; (5) Ma *et al.*, 2016 ; (6) Shi *et al.*, 2022 ; (7) Corvini *et al.*, 2006 ; (8) Zhang *et al.*, 2016 ; (9) Toyama *et al.*, 2011 ; (10) Wang *et al.*, 2014 ; (11) Cheng *et al.*, 2017 ; (12) Montenegro *et al.*, 2021 ; (13) Liu *et al.*, 2008 ; (14) Im et Löffler, 2016 ; (15) Matsumura *et al.*, 2009 ; (16) Oh et Choi, 2019 ; (17) Tian *et al.*, 2022 ; (18) Sarma *et al.*, 2019 ; (19) Tong *et al.*, 2021 .

OMP	Identified genera (solid and aerobic matrices)
-----	--

4-NP (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12)	<u><i>Arthrobacter</i></u> , <u><i>Bacillus</i></u> , <u><i>Pseudomonas</i></u> , <u><i>Sphingobium</i></u> , <u><i>Sphingomonas</i></u> , <u><i>Stenotrophomonas</i></u> , <u><i>Acinetobacter</i></u> , <u><i>Corynebacterium</i></u> , <u><i>Cytophaga</i></u> , <u><i>Ochrobactrum</i></u> , <u><i>Rhizobium</i></u> , <u><i>Methylobacillus</i></u> , <u><i>Xanthomonas</i></u> , <u><i>Acidovorax</i></u> , <u><i>Lysobacter</i></u> , <u><i>Streptomyces</i></u> , <u><i>Hyphomicrobium</i></u> , <u><i>Brevundimonas</i></u> , <u><i>Flavobacterium</i></u> , <u><i>Rhodobacter</i></u> , <u><i>Methylotenera</i></u> , <u><i>Methylophilus</i></u>
4-OP (9,12,13)	<u><i>Stenotrophomonas</i></u> , <u><i>Sphingobium</i></u> , <u><i>Bacillus</i></u> , <u><i>Methylotenera</i></u> , <u><i>Methylophilus</i></u> , <u><i>Hyphomicrobium</i></u>
BPA (8,14,15,16,17,18,19)	<u><i>Sphingomonas</i></u> , <u><i>Novosphingobium</i></u> , <u><i>Alcaligenes</i></u> , <u><i>Bordetella</i></u> , <u><i>Nitrosomonas</i></u> , <u><i>Pandora</i></u> , <u><i>Variovorax</i></u> , <u><i>Serratia</i></u> , <u><i>Enterobacter</i></u> , <u><i>Klebsiella</i></u> , <u><i>Aeromonas</i></u> , <u><i>Pseudomonas</i></u> , <u><i>Bacillus</i></u> , <u><i>Arthrobacter</i></u> , <u><i>Sphingobium</i></u> , <u><i>Sphingopyxis</i></u> , <u><i>Sinorhizobium</i></u> , <u><i>Cupriavidus</i></u> , <u><i>Rhodococcus</i></u> , <u><i>Lutibacterium</i></u>

Dans le sable (toutes conditions confondues), 5 bactéries dégradant les OMP et dont l'abondance est supérieure à 1 % (Figure 7) étaient : *Hyphomicrobium*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* et *Rhodococcus*. Dans le RC, 4 bactéries dégradant les OMP étaient présentes : *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* et *Rhodococcus*. Dans le sédiment, 3 bactéries dégradant les OMP étaient présentes : *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Bacillus*. Le genre *Methylibium*, dont l'abondance est supérieure à 1 % dans le sable et le RC, est présumé capable de dégrader le 4-NP (Kane *et al.*, 2007), tandis que le genre *Methylotenera*, présent uniquement dans le RC, est présumé capable de dégrader le 4-NP (Montenegro *et al.*, 2021). Les familles connues pour participer à la dégradation des OMP étudiés ont également été détectées à des abondances supérieures à 1 % dans tous les substrats lorsque l'identification ne pouvait être spécifiée jusqu'au niveau du genre (Figure 6). Les familles bactériennes identifiées comme capables de dégrader le BPA, le 4-NP et le 4-OP sur des milieux solides et dans des conditions aérobies sont résumées dans le tableau 7. Dans le sable, des genres non identifiés appartenant aux familles Sphingomonadaceae (G5), Comamonadaceae (G8), Methylophilaceae (G13), Xanthomonadaceae (G20) et Micrococcaceae (G25) ont été trouvés à des abondances supérieures à 1 %. Dans le RC, des genres appartenant aux familles Sphingomonadaceae (G5), Comamonadaceae (G8) et Methylophilaceae (G13) ont été trouvés. Dans les sédiments, des genres appartenant aux familles Comamonadaceae (G8), Methylophilaceae (G13), Enterobacteriaceae (G18), Xanthomonadaceae (G20) et Micrococcaceae (G25) ont été trouvés. Les taxons non identifiés au sein de ces familles peuvent potentiellement contribuer à la biodégradation des OMP. En outre, le sable et les sédiments abritaient un genre non identifié de la famille des Oxalobacteraceae (G9). Des études antérieures menées par Song *et al.* (2015) et Chen *et al.* (2023) ont démontré leur implication dans la dégradation du benzo-a-pyrène, tandis que Huang *et al.* (2023) ont mis en évidence leur rôle dans la dégradation des phtalates dans les sols. Ainsi, les bactéries de cette famille pourraient également être impliquées dans la dégradation des OMP dans la présente étude.

Tableau 7 : Résumé des familles microbiennes rapportées dans la littérature comme capables de dégrader les OMPs dans des matrices solides en conditions aérobies. Les familles soulignées sont celles également identifiées dans la présente étude. (1) Cai *et al.*, 2016; (2) Zhang *et al.*, 2016; (3) Xu *et al.*, 2018; (4) Montenegro *et al.*, 2021; (5) Oh et Choi, 2019; (6) Im et Löffler, 2016; (7) Tong *et al.* 2021.

OMP	Identified family (solid and aerobic matrices)
4-NP ^(1,2,3,4)	<u>Sphingomonadaceae</u> , <u>Comamonadaceae</u> , <u>Methylophilaceae</u> , <u>Xanthomonadaceae</u> , <u>Micrococcaceae</u> , <u>Nitrosomonadaceae</u> , <u>Burkholderiaceae</u> , <u>Pseudomonadaceae</u>
4-OP ⁽⁴⁾	Methylophilaceae
BPA ^(1,2,5,6,7)	<u>Sphingomonadaceae</u> , <u>Comamonadaceae</u> , <u>Enterobacteriaceae</u>

Dans le sable (toutes conditions confondues), le genre *Pseudomonas* dégradant les OMP était le plus abondant (entre 2 et 2,3%), tandis que dans le RC, il s'agissait du genre *Methylothera* (entre 1 et 6,8%), et dans les sédiments, aucun genre spécifique ne s'est manifesté. Pour les genres non identifiés, les familles Sphingomonadaceae (G5, 5,7 à 6,4%), Methylophilaceae (G13, 1,2 à 10,2%) et Oxalobacteraceae (G9, 14,8 à 18,7%) étaient les plus abondantes dans le sable, le RC et les sédiments respectivement. Ainsi, la plupart des genres et familles identifiés capables de dégrader les OMP appartiennent aux protéobactéries, en particulier aux alpha-, bêta- et gammaprotéobactéries. Cet embranchement est connu pour sa diversité métabolique et est considéré comme copiotrophe, avec une implication significative dans la dégradation de la matière organique (Aislabie et Deslippe, 2013 ; Zhalnina *et al.*, 2015). La présence de ces divers taxons bactériens dans les trois substrats (identifiés jusqu'au niveau du genre ou de la famille), connus pour leur capacité à dégrader les OMP étudiés, a probablement facilité la dégradation rapide observée au cours de l'expérience. Malgré les différences de genres entre les substrats, l'activité de dégradation des OMP par les bactéries était suffisante pour éliminer efficacement tous les OMP étudiés. De plus, les sédiments présentaient une diversité taxonomique plus faible que le sable et le RC avec des abondances supérieures à 1% capables de dégrader les OMP comparés montrant globalement qu'une diversité élevée n'est pas une garantie de bonne capacité de biodégradation des OMP.

4.3. L'effet de l'ajout d'OMPs et de la présence de *P. australis* sur les communautés microbiennes

4.3.1. Impact minimal de l'exposition aux OMP

L'exposition aux OMP, en l'absence de *Phragmites australis*, a induit certaines modifications de l'activité microbienne dans le sable et le RC par rapport au témoin non pollué (non exposé à l'eau enrichie). Au début de l'exposition, l'activité enzymatique totale, mesurée par la fluorescéine (Tableau 4), a diminué d'environ 20 % pour les deux substrats, indiquant un déclin après 5 heures d'exposition aux OMP. Toutefois, après 7 jours, les deux substrats ont retrouvé leur niveau initial d'activité enzymatique totale, le RC dépassant même celui du témoin, ce qui suggère une adaptation aux OMP. La diversité fonctionnelle microbienne a significativement augmenté en présence d'OMP dans le sable aux temps T0 et T30, contrairement au RC (Tableau 4). Cela suggère que les OMP ont enrichi la diversité métabolique du sable en y apportant du carbone organique, initialement faible dans ce substrat inerte, à l'inverse du RC, naturellement riche en carbone organique.

De manière similaire, Tiquia (2010) a observé une diversité fonctionnelle plus élevée dans les eaux plus impactées par des polluants anthropiques, probablement en raison d'une plus grande disponibilité en carbone organique dissous.

En revanche, la présence d'OMP a eu un impact minimal sur la diversité génétique bactérienne dans le sable et le RC. Peu de différences significatives ont été observées au niveau des phylums entre les deux conditions, et aucune en diversité alpha et bêta (Tableau 5 et Figure 6). L'analyse LEfSe n'a montré aucune variation significative de l'abondance des taxons microbiens, y compris des bactéries dégradant les OMP. Ainsi, l'exposition aux OMP n'a pas significativement modifié la structure ni l'abondance des communautés bactériennes dans le sable et le RC. L'analyse en composantes principales (ACP, Figure 9) a été réalisée afin de comprendre les relations entre les résultats de dégradation, les paramètres physico-chimiques et microbiologiques. En comparant uniquement le témoin et la condition non plantée, ces deux groupes d'échantillons étaient distincts le long de l'axe 2 pour le sable comme pour le RC. Dans le sable, la condition témoin était associée à une forte activité enzymatique, à un indice de diversité de Shannon élevé et à la présence de bactéries dégradant les OMP du genre *Rhizobium*, déjà décrit pour sa capacité à dégrader le 4-NP (Tableau 6). À l'inverse, la condition non plantée était liée aux genres *Bacillus* et *Sphingomonas*. Dans le RC, la condition témoin présentait un indice de Shannon plus élevé et une plus grande abondance de bactéries dégradant les OMP (*Rhizobium* et *Nitrosomonas*), capables de dégrader le 4-NP et le BPA (Tableau 6). La condition non plantée était quant à elle associée à la présence de *Sphingomonas* et *Arthrobacter*. Bien que l'analyse LEfSe n'ait pas révélé de différences significatives, l'ACP a montré que l'exposition aux OMP influençait certains paramètres biologiques spécifiques et certains genres bactériens.

Le sédiment a montré un effet limité des OMP sur les communautés microbiennes, avec une activité enzymatique totale et une diversité fonctionnelle similaires à celles du témoin. Bien que des différences aient été observées au niveau des phylums, les diversités alpha et bêta sont restées inchangées, et l'analyse LEfSe n'a détecté aucune différence significative de taxons par rapport au témoin. De plus, l'ACP (non présentée) n'a pas permis de distinguer le sédiment témoin de la condition non plantée, suggérant que les OMP n'ont eu aucun impact discernable sur les communautés microbiennes autochtones. Cela pourrait être lié au niveau de contamination naturel du sédiment ou à la faible biodisponibilité des OMP. Les populations microbiennes du sédiment semblent adaptées à ces niveaux de contamination, limitant les variations d'activité et de composition, notamment chez les bactéries dégradant les OMP, lors de la dégradation des OMP.

Cette étude montre qu'une augmentation de la concentration en OMP n'a pas significativement modifié l'abondance des bactéries dégradant les OMP, ce qui contraste avec d'autres travaux suggérant une augmentation de ces bactéries sous exposition aux OMP (Wang *et al.*, 2015 ; Oh et Choi, 2019 ; Montenegro *et al.*, 2021 ; Tong *et al.*, 2021). Il est connu que la concentration en OMP peut influencer les communautés microbiennes ; par exemple, Mattana *et al.* (2019) et Domene *et al.* (2010) ont observé des effets du 4-NP sur les communautés microbiennes du sol au-delà de 270 mg/kg, alors que les concentrations dans la présente étude étaient beaucoup plus faibles (0,086 à 2,34 mg/kg), ce qui pourrait expliquer l'absence de modifications des communautés bactériennes lors de la dégradation des OMP. Malgré cela, les vitesses de dégradation étaient en moyenne supérieures aux valeurs de la littérature (à l'exception des alkylphénols dans le sable non planté et du BPA dans le sédiment), indiquant une sélection suffisante des communautés microbiennes et le rôle déterminant des bactéries naturellement dégradantes d'OMP présentes dans ces substrats. Ferro Orozco *et al.*

(2013) ont également montré qu'une boue activée acclimatée au BPA présentait des vitesses de dégradation plus élevées qu'une boue non exposée.

4.3.2. Impact accru de la présence de *Phragmites australis*

La durée totale de l'essai (44 jours, incluant la pré-incubation et l'incubation) peut être relativement courte pour évaluer pleinement l'impact de la végétation. De plus, l'homogénéisation complète des colonnes pour l'analyse de la teneur en OMP a pu diluer l'effet spécifique de la rhizosphère. Néanmoins, la présence de *P. australis* a exercé un impact plus marqué sur les communautés microbiennes que l'exposition aux OMP. L'analyse en composantes principales (ACP, Figure 9) a montré que, après la nature du substrat (Figure 4), la condition plantée constituait le second facteur le plus discriminant des échantillons.

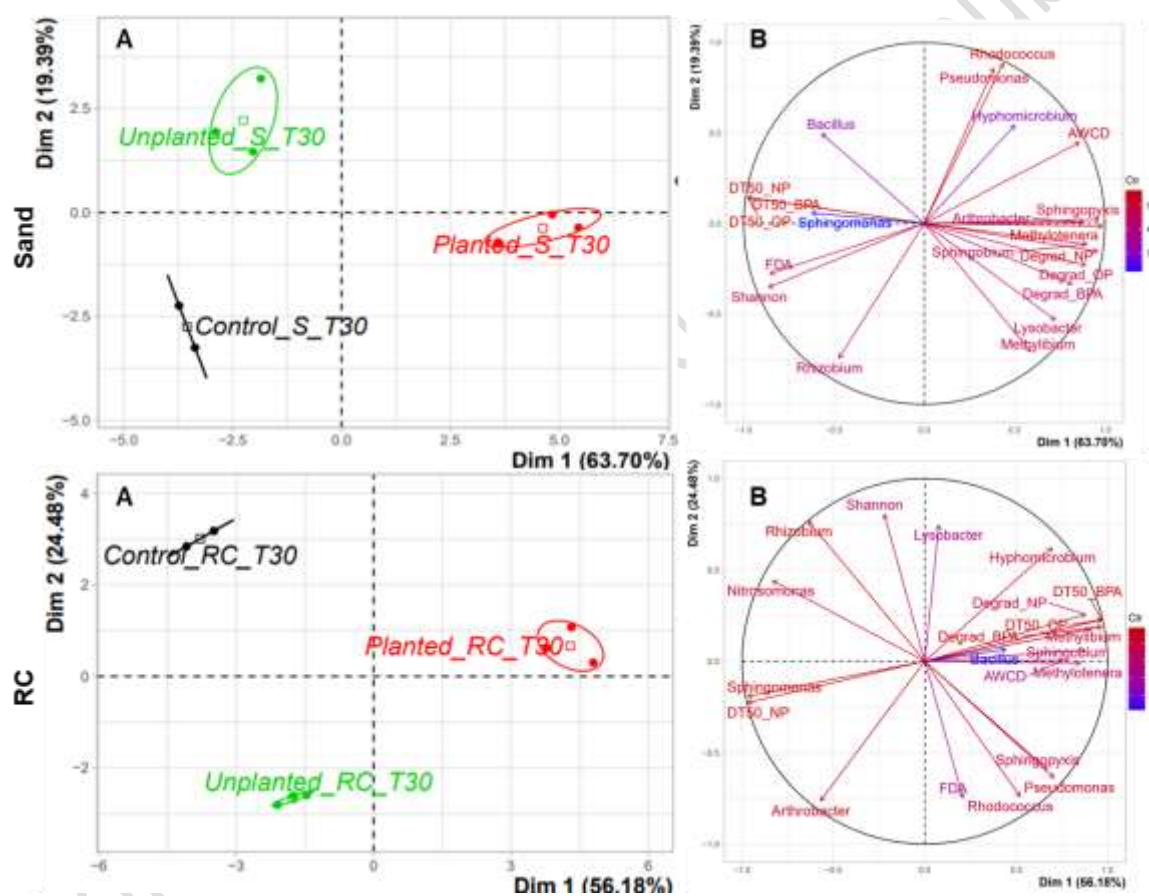


Figure 9. Analyse en composantes principales (ACP) en fin d'essai (T30) des cinétiques de dégradation pour le sable et le RC. A : projection de la variabilité des données sur le plan factoriel des deux premiers axes discriminants selon les substrats et leurs conditions. S : sable, RC : Rainclean. Les ellipses représentent les intervalles de confiance (95 %) et le contrôle correspond au témoin non pollué. B : cercle de corrélation avec les vecteurs des variables (genres bactériens dégradant les OMP, indice de Shannon, activité enzymatique totale, AWCD, DT₅₀ et pourcentages de dégradation) pour chaque facteur. Les variables sont colorées selon leur contribution ; si celle-ci était < 1, elles ont été exclues. Le sédiment n'étant pas bien séparé dans ces conditions, il n'est pas représenté.

En général, la présence de végétation stimule l'activité microbienne via les exsudats racinaires (acides aminés, glucides, flavonoïdes) (Chen *et al.*, 2016 ; Swiontek Brzezinska *et al.*, 2016 ; de la Paz *et al.*, 2019). Cependant, dans la présente étude, *P. australis* n'a pas augmenté l'activité enzymatique totale dans le sable ou le RC. En revanche, une diversité fonctionnelle accrue, avec une richesse plus élevée et une intensité de dégradation plus importante (AWCD), a été observée dans les conditions plantées, tant pour le sable que pour le RC, tout au long de l'étude, comparativement aux témoins. Plus spécifiquement, les familles des glucides, acides aminés et acides carboxyliques ont été davantage dégradées en présence de végétation (données non présentées), incluant des composés connus des exsudats de *P. australis* tels que l'acide 4-hydroxybenzoïque, le xylose et l'arginine (A *et al.*, 2017). Des observations similaires ont été rapportées par Sun *et al.* (2010) et A *et al.* (2017), associant une diversité et une intensité de dégradation Ecoplate plus élevées aux conditions plantées, attribuées à la stimulation de l'activité microbienne et à la modification de la structure communautaire par les exsudats racinaires. Ainsi, bien que *P. australis* ait accru la diversité métabolique dans le sable et le RC, cela ne s'est pas traduit par une augmentation de l'activité enzymatique totale.

Des différences significatives dans la diversité génétique des communautés bactériennes entre les conditions plantées et les autres ont été observées dans le sable et le RC, de l'amorce à la fin de l'essai (Figures 6, 7, 8), montrant l'effet durable de *P. australis*.

Dans le sable, l'analyse LEfSe a révélé des changements bactériens notables attribuables à la présence de végétation, avec une abondance significativement plus élevée de bactéries dégradant les OMP par rapport à la condition non plantée (Figure S3A, données complémentaires). Dix taxons différents, dont les genres *Lutibacterium*, *Sphingopyxis*, *Acidovorax*, *Sphingobium*, *Lysobacter*, *Methylotenera*, *Methylibium*, *Arthrobacter* ainsi que des genres inconnus des familles *Pseudomonadaceae* et *Comamonadaceae*, étaient significativement plus abondants en condition plantée (Tables 6 et 7). En revanche, la condition non plantée présentait des abondances plus élevées de cinq taxons connus comme bactéries dégradant les OMP : le genre *Bacillus* et des genres inconnus des familles *Nitrosomonadaceae*, *Burkholderiaceae*, *Micrococcaceae* et *Oxalobacteraceae*. De plus, en considérant uniquement les taxons avec un score LDA > 3 (Figure 8A), un plus grand nombre de taxons différenciaient la condition plantée, et la majorité des genres identifiés (7 sur 8) étaient des bactéries dégradant les OMP. L'ACP (Figure 9) a mis en évidence une corrélation entre le sable planté, l'indice de diversité fonctionnelle (AWCD) et l'abondance plus élevée de bactéries dégradant les OMP (*Sphingopyxis*, *Methylotenera*, *Arthrobacter*, *Sphingobium*, *Lysobacter*, *Methylibium*). Ces taxons ont probablement contribué à l'augmentation des vitesses de dégradation du 4-NP et du 4-OP, ainsi qu'à la réduction de la phase de latence. La modification de la composition des communautés bactériennes, induite par la sélection de bactéries dégradant les OMP sous l'effet de *P. australis*, a ainsi accéléré la biodégradation des OMP dans les colonnes de sable. Les exsudats racinaires pourraient expliquer ce changement dans les communautés du sable (Sun *et al.*, 2010). Compte tenu de la nature initialement inerte du sable, l'apport de sources carbonées via les exsudats a stimulé l'activité bactérienne, favorisant la dégradation des OMP. Ainsi, *P. australis* dans le sable des FPR a significativement renforcé la dégradation des OMP, ce qui est cohérent avec d'autres systèmes (Li *et al.*, 2014 ; A *et al.*, 2017 ; Wu *et al.*, 2019). Dans le sable, on peut s'attendre à une diminution des vitesses de dégradation en profondeur, en raison de la réduction de l'influence de la végétation et de la déplétion en oxygène (Zhou *et al.*, 2005), contrastant avec des cinétiques plus rapides observées dans les premiers centimètres des FPR.

Dans le RC, l'analyse LEfSe a également révélé des différences dans les abondances de genres bactériens entre les conditions plantées et non plantées. Dix taxons différents, dont les genres *Sphingobium*, *Flavobacterium*, *Acidovorax*, *Rhodobacter*, *Hyphomicrobium*, *Methylibium*, *Methylotenera* ainsi que des genres inconnus des familles *Pseudomonadaceae*, *Xanthomonadaceae* et *Methylophilaceae*, étaient significativement plus abondants en condition plantée. La condition non plantée présentait quant à elle une abondance plus élevée de six taxons connus comme bactéries dégradant les OMP : les genres *Novosphingobium*, *Nitrosomonas*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter* ainsi que des genres inconnus des familles *Micrococcaceae* et *Sphingomonadaceae*. En considérant les taxons avec un score LDA > 3 (Figure 8B), le même nombre de taxons différenciait les conditions plantées et non plantées, et la moitié des genres identifiés en condition plantée étaient des bactéries dégradant les OMP. L'ACP (Figure 9) a montré que le RC planté était corrélé à l'indice de diversité fonctionnelle (AWCD) et à la présence des bactéries dégradant les OMP *Methylibium*, *Sphingobium*, *Methylotenera* et *Hyphomicrobium*. Cependant, contrairement au sable, la corrélation entre les bactéries dégradant les OMP et la condition plantée était moins marquée dans le RC.

5. Conclusion

La présente étude est la première à démontrer l'efficacité de la biodégradation du BPA, du 4-NP et du 4-OP dans le cadre de l'utilisation de filtres plantés (FPR) pour le traitement des eaux de ruissellement. Les différences physico-chimiques entre les trois substrats ont conduit à la présence de communautés microbiennes distinctes (activité enzymatique, diversité fonctionnelle et diversité génétique bactérienne) dans chaque substrat, en particulier dans les sédiments. Malgré ces différences, leur capacité de dégradation, en termes de DT_{50} et de pourcentage final de dégradation, s'est révélée similaire et comparable aux données de la littérature. Les modèles cinétiques appliqués relevaient rarement d'un ordre 1 et présentaient le plus souvent un comportement biphasique. La première phase, caractérisée par une diminution rapide des micropolluants organiques (OMP), avec ou sans phase de latence, était principalement liée aux communautés microbiennes des substrats. La seconde phase, marquée par une dégradation très limitée, voire inexistante, était influencée par les propriétés physico-chimiques des substrats, qui conditionnent la biodisponibilité des polluants.

Les résultats cinétiques ont montré des vitesses de dégradation des OMP comparables entre les colonnes remplies de substrat (RC) plantées et non plantées, suggérant que les différences observées dans les communautés bactériennes n'ont pas eu d'impact significatif sur la capacité de dégradation des RC. Les RC non plantées hébergeaient déjà de nombreuses bactéries dégradant les OMP, différentes de celles présentes en condition plantée, et susceptibles de favoriser une biodégradation rapide même en l'absence de végétation. Ainsi, la présence de végétation dans les RC n'a pas significativement influencé les vitesses de dégradation des OMP, mais a principalement affecté les phases résiduelles, qui étaient réduites en présence de *Phragmites australis*. Dans le sable, la présence de *P. australis* a significativement augmenté la vitesse de dégradation ainsi que le niveau final de dégradation, le portant au même niveau que celui observé dans les RC. Cela souligne l'importance de *P. australis* pour améliorer la dégradation dans le sable au sein des FPR. Les RC ont été peu étudiées sous l'angle des communautés microbiennes, et la présente étude met en évidence leur potentiel de dégradation, qu'elles soient plantées ou non. Des investigations plus approfondies seront nécessaires pour mieux comprendre le rôle direct de la végétation sur la biodisponibilité des OMP.

La diversité génétique bactérienne a révélé que les substrats étaient initialement riches en bactéries capables de dégrader les OMP, indiquant une sélection des communautés bactériennes par le ruissellement contaminé. L'exposition à des teneurs plus élevées en OMP lors des essais de biodégradation n'a entraîné que des modifications minimales des communautés microbiennes, sans différences significatives dans la composition taxonomique bactérienne pour l'ensemble des substrats. Cela suggère que les communautés bactériennes autochtones possédaient déjà des capacités de dégradation suffisantes. La présence de *P. australis* a eu un impact significatif sur les communautés microbiennes du sable et des RC, mais l'effet sur la cinétique différait. Dans le sable, on a observé une augmentation de la diversité fonctionnelle et de la proportion de bactéries dégradant les OMP, conduisant à une cinétique de biodégradation plus rapide. Les communautés des RC ne présentaient pas de capacités significativement différentes pour la dégradation des OMP. Le substrat industriel atypique RC, jamais étudié auparavant, a été colonisé au fil du temps par des bactéries dégradant les OMP, permettant des vitesses de dégradation rapides quelle que soit la condition expérimentale.

En conclusion, les résultats suggèrent un faible risque d'accumulation des OMP dans les substrats filtrants utilisés pour traiter les eaux de ruissellement urbain, en raison de leur dégradation rapide. Cependant, les sédiments et les RC non plantés ont présenté des niveaux résiduels d'OMP en raison de leurs propriétés adsorbantes. Des travaux complémentaires seront nécessaires pour tracer le devenir des produits de dégradation

6. Références

- A, D., D. Fujii, S. Soda, T. Machimura, et M. Ike. « Removal of Phenol, Bisphenol A, and 4-Tert-Butylphenol from Synthetic Landfill Leachate by Vertical Flow Constructed Wetlands ». *Science of The Total Environment* 578 (2017): 566-76. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.232>.
- Afzal, M., S. Yousaf, T. G. Reichenauer, M. Kuffner, et A. Sessitsch. « Soil Type Affects Plant Colonization, Activity and Catabolic Gene Expression of Inoculated Bacterial Strains during Phytoremediation of Diesel ». *Journal of Hazardous Materials* 186, n° 2-3 (2011): 1568-75. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.040>.
- Aislabie, J., et J. R. Deslippe. « Soil Microbes and Their Contribution to Soil Services », 2013. https://oldwww.landcareresearch.co.nz/_data/assets/pdf_file/0018/77040/1_12_Aislabie.pdf.
- Anderson, M. J., T. O. Crist, J. M. Chase, M. Vellend, B. D. Inouye, A. L. Freestone, N. J. Sanders, et al. « Navigating the Multiple Meanings of β Diversity: A Roadmap for the Practicing Ecologist ». *Ecology Letters* 14, n° 1 (2011): 19-28. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01552.x>.
- Badin, A-L., T. Mustafa, C. Bertrand, A. Monier, C. Delolme, et J-P. Bedell. « Microbial Communities of Urban Stormwater Sediments: The Phylogenetic Structure of Bacterial Communities Varies with Porosity ». *ResearchGate* 81, n° 2 (2012). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01354.x>.
- Barbosa, A. E., J. N. Fernandes, et L. M. David. « Key issues for sustainable urban stormwater management ». *Water Research*, Special Issue on Stormwater in urban areas, 46, n° 20 (2012): 6787-98. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.029>.
- Bertelkamp, C., K. Schoutteten, L. Vanhaecke, J. Vanden Bussche, C. Callewaert, N. Boon, N. Singhal, J. P. van der Hoek, et A. R. D. Verliefde. « A laboratory-scale column study comparing organic micropollutant removal and microbial diversity for two soil types ». *Science of The Total Environment* 536 (2015): 632-38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.056>.
- Boesten, J. J. T. I., K. Aden, C. Beigel, M. Dust, J. S. Dyson, et G. Soulas. « Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Doc. », 2014. https://esdac.jrc.ec.europa.eu/public_path/projects_data/focus/dk/docs/FOCUSkineticsvcl1Dec2014.pdf.
- Bolyen, E., J. R. Rideout, M. R. Dillon, N. A. Bokulich, C. C. Abnet, G. A. Al-Ghalith, H. Alexander, et al. « Reproducible, Interactive, Scalable and Extensible Microbiome Data Science Using QIIME 2 ». *Nature Biotechnology* 37, n° 8 (2019): 852-57. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.
- Boonnorat, J., C. Chiemchaisri, W. Chiemchaisri, et K. Yamamoto. « Microbial Adaptation to Biodegrade Toxic Organic Micro-Pollutants in Membrane Bioreactor Using Different Sludge Sources ». *Bioresource Technology* 165 (2014): 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.024>.

Boutrup, S., M. Dam, A. B. Hansen, P. Lassen, et B. B. Mogensen. *Screening of Phenolic Substances in the Nordic Environments*. Nordic Co-operation | Nordic Council & Nordic Council of Ministers, 2008. <https://policycommons.net/artifacts/1149123/screening-of-phenolic-substances-in-the-nordic-environments/>.

Brown, S., D. Devin-Clarke, M. Doubrava, et G. O'Connor. « Fate of 4-Nonylphenol in a Biosolids Amended Soil ». *Chemosphere* 75, n° 4 (2009): 549-54. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.001>.

Cai, W., Y. Li, P. Wang, L. Niu, W. Zhang, et C. Wang. « Effect of the Pollution Level on the Functional Bacterial Groups Aiming at Degrading Bisphenol A and Nonylphenol in Natural Biofilms of an Urban River ». *Environmental Science and Pollution Research* 23, n° 15 (2016): 15727-38. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6757-3>.

Callahan, B. J., P. J. McMurdie, et S. P. Holmes. « Exact Sequence Variants Should Replace Operational Taxonomic Units in Marker-Gene Data Analysis ». *The ISME Journal* 11, n° 12 (2017): 2639-43. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>.

Callahan, B. J., P. J. McMurdie, M. J. Rosen, A. W. Han, A. J. A. Johnson, et S. P. Holmes. « DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data ». *Nature Methods* 13, n° 7 (2016): 581-83. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.

Chang, B. V., B. W. Chiang, et S. Y. Yuan. « Biodegradation of Nonylphenol in Soil ». *Chemosphere* 66, n° 10 (2007): 1857-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.029>.

Chen, B., J. Xu, H. Lu, et L. Zhu. « Remediation of Benzo[a]Pyrene Contaminated Soils by Moderate Chemical Oxidation Coupled with Microbial Degradation ». *Science of The Total Environment* 871 (2023): 161801. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161801>.

Chen, F., M. Tan, J. Ma, S. Zhang, G. Li, et J. Qu. « Efficient Remediation of PAH-Metal Co-Contaminated Soil Using Microbial-Plant Combination: A Greenhouse Study ». *Journal of Hazardous Materials* 302 (2016): 250-61. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.09.068>.

Chen, Y., Y. Wen, Z. Tang, J. Huang, Q. Zhou, et J. Vymazal. « Effects of Plant Biomass on Bacterial Community Structure in Constructed Wetlands Used for Tertiary Wastewater Treatment ». *Ecological Engineering* 84 (2015): 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.07.013>.

Cheng, G., M. Sun, J. Lu, X. Ge, H. Zhang, X. Xu, L. Lou, et Q. Lin. « Role of Biochar in Biodegradation of Nonylphenol in Sediment: Increasing Microbial Activity versus Decreasing Bioavailability ». *Scientific Reports* 7, n° 1 (2017): 4726. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04787-2>.

Corrales, J., L. A. Kristofco, W. B. Steele, B. S. Yates, C. S. Breed, E. S. Williams, et B. W. Brooks. « Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation ». *Dose-Response* 13, n° 3 (2015): 1559325815598308. <https://doi.org/10.1177/1559325815598308>.

Corvini, P. F. X., A. Schäffer, et D. Schlosser. « Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—Our evolving view ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 72, n° 2 (2006): 223-43. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0476-5>.

- Desta, A. F., F. Assefa, S. Leta, F. Stomeo, M. Wamalwa, M. Njahira, et D. Appolinaire. « Microbial Community Structure and Diversity in an Integrated System of Anaerobic-Aerobic Reactors and a Constructed Wetland for the Treatment of Tannery Wastewater in Modjo, Ethiopia ». Édité par Z. Zhou. *PLoS ONE* 9, n° 12 (2014): e115576. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115576>.
- Dinno, A. « conover.test: Conover-Iman Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums », 2017. <https://cran.r-project.org/web/packages/conover.test/index.html>.
- Domene, X., S. Chelinho, et J. P. Sousa. « Effects of Nonylphenol on a Soil Community Using Microcosms ». *Journal of Soils and Sediments* 10, n° 3 (2010): 556-67. <https://doi.org/10.1007/s11368-009-0167-9>.
- ECHA. « 4-Nonylphenol (4-NP) Brief Profile », 2023a. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.076.631>.
- . « 4-Octylphenol (4-OP) Brief Profile », 2023b. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.004.934>.
- . « Bisphenol-A (BPA) Brief Profile ». ECHA, 2023c. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.001.133>.
- ECHA database. « ECHA Website », 2023d. <https://echa.europa.eu/fr/>.
- European Union et Council of the European Union. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy (2000). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM%3A128002b>.
- Faith, D. P. « Conservation Evaluation and Phylogenetic Diversity ». *Biological Conservation* 61, n° 1 (1992): 1-10. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(92\)91201-3](https://doi.org/10.1016/0006-3207(92)91201-3).
- Ferro Orozco, A. M., C. C. Lobo, E. M. Contreras, et N. E. Zaritzky. « Biodegradation of Bisphenol-A (BPA) in Activated Sludge Batch Reactors: Analysis of the Acclimation Process ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 85 (2013): 392-99. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.09.005>.
- Flanagan, K., P. Branchu, L. Boudahmane, E. Caupos, D. Demare, S. Deshayes, P. Dubois, *et al.* « Retention and transport processes of particulate and dissolved micropollutants in stormwater biofilters treating road runoff ». *Science of The Total Environment* 656 (2019a): 1178-90. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.304>.
- Flanagan, K., P. Branchu, L. Boudahmane, E. Caupos, D. Demare, St. Deshayes, P. Dubois, *et al.* « Stochastic Method for Evaluating Removal, Fate and Associated Uncertainties of Micropollutants in a Stormwater Biofilter at an Annual Scale ». *Water* 11, n° 3 (2019b): 487. <https://doi.org/10.3390/w11030487>.
- Fletcher, T. D., W. Shuster, W. F. Hunt, R. Ashley, D. Butler, S. Arthur, S. Trowsdale, *et al.* « SUDS, LID, BMPs, WSUD and More – The Evolution and Application of Terminology Surrounding Urban Drainage ». *Urban Water Journal* 12, n° 7 (2015): 525-42. <https://doi.org/10.1080/1573062X.2014.916314>.

- Garland, J. L. « Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. » *Soil Biol Biochem* 28(2) (1996): 213-21. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00112-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00112-3).
- Garland, J. L., et A. L. Mills. « Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization. » *Appl environ microbiol* 57(8) (1991): 2351-59. <https://doi.org/10.1128/aem.57.8.2351-2359.1991>.
- Gasperi, J., J. Le Roux, S. Deshayes, S. Ayrault, L. Bordier, L. Boudahmane, H. Budzinski, et al. « Micropollutants in Urban Runoff from Traffic Areas: Target and Non-Target Screening on Four Contrasted Sites ». *Water* 14, n° 3 (2022): 394. <https://doi.org/10.3390/w14030394>.
- Geronimo, F. K., H. Guerra, M. Jeon, N. J. Reyes, et L-H. Kim. « Influence of Bacterial Community to the Water Quality Performance of Urban Stormwater Nature-Based Solutions ». *Ecological Engineering* 183 (2022): 106761. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106761>.
- Girard, M-C., C. Walter, J-C. Rémy, J. Berthelin, et J-L. Morel. *Sols et environnement - 2e édition*. Dunod, 2011.
- Gispert, M., M. Emran, G. Pardini, S. Doni, et B. Ceccanti. « The Impact of Land Management and Abandonment on Soil Enzymatic Activity, Glomalin Content and Aggregate Stability ». *Geoderma* 202-203 (2013): 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.03.012>.
- Green, V. S., D. E. Stott, et M. Diack. « Assay for Fluorescein Diacetate Hydrolytic Activity: Optimization for Soil Samples ». *Soil Biology and Biochemistry* 38, n° 4 (2006): 693-701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020>.
- Griffiths, B. S., et L. Philippot. « Insights into the Resistance and Resilience of the Soil Microbial Community ». *FEMS Microbiology Reviews* 37, n° 2 (2013): 112-29. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>.
- Gromaire, M-C., L. Veiga, M. Grimaldi, et N. Aires. « Outils de bonne gestion des eaux de ruissellement en zones urbaines | Eau dans la ville ». Agence de l'Eau Seine Normandie, 2013. http://www.eau-seine-normandie.fr/sites/public_file/docutheque/2017-03/Document_d_orientation_bonne_gestion.pdf.
- Gupta, A., A. K. Patel, D. Gupta, G. Singh, et V. K. Mishra. « Rhizospheric Remediation of Organic Pollutants from the Soil: a Green and Sustainable Technology for Soil Clean Up ». In *Abatement of Environmental Pollutants*, 263-86. Elsevier, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00013-8>.
- Haigh, S. D. « A Review of the Interaction of Surfactants with Organic Contaminants in Soil ». *Science of The Total Environment* 185, n° 1-3 (1996): 161-70. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)05049-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)05049-3).
- Hayashi, Shinya, Shigeo Saito, Ju-Hyun Kim, Osamu Nishimura, et Ryuichi Sudo. « Aerobic Biodegradation Behavior of Nonylphenol Polyethoxylates and Their Metabolites in the Presence of Organic Matter ». *Environmental Science & Technology* 39, n° 15 (2005): 5626-33. <https://doi.org/10.1021/es048857+>.

Hseu, Z.-Y. « Response of Microbial Activities in Two Contrasting Soils to 4-Nonylphenol Treated with Biosolids ». *Chemosphere* 64, n° 10 (2006): 1769-76. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.042>.

Hsieh, C. Y., E. T. Liaw, et K. M. Fan. « Removal of veterinary antibiotics, alkylphenolic compounds, and estrogens from the Wuluo constructed wetland in southern Taiwan ». *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 50, n° 2 (2015): 151-60. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.975062>.

Huang, Y.-H., Y.-J. Yang, X. Wu, C.-L. Zhu, H. Lü, H.-M. Zhao, L. Xiang, et al. « Adaptation of Bacterial Community in Maize Rhizosphere for Enhancing Dissipation of Phthalic Acid Esters in Agricultural Soil ». *Journal of Hazardous Materials* 444 (2023): 130292. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130292>.

Im, J., et F. E. Löffler. « Fate of Bisphenol A in Terrestrial and Aquatic Environments ». *Environmental Science & Technology* 50, n° 16 (2016): 8403-16. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00877>.

International Organization for Standardization. « ISO 11266:1994. Qualité du sol — Lignes directrices relatives aux essais en laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies », 1994. <https://www.iso.org/fr/standard/19244.html>.

Janssen, P. H. « Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes », 2006. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>.

Kadlec, R. H., et Scott D. Wallace. *Treatment Wetlands*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2009.

Kane, S. R., A. Y. Chakicherla, P. S. G. Chain, R. Schmidt, M. W. Shin, T. C. Legler, K. M. Scow, et al. « Whole-Genome Analysis of the Methyl *Tert* -Butyl Ether-Degrading Beta-Proteobacterium *Methylibium Petroleiphilum* PM1 ». *Journal of Bacteriology* 189, n° 5 (2007): 1931-45. <https://doi.org/10.1128/JB.01259-06>.

Kania, M., M. Gautier, A. Imig, P. Michel, et R. Gourdon. « Comparative Characterization of Surface Sludge Deposits from Fourteen French Vertical Flow Constructed Wetlands Sewage Treatment Plants Using Biological, Chemical and Thermal Indices ». *Science of The Total Environment* 647 (2019): 464-73. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.440>.

Katoh, K., et D. M. Standley. « MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability ». *Molecular Biology and Evolution* 30, n° 4 (2013): 772-80. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.

Kolde, R. « Pheatmap: pretty heatmaps », 2012. <https://CRAN.R-project.org/package=pheatmap>.

Kolvenbach, B., N. Schlaich, Z. Raoui, J. Prell, S. Zühlke, A. Schäffer, F. P. Guengerich, et P. F. X. Corvini. « Degradation Pathway of Bisphenol A: Does ipso Substitution Apply to Phenols Containing a Quaternary α -Carbon Structure in the para Position? » *Applied and Environmental Microbiology* 73, n° 15 (2007): 4776-84. <https://doi.org/10.1128/AEM.00329-07>.

- Kumar, N., D. Jaiswal, et J. Pandey. « EVALUATING ECOSYSTEM RESPONSES TO METAL POLLUTION IN THE GANGA RIVER USING FLUORESCHEIN DIACETATE HYDROLYTIC », 2019. [https://plantarchives.org/19-2/3473-3481%20\(5780\).pdf](https://plantarchives.org/19-2/3473-3481%20(5780).pdf).
- Kuzikova, I. L., T. B. Zaytseva, A. A. Kichko, S. V. Zinoveva, A. D. Russu, N. V. Mayachkina, et N. G. Medvedeva. « Effect of Nonylphenols on the Abundance and Taxonomic Structure of the Soil Microbial Community ». *Eurasian Soil Science* 52, n° 6 (2019): 671-81. <https://doi.org/10.1134/S1064229319060073>.
- Lamprea, Katherine, Adèle Bressy, Cécile Mirande-Bret, Emilie Caupos, et Marie-Christine Gromaire. « Alkylphenol and Bisphenol A Contamination of Urban Runoff: An Evaluation of the Emission Potentials of Various Construction Materials and Automotive Supplies ». *Environmental Science and Pollution Research International* 25, n° 22 (août 2018): 21887-900. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2272-z>.
- Langdon, K. A., M. St. J. Warne, R. J. Smernik, A. Shareef, et R. S. Kookana. « Degradation of 4-Nonylphenol, 4-t-Octylphenol, Bisphenol A and Triclosan Following Biosolids Addition to Soil under Laboratory Conditions ». *Chemosphere* 84, n° 11 (2011): 1556-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.053>.
- Lê, S., J. Josse, et F. Husson. « FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis ». *Journal of Statistical Software* 25 (2008): 1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.
- LeFevre, G. H., K. H. Paus, P. Natarajan, et J. Gulliver. « Review of Dissolved Pollutants in Urban Storm Water and Their Removal and Fate in Bioretention Cells ». *Journal of Environmental Engineering* 141, n° 1 (2014): 04014050. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000876](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000876).
- Leroy, M-C., M. Legras, S. Marcotte, V. Moncond'huy, N. Machour, F. Le Derf, et F. Portet-Koltalo. « Assessment of PAH Dissipation Processes in Large-Scale Outdoor Mesocosms Simulating Vegetated Road-Side Swales ». *The Science of the Total Environment* 520 (2015): 146-53. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.020>.
- Li, J., L. Jiang, X. Liu, et J. Lv. « Adsorption and Aerobic Biodegradation of Four Selected Endocrine Disrupting Chemicals in Soil-Water System ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 76 (2013): 3-7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.004>.
- Li, Y-W., Q-Y. Cai, C-H. Mo, Q-Y. Zeng, H. Lü, Q-S. Li, et G-S. Xu. « Plant Uptake and Enhanced Dissipation of Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) in Spiked Soils by Different Plant Species ». *International Journal of Phytoremediation* 16, n° 6 (2014): 609-20. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.803021>.
- Liu, Y., F. Wang, S. Xia, et J. Zhao. « Study of 4-t-Octylphenol Degradation and Microbial Community in Granular Sludge ». *Journal of Environmental Sciences* 20, n° 2 (2008): 167-71. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)60026-1](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)60026-1).
- Ma, W., Y. Yan, M. Ma, Y. Zhang, C. Nie, et X. Lun. « Effect of biochar on migration and biodegradation of 4-n-nonylphenol (NP) during river-based groundwater recharge with reclaimed water ». *Desalination and Water Treatment* 57, n° 60 (2016): 29316-27. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1167631>.

- Malaviya, P., et A. Singh. « Constructed Wetlands for Management of Urban Stormwater Runoff ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42, n° 20 (2012): 2153-2214. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.574107>.
- Markiewicz, A., K. Björklund, E. Eriksson, Y. Kalmykova, A-M. Strömvall, et A. Siopi. « Emissions of Organic Pollutants from Traffic and Roads: Priority Pollutants Selection and Substance Flow Analysis ». *Science of The Total Environment* 580 (2017): 1162-74. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.074>.
- Matsumura, Y., C. Hosokawa, M. Sasaki-Mori, A. Akahira, K. Fukunaga, T. Ikeuchi, K-I. Oshiman, et T. Tsuchido. « Isolation and Characterization of Novel Bisphenol - A-Degrading Bacteria from Soils ». *Biocontrol Science* 14, n° 4 (2009): 161-69. <https://doi.org/10.4265/bio.14.161>.
- Mattana, S., S. Chelinho, J. P. Sousa, J. M. Alcañiz, et X. Domene. « Nonylphenol Causes Shifts in Microbial Communities and Nitrogen Mineralization in Soil Microcosms ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181 (2019): 395-403. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.032>.
- McDonald, D., M. N. Price, J. Goodrich, E. P. Nawrocki, T. Z. DeSantis, A. Probst, G. L. Andersen, R. Knight, et P. Hugenholtz. « An Improved Greengenes Taxonomy with Explicit Ranks for Ecological and Evolutionary Analyses of Bacteria and Archaea ». *The ISME Journal* 6, n° 3 (2012): 610-18. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.139>.
- Miller, J., H. Kim, T. Kjeldsen, J. Packman, S. Grebby, et R. Dearden. « Assessing the impact of urbanization on storm runoff in a peri-urban catchment using historical change in impervious cover ». *Journal of Hydrology* 515 (2014): 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2014.04.011>.
- Mkhinini, M., I. Boughattas, V. Alphonse, A. Livet, S. Giusti-Miller, M. Banni, et N. Bousserhine. « Heavy Metal Accumulation and Changes in Soil Enzymes Activities and Bacterial Functional Diversity under Long-Term Treated Wastewater Irrigation in East Central Region of Tunisia (Monastir Governorate) ». *Agricultural Water Management* 235 (2020): 106150. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106150>.
- Molle, P., J. Fournel, D. Meyer, S. Troesch, F. Clement, E. Brelot, L. Bacot, et al. *Système extensif pour la gestion et le traitement des eaux urbaines de temps de pluie*, 2013. <https://hal.inrae.fr/hal-02599141>.
- Montenegro, I. P. F. M., A. P. Mucha, M. P. Tomasino, C. R. Gomes, et C. M. R. Almeida. « Alkylphenols and Chlorophenols Remediation in Vertical Flow Constructed Wetlands: Removal Efficiency and Microbial Community Response ». *Water* 13, n° 5 (2021): 715. <https://doi.org/10.3390/w13050715>.
- Naether, A., B. U. Foessel, V. Naegele, P. K. Wüst, J. Weinert, M. Bonkowski, F. Alt, et al. « Environmental Factors Affect Acidobacterial Communities below the Subgroup Level in Grassland and Forest Soils ». *Applied and Environmental Microbiology* 78, n° 20 (2012): 7398-7406. <https://doi.org/10.1128/AEM.01325-12>.
- Nicomrat, Duongruitai, W. A. Dick, M. Dopson, et O. H. Tuovinen. « Bacterial Phylogenetic Diversity in a Constructed Wetland System Treating Acid Coal Mine Drainage ». *Soil Biology and Biochemistry* 40, n° 2 (2008): 312-21. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.009>.

Oberai, M., et V. Khanna. « Rhizoremediation – Plant Microbe Interactions in the Removal of Pollutants ». *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7, n° 1 (2018): 2280-87. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.276>.

Oh, S., et D. Choi. « Microbial Community Enhances Biodegradation of Bisphenol A Through Selection of Sphingomonadaceae ». *Microbial Ecology* 77, n° 3 (2019): 631-39. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1263-4>.

Patel, A. B., S. Shaikh, K. R. Jain, C. Desai, et D. Madamwar. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches ». *Frontiers in Microbiology* 11 (2020): 562813. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>.

Paz, A. de la, Nèstor Salinas, et Víctor Matamoros. « Unravelling the Role of Vegetation in the Attenuation of Contaminants of Emerging Concern from Wetland Systems: Preliminary Results from Column Studies ». *Water Research* 166 (2019): 115031. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115031>.

Peters, N. E. « Effects of Urbanization on Stream Water Quality in the City of Atlanta, Georgia, USA ». *Hydrological Processes* 23, n° 20 (2009): 2860-78. <https://doi.org/10.1002/hyp.7373>.

Price, M. N., P. S. Dehal, et A. P. Arkin. « FastTree: Computing Large Minimum Evolution Trees with Profiles instead of a Distance Matrix ». *Molecular Biology and Evolution* 26, n° 7 (2009): 1641-50. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp077>.

Ranchoux, C. « Mise en place d'un test d'évaluation de la biodégradation des micropolluants organiques dans le filtre planté du Bois de Boulogne à Paris ». Master 2 Chimie Parcours Chimie Analytique /Sorbonne Université. Champs-sur-Marne, France: LEESU, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, 2021.

Ranke, J. « Graphical User Interface for Fitting Kinetic Models to Chemical Degradation Data », 2021. <https://pkgdown.jrwb.de/gmkin/>.

Revitt, D. M., L. Lundy, F. Coulon, et M. Fairley. « The Sources, Impact and Management of Car Park Runoff Pollution: A Review ». *Journal of Environmental Management* 146 (2014): 552-67. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.05.041>.

Sánchez, O. « Constructed Wetlands Revisited: Microbial Diversity in the –Omics Era ». *Microbial Ecology* 73, n° 3 (2017): 722-33. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0881-y>.

Sarma, H., A. Nava, A. Manriquez, D. Dominguez, et W. Y. Lee. « Biodegradation of bisphenol A by bacterial consortia isolated directly from river sediments ». *Environmental Technology & Innovation* 14 (2019): 100314. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.01.008>.

Schmitt, N., A. Wanko, J. Laurent, P. Bois, P. Molle, et R. Mosé. « Constructed Wetlands Treating Stormwater from Separate Sewer Networks in a Residential Strasbourg Urban Catchment Area: Micropollutant Removal and Fate ». *Journal of Environmental Chemical Engineering* 3, n° 4, Part A (2015): 2816-24. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.10.008>.

Segata, N., J. Izard, L. Waldron, D. Gevers, L. Miropolsky, W. S. Garrett, et C. Huttenhower. « Metagenomic Biomarker Discovery and Explanation ». *Genome Biology* 12, n° 6 (2011): R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>.

- Seidl, M., J. Le Roux, R. Mazerolles, et Nouredine Bousserhine. « Assessment of Leaching Risk of Trace Metals, PAHs and PCBs from a Brownfield Located in a Flooding Zone ». *Environmental Science and Pollution Research*, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15491-0>.
- Shi, G., J. Hu, Y. Cheng, W. Shi, et Y. Chen. « Pseudomonas Aeruginosa Improved the Phytoremediation Efficiency of Ryegrass on Nonylphenol-Cadmium Co-Contaminated Soil ». *Environmental Science and Pollution Research* 30, n° 10 (2022): 28247-58. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24224-w>.
- Shibata, A., Y. Inoue, et A. Katayama. « Aerobic and Anaerobic Biodegradation of Phenol Derivatives in Various Paddy Soils ». *Science of the Total Environment* 367, n° 2-3 (2006): 979-87. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.031>.
- Sjöström, Å. E., C. D. Collins, S. R. Smith, et G. Shaw. « Degradation and Plant Uptake of Nonylphenol (NP) and Nonylphenol-12-Ethoxylate (NP12EO) in Four Contrasting Agricultural Soils ». *Environmental Pollution* 156, n° 3 (2008): 1284-89. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.005>.
- Soares, A., B. Guieysse, O. Delgado, et B. Mattiasson. « Aerobic Biodegradation of Nonylphenol by Cold-Adapted Bacteria », 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1023466916678>.
- Soares, A., B. Guieysse, B. Jefferson, E. Cartmell, et J. N. Lester. « Nonylphenol in the Environment: A Critical Review on Occurrence, Fate, Toxicity and Treatment in Wastewaters ». *Environment International* 34, n° 7 (2008): 1033-49. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.004>.
- Song, M., C. Luo, L. Jiang, D. Zhang, Y. Wang, et G. Zhang. « Identification of Benzo[a]Pyrene-Metabolizing Bacteria in Forest Soils by Using DNA-Based Stable-Isotope Probing ». Édité par H. Nojiri. *Applied and Environmental Microbiology* 81, n° 21 (2015): 7368-76. <https://doi.org/10.1128/AEM.01983-15>.
- Sun, Tian-Ran, L. Cang, Q-Y. Wang, D-M. Zhou, J-M. Cheng, et H. Xu. « Roles of Abiotic Losses, Microbes, Plant Roots, and Root Exudates on Phytoremediation of PAHs in a Barren Soil ». *Journal of Hazardous Materials* 176, n° 1 (2010): 919-25. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.124>.
- Swiontek Brzezinska, M., A. Kalwasińska, E. Lalke-Porczyk, A. Burkowska-But, et U. Jankiewicz. « Rhizosphere Effect of *Salix Viminalis* L. on Soil Enzyme Activity in a Wastewater Treatment Wetland ». *CLEAN – Soil, Air, Water* 44, n° 5 (2016): 563-71. <https://doi.org/10.1002/clen.201400055>.
- Takeo, Masahiro, Junichi Akizuki, Aika Kawasaki, et Seiji Negoro. « Degradation Potential of the Nonylphenol Monooxygenase of Sphingomonas Sp. NP5 for Bisphenols and Their Structural Analogs ». *Microorganisms* 8, n° 2 (2020): 284. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020284>.
- Tchounwou, P. B., C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, et D. J. Sutton. « Heavy Metal Toxicity and the Environment ». In *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 3:133-64. Experientia Supplementum. Basel: Springer Basel, 2012. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
- Tian, K., Y. Yu, Q. Qiu, X. Sun, F. Meng, Y. Bi, J. Gu, Y. Wang, F. Zhang, et H. Huo. « Mechanisms of BPA Degradation and Toxicity Resistance in *Rhodococcus Equi* ». *Microorganisms* 11, n° 1 (2022): 67. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010067>.

- Tiquia, S.M. « Metabolic Diversity of the Heterotrophic Microorganisms and Potential Link to Pollution of the Rouge River ». *Environmental Pollution* 158, n° 5 (2010): 1435-43. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.035>.
- Tondera, K., J. P. Ruppelt, J. Pinnekamp, T. Kistemann, et C. Schreiber. « Reduction of Micropollutants and Bacteria in a Constructed Wetland for Combined Sewer Overflow Treatment after 7 and 10 years of Operation ». *Science of The Total Environment* 651 (2019): 917-27. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.174>.
- Tong, T., R. Li, M. Chai, Q. Wang, Y. Yang, et S. Xie. « Metagenomic Analysis of Microbial Communities Continuously Exposed to Bisphenol A in Mangrove Rhizosphere and Non-Rhizosphere Soils ». *Science of The Total Environment* 792 (2021): 148486. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148486>.
- Toyama, T., M. Murashita, K. Kobayashi, S. Kikuchi, K. Sei, Y. Tanaka, M. Ike, et K. Mori. « Acceleration of Nonylphenol and 4- Tert -Octylphenol Degradation in Sediment by *Phragmites Australis* and Associated Rhizosphere Bacteria ». *Environmental Science & Technology* 45, n° 15 (2011): 6524-30. <https://doi.org/10.1021/es201061a>.
- Toyama, T., Y. Sato, D. Inoue, K. Sei, Y-C. Chang, S. Kikuchi, et M. Ike. « Biodegradation of Bisphenol A and Bisphenol F in the Rhizosphere Sediment of *Phragmites Australis* ». *Journal of Bioscience and Bioengineering* 108, n° 2 (2009): 147-50. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.03.011>.
- Tran, B. C., M-J. Teil, M. Blanchard, F. Alliot, et M. Chevreuil. « Fate of Phthalates and BPA in Agricultural and Non-Agricultural Soils of the Paris Area (France) ». *Environmental Science and Pollution Research* 22, n° 14 (2015): 11118-26. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4178-3>.
- Truu, M., J. Juhanson, et J. Truu. « Microbial Biomass, Activity and Community Composition in Constructed Wetlands ». *Science of The Total Environment* 407, n° 13 (2009): 3958-71. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.036>.
- Vymazal, J. « Constructed Wetlands for Treatment of Industrial Wastewaters: A Review ». *Ecological Engineering* 73 (2014): 724-51. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.034>.
- Vymazal, J., M. Greenway, K. Tonderski, H. Brix, et Ü. Mander. « Constructed Wetlands for Wastewater Treatment ». *Wetlands and Natural Resource Management*, 2006, 69-96. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33187-2_5.
- Walaszek, M., P. Bois, J. Laurent, E. Lenormand, et A. Wanko. « Micropollutants Removal and Storage Efficiencies in Urban Stormwater Constructed Wetland ». *Science of The Total Environment* 645 (2018): 854-64. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.156>.
- Walsh, C. J., T. D. Fletcher, et M. J. Burns. « Urban Stormwater Runoff: A New Class of Environmental Flow Problem ». Édité par J. A. Gilbert. *PLoS ONE* 7, n° 9 (2012): e45814. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045814>.
- Wang, Z., Y. Yang, T. He, et S. Xie. « Change of Microbial Community Structure and Functional Gene Abundance in Nonylphenol-Degrading Sediment ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, n° 7 (2015): 3259-68. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6222-5>.

- Wang, Z., Y. Yang, W. Sun, S. Xie, et Y. Liu. « Nonylphenol Biodegradation in River Sediment and Associated Shifts in Community Structures of Bacteria and Ammonia-Oxidizing Microorganisms ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106 (2014): 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.019>.
- Watanabe, W., Y. Hori, S. Nishimura, A. Takagi, M. Kikuchi, et J. Sawai. « Bacterial Degradation and Reduction in the Estrogen activity of 4-nonylphenol ». *Biocontrol science* 17(), n° 3 (2012): 143-47. <https://doi.org/10.4265/bio.17.143>.
- Weber, K. P., et R. L. Legge. « Community-Level Physiological Profiling ». In *Bioremediation*, édité par Stephen P. Cummings, 599:263-81. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-439-5_16.
- Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Use R! Cham: Springer International Publishing, 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>.
- Willis, A. D. « Rarefaction, Alpha Diversity, and Statistics ». *Frontiers in Microbiology* 10 (2019): 2407. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02407>.
- Wu, K., C. Dumat, H. Li, H. Xia, Z. Li, et J. Wu. « Responses of soil microbial community and enzymes during plant-assisted biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate and pyrene ». *International Journal of Phytoremediation* 21, n° 7 (2019): 683-92. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556586>.
- Xing, J., S. Zhang, M. Zhang, et J. Hou. « A Critical Review of Presence, Removal and Potential Impacts of Endocrine Disruptors Bisphenol A ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 254 (2022): 109275. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109275>.
- Xu, J., L. Wu, et A. C. Chang. « Degradation and Adsorption of Selected Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Agricultural Soils ». *Chemosphere* 77, n° 10 (2009): 1299-1305. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.063>.
- Xu, P., C. Lai, G. Zeng, D. Huang, M. Chen, B. Song, X. Peng, et al. « Enhanced Bioremediation of 4-Nonylphenol and Cadmium Co-Contaminated Sediment by Composting with Phanerochaete Chrysosporium Inocula ». *Bioresource Technology* 250 (2018): 625-34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.069>.
- Yamamoto, Hiroshi, Howard M. Liljestrand, Yoshihisa Shimizu, et Masatoshi Morita. « Effects of Physical-chemical Characteristics on the Sorption of Selected Endocrine Disruptors by Dissolved Organic Matter Surrogates ». *Environmental Science & Technology* 37, n° 12 (2003): 2646-57. <https://doi.org/10.1021/es026405w>.
- Ying, G. G., et R. S. Kookana. « Sorption and Degradation of Estrogen-like-Endocrine Disrupting Chemicals in Soil ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, n° 10 (2005): 2640-45. <https://doi.org/10.1897/05-074R1>.
- Zhalnina, K., R. Dias, P. D. De Quadros, A. Davis-Richardson, F. A. O. Camargo, I. M. Clark, S. P. McGrath, P. R. Hirsch, et E. W. Triplett. « Soil pH Determines Microbial Diversity and Composition in the Park Grass Experiment ». *Microbial Ecology* 69, n° 2 (2015): 395-406. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0530-2>.

Zhang, C., Y. Li, C. Wang, L. Niu, et W. Cai. « Occurrence of endocrine disrupting compounds in aqueous environment and their bacterial degradation: A review ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 46, n° 1 (2016): 1-59. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1061881>.

Zhang, Z., B. Cui, et X. Fan. « Removal Mechanisms of Heavy Metal Pollution from Urban Runoff in Wetlands ». *Frontiers of Earth Science* 6, n° 4 (2012): 433-44. <https://doi.org/10.1007/s11707-012-0301-7>.

Zhou, Q. H., Z. B. Wu, S. P. Cheng, F. He, et G. P. Fu. « Enzymatic Activities in Constructed Wetlands and Di-n-Butyl Phthalate (DBP) Biodegradation ». *Soil Biology and Biochemistry* 37, n° 8 (2005): 1454-59. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.01.003>.

Copyright transferred, do not publish