

RÉSUMÉ

Titre : **Élaboration de protocoles pour l'échantillonnage et l'évaluation des échantillons de bentonite et environnementaux associés aux essais de sûreté *in situ* des éléments du système de barrières ouvragées**

Rapport n° : **NWMO-TR-2018-04**

Auteurs : Katja Engel¹, Sara Coyotzi¹, Greg Slater² et Josh D. Neufeld¹

Société : ¹Université de Waterloo, ²Université McMaster

Date : Avril 2018

Résumé

La Société de gestion des déchets nucléaires (SGDN) est responsable de la mise en œuvre de la Gestion adaptative progressive (GAP), le plan canadien de gestion à long terme du combustible nucléaire irradié produit par les réacteurs nucléaires canadiens. En préparation aux travaux canadiens, la SGDN participe à l'Essai de corrosion des matériaux mené au Laboratoire de recherche souterrain (LRS) de Grimsel, en Suisse. Des modules d'essai contenant des coupons de métal entourés de bentonite MX-80 hautement comprimée ont été retirés de sondages d'une profondeur approximative de 9 m sur le site de l'Essai de corrosion au terme de 394 jours de stockage. Des protocoles ont été élaborés pour l'échantillonnage de la bentonite et des échantillons environnementaux associés au système de barrières ouvragées (SBO) et les communautés microbiennes ainsi que leur répartition ont été évaluées à l'aide de méthodes d'analyse de l'ADN. Des frottis et des échantillons de bentonite ont été prélevés de diverses surfaces et des matériaux des modules de sondage 1a et 2a. L'ADN génomique a été extrait de 79 échantillons prélevés dans les modules de sondage à l'aide d'une trousse d'isolement d'ADN PowerSoil ou PowerMax (Laboratoires MO BIO). Seulement 18 échantillons d'ADN prélevés ont fourni suffisamment d'ADN génomique pour permettre une quantification à l'aide du fluorimètre Qubit. Un amplicon a été détecté dans seulement 55 % des échantillons au moyen d'une PCR du gène ARNr 16S à 35 cycles d'amplification. Un protocole de PCR nichée a augmenté la proportion des amplifications positives à 75 %, mais de nombreux amplicons étaient toujours faibles. Les échantillons de module de sondage, la trousse d'extraction et des témoins sans matrice ont été séquencés avec un instrument MiSeq (Illumina) et les séquences assemblées ont été regroupées en 1 612 unités taxonomiques opérationnelles (OTU).

Le fluide de sondage était dominé par des OTU appartenant aux genres *Desulfosporosinus meridiei* et *Desulfovibrio mexicanus*, qui seraient sulfato-réducteurs. Ont aussi été trouvées en abondance des OTU appartenant au genre *Syntrophus*, qui se développent probablement en association symbiotique avec les bactéries sulfato-réductrices. L'abondance relative de ces OTU était plus faible pour les échantillons de l'intérieur du module de sondage et pratiquement aucune de ces OTU ont été détectées dans les échantillons de la couche interne de bentonite. *Pseudomonas stutzeri* était la bactérie dominante détectée dans les échantillons des contenants et des filtres. *Pseudomonas stutzeri* est considérée comme une bactérie dénitrifiante. Son abondance relative diminuait en se déplaçant vers l'intérieur du module de sondage. Le genre *Streptomyces* était dominant dans les échantillons de carotte de bentonite,

vraisemblablement sous forme de spores métaboliquement inactives ou d'ADN « relique » extracellulaire. D'autres travaux devront être menés pour quantifier l'abondance absolue de ces taxons et déterminer si les bactéries détectées étaient viables et capables de contribuer métaboliquement aux modules d'essai.

Outre l'analyse d'ADN, six échantillons de bentonite ont été soumis à une analyse des acides gras des phospholipides (PLFA). Les concentrations de PLFA étaient uniformes pour tous les échantillons, à 24 ± 7 ng/g, ce qui a permis d'estimer que l'abondance cellulaire variait de 1 à 3×10^6 cellules/g. Fait à souligner, les PLFA observés comprenaient les acides iso et anteiso C15:0, qui sont souvent associés à des bactéries sulfato-réductrices, et l'acide C18:2 ω 9,12, qui est considéré comme un biomarqueur des champignons. La répartition des PLFA était généralement similaire pour les échantillons de bentonite des modules 1a et 2a et les variations entre la couche externe et la couche interne de bentonite étaient mineures.