

Évaluation chimique et biologique du risque phytotoxique lié à la mise en dépôt de sédiments de dragage contaminés

Xavier CAPILLA
Jean-Philippe BEDELL

École nationale des travaux publics de l'État

RÉSUMÉ

Une méthode d'évaluation du risque lié au dépôt de sédiments de dragage vis-à-vis des plantes périphériques comporte tout d'abord une procédure simplifiée qui consiste à calculer un indice moyen de contamination (Q_{PECm} : coefficient moyen d'effet probable) à partir des analyses physico-chimiques. La valeur de ce coefficient permet une première évaluation et conduit ou non à la mise en place d'une évaluation plus détaillée du risque phytotoxique. Cinq sédiments (notés A, B, C, D, E), provenant du nord de la France, ont été prélevés et étudiés. Le classement de ces sédiments, par ordre décroissant de leur Q_{PECm} , est alors le suivant : $E > B > C > A > D$. Dans le cadre de l'évaluation détaillée des risques, la phytotoxicité ou, plus précisément, la toxicité des eaux d'égouttage issues de ces sédiments, a ensuite été testée sur la germination de trois plantes (maïs, chou chinois et ray grass). Différents paramètres physiologiques ont été mesurés sur ces plantules (% d'inhibition de la germination, longueurs des racines et des pré-feuilles, etc.) et complétés par l'expression d'une activité enzymatique du cycle de l'azote, la glutamine synthétase. Les résultats obtenus montrent une phytotoxicité pour l'ensemble des eaux testées avec un effet plus marqué pour l'eau E, ce qui est cohérent avec le classement initial effectué à l'aide de l'indice Q_{PECm} .

DOMAINE : Environnement et génie urbain.

ABSTRACT

CHEMICAL AND BIOLOGICAL EVALUATION OF THE PHYTOTOXIC RISK TIED TO THE STORAGE OF CONTAMINATED DREDGING SEDIMENTS

A method for evaluating the risk associated with the storage of dredging sediments as regards peripheral plants comprises, first of all, a simplified procedure that entails calculating an average contamination index (Q_{PECm} : average probable effect coefficient) on the basis of physicochemical analyses. The value of this coefficient enables conducting an initial assessment and may or may not lead to proceeding with a more detailed evaluation of the phytotoxic risk. Five sediments (denoted A, B, C, D and E), found in the northern part of France, were extracted and studied. The ranking of these samples, in decreasing order of Q_{PECm} , resulted in: $E > B > C > A > D$. Within the scope of the more detailed risk evaluation, the level of phytotoxicity, or more precisely the toxicity of the percolating water stemming from these sediments, was tested on the germination of three plants (corn, Chinese cabbage and ryegrass). Various physiological parameters were also measured on these seedlings (% germination inhibition, lengths of both the radicles and early leaf growth, etc.) and then completed by an expression of enzymatic activity of the nitrogen cycle, the glutamine synthetase. The results obtained indicate a level of phytotoxicity for the entire series of tested water samples with a more pronounced effect for sample E, which remains consistent with the initial ranking performed using the Q_{PECm} index.

FIELD: Environment and urban engineering.

INTRODUCTION

Nombre de substances chimiques rejetées dans l'environnement s'accumulent dans les sédiments au fond des rivières, des canaux, des lacs et des retenues d'eau, ainsi que dans les estuaires et les fonds marins. Les risques écologiques et sanitaires causés par la contamination des sédiments sont donc potentiellement multiples. Il s'agit, par exemple, de la dégradation de la qualité de l'eau (par relargage ou remise en suspension), de la diminution de la diversité des communautés (en particulier d'invertébrés, avec des conséquences indirectes sur les peuplements de poissons), de la perte de la comestibilité des poissons ou des coquillages, des usages récréatifs affectés ou rendus impossibles, etc. De plus, des coûts supplémentaires sont liés à la gestion des matériaux contaminés lors d'opérations de dragage ou de curage. Les contaminants les plus fréquemment cités sont des métaux (cadmium, chrome, cuivre, mercure, nickel, plomb et zinc), l'arsenic, les organochlorés et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) [1].

Les sédiments déposés au fond des cours d'eau peuvent induire des besoins de curage, lorsqu'ils augmentent le risque d'inondation ou diminuent le tirant d'eau des parties navigables, ou encore

s'ils présentent un risque écologique ou sanitaire avéré. Différentes filières existent pour la gestion des matériaux extraits : la mise en dépôt sur sol ou en gravière, la réutilisation dans des réalisations paysagères ou routières, etc. Les difficultés rencontrées dans la gestion de la contamination des matériaux extraits ont suscité la mise au point de procédures et de méthodes d'évaluation de leurs impacts potentiels. Une abondante bibliographie, notamment nord-américaine, a permis de sélectionner des organismes cibles pour des bioessais et de mettre en œuvre des méthodes de mesure des effets toxiques des sédiments [2-4]. Le développement de méthodes d'évaluation de la toxicité des sédiments a été initié en France, notamment, par les Agences de l'Eau et des organismes de recherche comme le CEMAGREF ou l'IFREMER. L'une d'entre elles a été développée pour le CETMEF lors d'une étude commune entre le Laboratoire des sciences de l'environnement de l'ENTPE et le CEMAGREF de Lyon [5, 6]. Elle comporte deux étapes successives : la première consiste en une analyse simplifiée du risque (effectuée principalement à partir de la caractérisation chimique des sédiments), à partir de laquelle on peut décider de réaliser ou non une deuxième étape d'évaluation détaillée. Cette première étape consiste, à partir des analyses physico-chimiques, à calculer un indice moyen de contamination (Q_{PECM} : coefficient moyen d'effet probable) relié par ailleurs expérimentalement à la fréquence de toxicité [7, 8]. Une valeur de Q_{PECM} inférieure à 0,1 autorise la poursuite du projet de mise en dépôt des sédiments sans autre étude, une valeur comprise entre 0,1 et 0,5 nécessite la mise en place d'essais d'écotoxicité directement sur la matrice, et, enfin, pour une valeur supérieure à 0,5, une étude détaillée des risques écotoxicologiques est nécessaire [5, 9]. Cette méthodologie a tout d'abord été testée sur trois sédiments [5, 6, 10]. L'évaluation détaillée des risques écotoxicologiques comporte différentes approches dont, par exemple, des tests de germination sur les eaux d'égouttage des sédiments lors d'un dépôt des sédiments sur sol. Ces tests de germination ont été effectués sur une première série de trois sédiments [10]. Ils ont aussi été utilisés par Gong *et al.* [11] pour des approches similaires d'évaluation de la phytotoxicité, ou par Chen *et al.* [12] sur des sédiments d'un canal urbain. En outre, l'effet de polluants, notamment métalliques (seuls ou en combinaison), sur la germination de différentes espèces a été évalué [13, 14]. Afin de conforter et de préciser les limites de cette méthode d'évaluation des risques de la mise en dépôt de sédiments de curage, cinq autres sédiments ont été testés. Pour cela, les cinq sédiments ont été caractérisés afin de permettre le calcul du Q_{PECM} . Leur phytotoxicité, ou plus précisément la toxicité sur les plantes des eaux surnageantes issus de ces sédiments, a ensuite été testée via l'étude de la germination de plantes (% d'inhibition, longueurs des racines et feuilles) et l'expression d'une activité enzymatique, la glutamine synthétase. En effet, une plante est le siège de différents mécanismes physiologiques qui régulent son développement et sa croissance, dont notamment ceux liés à l'assimilation de l'azote et du carbone via la photosynthèse et l'assimilation du CO_2 qui en résulte. L'activité glutamine synthétase [GS ; EC 6.1.3.2], une enzyme importante dans le cycle de l'azote assimilé par les plantes, s'était avérée être un bon bio-indicateur de l'effet de la présence de polluants pour le ray grass lors de l'étude précédente [10]. De plus, une étude sur la silène a démontré que cette enzyme était affectée par la présence de métaux lourds [15], et que la GS cytosolique était un bon indicateur de la mise en place de systèmes de détoxification, particulièrement en présence de métaux lourds [16].

Dans cette étude, on souhaite donc : comparer le classement de ces cinq sédiments établi à l'aide de la méthode statistique du Q_{PECM} (étude simplifiée) et via des tests de toxicité portant sur la germination d'espèces végétales présentes à proximité de ce type de dépôt ; poursuivre l'investigation des mesures morphologiques et physiologiques (notamment celle de l'activité enzymatique GS testée précédemment) et discuter de leur pertinence ou non ; et, enfin, discuter des limites de l'utilisation de ces tests d'évaluation de la phytotoxicité dans la démarche méthodologique générale.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Caractérisation des sédiments, des eaux et calcul de Q_{PECM}

Cinq sédiments (notés A0, B0, C0, D0, E0), provenant de canaux du nord de la France (Douai, Lille et Valenciennes), ont été prélevés par benne ou par seringue selon l'accessibilité du canal et des zones de prélèvements. Les données disponibles font état d'un gradient de contamination en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), en polychlorobiphényles (PCB), et en différents éléments traces, notamment arsenic, chrome, plomb et zinc (Tableau I). La caractérisation de ces

TABLEAU I
Composition des sédiments, PEC et calcul du Q_{PECm}

Composés	PEC du composé (mg/kg de MS)	Seuil de quantification (mg/kg de MS)	Valeur du composé issue de la caractérisation des sédiments				
			A0	B0	C0	D0	E0
As	33	5	8,2	11,5	7,9	12	13,8
Cd	4,98	0,1	1,01	3,75	3,01	5,16	14,21
Cr	111	0,75	84,64	43,86	74,61	45,56	272,14
Cu	149	1	45,34	97,86	82,60	17,94	188,49
Pb	128	0,1	54,89	316,38	236,77	112,02	328,75
Hg	1,06	0,2	0,3	1	0,8	0,4	0,86
Ni	48,6	0,75	53,73	62,32	68,77	16,54	178,33
Zn	459	50	283,33	963,33	776,67	567,56	2 704,53
HAP totaux	22,8	0,01	17,040	37,640	32,540	0,011	0,019
PCB totaux	0,676	0,01	0,337	0,946	0,211	Non détectés	0,005
Q_{PECm}			0,52	1,20	0,95	0,48	1,99

sédiments et des eaux issues de ceux-ci a été réalisée selon les normes EPA 610/T90 115 à T90 132, et EN ISO 6348 à 6364, respectivement pour la mesure des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB). La mesure des valeurs totales en éléments traces, dans les sédiments et les eaux, a été réalisée suivant la norme NF EN ISO 11885 pour l'arsenic, la norme NF EN 1483 pour le mercure, et la norme NF T 90112 pour les autres éléments traces.

Le calcul de l'indice de contamination est réalisé à partir des concentrations totales en contaminant et de seuils de qualité issus de la littérature (PEC : Seuil d'Effet Probable) [7, 8, 17]. Les valeurs utilisées pour chaque substance sont présentées dans le tableau I. Le « quotient PEC moyen » est calculé à partir de la formule suivante [5, 7, 8, 10] :

$$Q_{PECm} = [\sum_{de\ i=1\ à\ n} (C_i/PEC_i)]/n$$

où n représente le nombre de substances considérées, PEC_i le coefficient d'effet probable de la substance i, et C_i sa concentration mesurée dans le sédiment (cf. Tableau I).

Les eaux d'égouttage représentent les eaux surnageantes qui seront notées eau A, eau B,... Au laboratoire, ces eaux sont obtenues par décantation du sédiment dans des fûts de 80 litres après 3 jours de stockage à 4 °C. Les eaux surnageantes sont alors prélevées par aspiration et constituent les eaux utilisées pour les différentes expérimentations. Les différents contaminants sont mesurés comme indiqués précédemment et les seuils de quantification sont indiqués dans le tableau II. Les mesures du pH, de la conductivité et de la DCO sont effectuées selon respectivement les normes NF T 90008, NF EN 27888 et NF T 90101. Pour les déterminations de l'azote et du phosphore, on utilise respectivement les normes NF EN 25663 et NF EN 1189.

Tests de germination des végétaux

Le protocole des tests de germination est issu des normes relatives à l'essai d'inhibition de germination de semences par une substance [18] et à la détermination des effets des polluants sur la flore du sol [19]. Ces tests permettent d'aborder le risque d'impact de la mise en dépôt des sédiments sur la végétation avoisinante, notamment lors de sa germination, via les eaux d'égouttage.

La germination est définie par l'apparition, puis le développement, à partir de l'embryon de la semence, des organes essentiels qui prouvent leur aptitude à produire une plante normale en pleine terre et dans des conditions normales [18]. Dans cette étude, l'apparition de radicules et, le cas échéant, aussi de parties aériennes (pré-feuilles), constituera la germination.

TABLEAU II
Composition des eaux d'égouttage des sédiments

Paramètres	Seuil de quantification (µg/L)	Eaux d'égouttage				
		A	B	C	D	E
pH	0,1	6,7	7,2	7,3	6,4	6,8
Conductivité (µS/cm)	1	620	675	640	515	960
Carbone organique dissous (mg/L)		88	99	107	<30	68
Azote Kjeldahl (mg/L)	0,5	29,8	18,5	19,3	1,3	56,3
Phosphore total (mg/L)	0,01	3,05	3,5	5,1	2,7	1,25
Métaux (µg/L)						
As	5	27	< 5	< 5	Nd	Nd
Cd	0,1	1,1	0,55	2,5	111,85	9,23
Cr	0,75	24,81	4,09	13,21	307,55	344,88
Cu	1	25,6	7,55	33,96	589,65	593,23
Hg	0,2	< 0,1	< 0,1	< 0,1	Nd	Nd
Ni	0,75	24,65	8,4	12,33	29,34	380,07
Pb	1	22,52	24,6	39,25	864	170,99
Zn	50	740	110	380	7 480	3 380
Somme des métaux		920,85	150,19	349,24	2650,41	1 836,4
HAP Totaux (µg/L)	0,005	0,04280	0,078	0,025	2,59	92,2
PCB totaux (µg/L)	0,005	0	0	0	0	3,439

Nd : non détecté.

Des graines de maïs (25), de ray grass (50) et de chou chinois (50) sont mises à germer sur du sable de Fontainebleau humidifié à 20 % par les eaux surnageantes des sédiments. Un témoin est réalisé en utilisant de l'eau distillée pour l'humidification. Le sable, préalablement lavé à l'acide (mélange d'acide chlorhydrique 6N et d'acide sulfurique 6N) puis rincé au moins cinq fois à l'eau distillée jusqu'à neutralité, est ensuite passé au four à 500 °C pendant deux heures, afin d'éliminer les interactions potentielles entre les métaux et le sable, via la matière organique et les argiles. L'ensemble du système expérimental est placé dans des mini-serres closes, ce qui évite toute perte d'humidité ou de variation dans l'hygrométrie du système pendant les 7 jours de l'expérience.

Le choix des espèces végétales répond aux recommandations des normes citées précédemment. À noter qu'il s'agit de deux plantes de culture (maïs et chou chinois) et d'une plante de prairie (ray grass), qui sont respectivement pour le maïs et le ray grass de la famille des *Poaceae* et pour le chou chinois de la famille des *Brassicaceae*. Après 7 jours en chambre de culture à 25 °C avec une photopériode de 15 h, le nombre de graines germées est déterminé. Chaque graine germée est ensuite mesurée en distinguant la partie aérienne et la partie racinaire. Ce protocole expérimental a été mis en oeuvre avec les eaux d'égouttage des cinq sédiments. Le taux de germination de chaque échantillon, issu de triplicats, est ensuite comparé à celui du témoin. Les longueurs moyennes des racines et des pré-feuilles, ainsi que les rapports entre ces longueurs, sont également comparés.

Activité enzymatique

Il s'agit de l'activité spécifique (expression de l'activité par rapport à la quantité de protéine présente) de la glutamine synthétase (GS ; EC 6.3.1.2), une enzyme du cycle de l'assimilation de l'azote par les

plantes [20, 21]. Les plants obtenus après 7 jours de culture sont broyés dans un mortier avec du sable de Fontainebleau en présence d'un tampon d'extraction [22]. L'extrait obtenu est centrifugé à 4 000 g à 4 °C pendant 25 min. Le surnageant, constituant l'extrait brut, est ensuite utilisé pour le dosage des protéines et la détermination de l'activité spécifique de la glutamine synthétase.

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford [23]. Ce dosage repose sur le déplacement d'absorption de 465 à 595 nm qui se produit lorsque le bleu de Coomassie se lie aux protéines. L'activité spécifique est exprimée en nkatal par mg de protéines, un nkatal correspondant à une nanomole de substrat disparu ou de produit formé par seconde.

Analyse statistique

Une analyse statistique des résultats a été effectuée via le logiciel STATISTICA© avec un risque de première espèce de 5 %. Lors des comparaisons deux à deux, un test non paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé.

RÉSULTATS

Les sédiments et le calcul des Q_{PECm}

La caractérisation des cinq sédiments montre des différences concernant leur contenu en éléments traces, ou en HAP et en PCB (cf. Tableau I). Cependant, on peut distinguer les sédiments D et E des trois autres sédiments, au vu notamment de leur faible teneur en HAPs et en PCBs totaux. Les sédiments E et B peuvent aussi être distingués de part leur teneur en éléments traces avec, par exemple, des teneurs importantes en zinc pour le sédiment E.

On peut constater ici que les coefficients calculés sont tous supérieurs à 0,1 (cf. Tableau I). Dans le cas du sédiment D, des tests d'écotoxicité réalisés sur la matrice sédiment s'avèrent nécessaires avant toute mise en dépôt ($0,1 < Q_{PECm} < 0,5$) si l'on se fonde sur la méthodologie d'évaluation de sédiments de dragage et les seuils proposés par Babut et Perrodin [9]. Pour les quatre autres sédiments, une évaluation détaillée de l'écotoxicité est nécessaire. Un classement relatif des sédiments étudiés ici est aussi possible en fonction de l'indice moyen de contamination déterminé suite aux analyses chimiques. Le classement des sédiments par ordre décroissant de leur Q_{PECm} est alors le suivant : $E > B > C > A > D$.

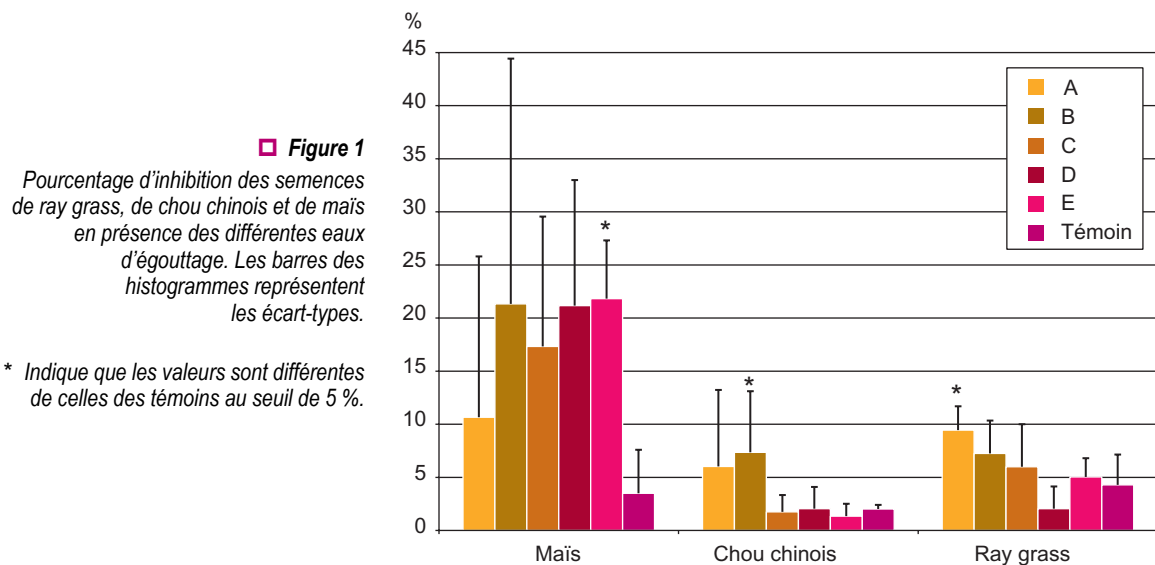
La composition et les principales caractéristiques des eaux d'égouttage obtenues à partir des sédiments sont présentés dans le tableau II. Il convient de noter que les valeurs obtenues dans cette phase liquide sont quantitativement et qualitativement différentes des valeurs mesurées pour les sédiments. En effet, ces eaux pourraient être classés, d'un point de vue purement numérique, par leur degré de contamination décroissant en : $D > E > A > C > B$.

Les compositions des eaux d'égouttage apparaissent donc très variables pour les polluants métalliques, notamment par exemple pour le zinc ou l'arsenic, ce dernier n'étant dosable que dans l'eau A. De plus, l'eau E est la seule à contenir des PCBs et ses teneurs en HAPs sont supérieures à celles de toutes les autres eaux, avec notamment la présence de 73 et 8,4 µg/L respectivement de fluorène et de phénanthrène.

Étude du test de germination

Taux d'inhibition de la germination

Le pourcentage de graines non germées est représenté sur la figure 1. Pour les trois espèces testées, les témoins réalisés avec l'eau distillée montrent tous des pourcentages de l'ordre de 5 %, qui ne sont pas statistiquement différents les uns des autres. Pour le maïs, si l'on compare l'effet des eaux testées par rapport au témoin, on note tout d'abord une grande variation (du simple au double) dans les pourcentages obtenus notamment avec les eaux A et B (cf. Fig. 1). Ainsi, le pourcentage de 22 % ($\pm 5,5$) obtenu en présence de l'eau E est le seul significativement différent du témoin alors que les valeurs obtenues avec les autres eaux sont du même ordre de grandeur, pour la moyenne obtenue, mais présentent une trop grande variabilité en fonction des différentes répétitions réalisées. Pour les essais réalisés avec le chou chinois, on note une grande variabilité dans les répétitions avec les eaux A



et B, et des pourcentages plus homogènes pour les autres eaux, mais seuls les résultats obtenus avec l'eau B sont significativement distinct du témoin. Les eaux C, D et E ont donc peu d'influence sur l'inhibition de la germination de cette espèce. Pour le ray grass, on constate que l'ensemble des eaux testées inhibent peu la germination de cette espèce. Cependant, le pourcentage d'inhibition obtenu avec l'eau A s'avère significativement différent de celui obtenu dans le cas du témoin.

Si l'on analyse l'effet inhibiteur des eaux, on constate que l'eau E est inhibitrice pour la germination du maïs, mais pas pour les deux autres espèces. L'eau A est, quant à elle, inhibitrice de la germination du ray grass et semble potentiellement influente sur celle du maïs et du chou chinois. L'eau B est inhibitrice pour la germination du chou chinois et présente une grande variation dans son effet pour les deux autres espèces, cela étant particulièrement vrai pour le maïs. Les eaux C et D semblent beaucoup moins inhibitrices de la germination des trois espèces testées.

Les résultats de taux de germination obtenus avec les eaux d'égouttage ne permettent pas de classer leur impact sur la germination des végétaux. Les variations observées par rapport au témoin peuvent être masquées par un apport de matière nutritive supérieur (via les eaux d'égouttage) ou par le type de graine utilisée. En effet, les graines de maïs, plus grosses, présentent une surface d'échange plus importante avec la solution testée que celle des semences de ray grass ou de chou chinois et c'est dans leur cas que les variations entre répétitions (écart-type) sont les plus importantes, sans doute en raison de l'hétérogénéité d'imbibition de la graine résultant de la taille plus importante des graines. Il ressort de ce test que seules les eaux A, B et E perturbent les germinations respectivement du ray grass, du chou chinois et du maïs.

Paramètres de croissance

Que ce soit dans l'essai témoin ou avec les autres traitements, les graines de maïs ne présentent pas de pré-feuilles au bout de 7 jours comme cela avait déjà été observé dans l'étude antérieure [10].

À l'exception de l'eau A, toutes les eaux testées et, plus particulièrement l'eau E, inhibent significativement la longueur des racines de maïs (Tableau III).

Pour le ray grass, les eaux A, B, C et particulièrement E inhibent significativement la longueur des racines, l'eau D étant sans effet. Pour les pré-feuilles, toutes les eaux testées ont un effet significatif sur leurs longueurs : l'eau D stimule cette longueur et les quatre autres l'inhibent. Pour le chou chinois, à l'exception de l'eau A, toutes les eaux testées ont un effet significatif sur la longueur des pré-feuilles. Pour les racines de cette plante, à l'exception de l'eau B, les eaux A, C, D stimulent significativement la longueur des racines alors que l'eau E l'inhibe (cf. Tableau III).

Un système racinaire moins important peut être synonyme d'un mauvais développement de la plante, ou d'une grande disponibilité en matières nutritives. À l'inverse, un système racinaire hypertrophié peut souligner un stress ou illustrer un développement plus important de l'ensemble du végétal [24]. L'interprétation du développement des pré-feuilles est sujette aux mêmes difficultés.

TABLEAU III
Longueurs des parties racinaires (R), pré-feuilles (P) et rapports moyens (P/R) lors des tests de germination
avec les différentes eaux d'égouttage

Plantes testées	Eaux d'égouttage	Longueur (cm)				Rapport (P/R)moyen	
		R		P		Moyenne	Écart-type
		Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type		
Ray grass	A	1,62*	0,06	3,05*	0,18	1,98	0,13
	B	1,76*	0,06	3,32*	0,19	2,07	0,13
	C	1,49*	0,06	2,72*	0,18	1,84	0,12
	D	2,19	0,10	4,57*	0,22	2,27	0,13
	E	0,99*	0,08	2,08*	0,16	3,35	0,43
	Témoin	2,14	0,08	3,83	0,13	2,10	0,10
Chou chinois	A	2,37*	0,12	1,06	0,04	0,50*	0,03
	B	2,27	0,25	1,11*	0,05	0,59	0,04
	C	3,04*	0,15	1,17*	0,04	0,44*	0,03
	D	3,07*	0,15	1,59*	0,06	0,68	0,08
	E	1,18*	0,12	0,69*	0,03	1,35*	0,10
	Témoin	2,00	0,09	0,99	0,03	0,58	0,03
Maïs	A	1,96	0,13				
	B	1,62*	0,12				
	C	1,62*	0,10				
	D	1,43*	0,10				
	E	1,3*	0,10				
	Témoin	2,06	0,12				

* Indique que les valeurs sont différentes de celles des témoins au seuil de 5 %.

C'est pourquoi on a eu recours à un autre indicateur : le rapport de la longueur des parties aériennes (P) sur celle des parties racinaires (R). L'absence de pré-feuilles pour le maïs ne permet pas de déterminer ce rapport pour cette plante.

Le rapport de la longueur des parties aériennes sur la longueur des parties racinaires est, en temps normal, supérieur à 1, mais peut varier suivant les espèces. Dans le cas où ce rapport est inférieur à 1, cela peut traduire un « stress » (hydrique, par exemple) ou la présence d'un polluant [13, 25]. Ce rapport augmente lorsque les conditions sont favorables au développement des végétaux. Cela permet de comparer de manière qualitative deux lots de culture.

Les rapports observés sont supérieurs, mais les différences ne sont pas significatives dans le cas du ray grass (cf. Tableau III). Cela est dû principalement aux longueurs supérieures des pré-feuilles et s'explique sans doute par les propriétés et les spécificités des différentes semences.

Pour le chou chinois, les eaux A, C et E ont un effet significatif sur le rapport P/R moyen (cf. Tableau III). Les eaux A et C entraînent une diminution de ce rapport alors que l'eau E est la seule à présenter un rapport supérieur à 1. Cela pourrait être lié à sa richesse en matières nutritives. Ainsi, des mesures de valeurs totales en azote Kjeldahl ou en phosphore total montrent que ces éléments sont présents en quantités importantes dans l'eau E, avec respectivement 56,3 et 1,25 mg/L, comparativement à l'eau D qui contient respectivement 1,3 et 2,7 mg/L (cf. Tableau II).

En conclusion, le rapport entre la longueur des parties aériennes et celle des parties racinaires du ray grass et du chou chinois semble augmenter avec les sédiments D et E alors qu'il diminue avec les sédiments A, B et C.

Activité enzymatique glutamine synthétase (GS)

Pour des raisons expérimentales (nombre d'échantillons, volume d'extrait brut obtenu), nous n'avons pas pu réaliser des triplicats pour chaque mesure enzymatique. On a cependant réalisé, quand cela était possible, des duplicats (Tableau IV). Les résultats présentés sont donc simplement qualitatifs.

Bien que l'on ne puisse pas conclure à un effet certain des eaux sur l'activité de la glutamine synthétase des plantules obtenues, on peut observer certaines tendances qui seraient à confirmer, ou qui vont dans le sens des résultats antérieurs obtenus avec d'autres eaux d'égouttage de sédiments. Ainsi, pour le maïs, en comparant au lot témoin, l'activité GS semble réduite par les eaux testées. Pour les eaux D et E, il est impossible, en raison d'une valeur unique disponible, de dire si la stimulation observée est représentative ou non de l'effet de ces eaux. Pour le chou chinois, l'activité GS semble inhibée par l'eau B et stimulée par les eaux A et D. Les eaux C et E présentent une variation trop importante avec les deux répétitions réalisées pour pouvoir les comparer au lot témoin. L'activité GS chez les plantules de ray grass ne semble pas affectée par les eaux testées même si, là aussi, le manque de répétitions ne permet pas d'affirmer un effet significatif.

On peut conclure que l'activité glutamine synthétase paraît intéressante comme indicateur d'effet sur la plante, cela au vu des effets potentiels qui semblent ressortir de l'ensemble des différents essais réalisés.

TABLEAU IV
Activités spécifiques de la GS lors des tests de germination du maïs, chou chinois et ray grass avec les différentes eaux d'égouttage

	Eaux testées					
	T-	A	B	C	D	E
Maïs	8,57 ± 0,55	6,38 ± 0,45	7,42 ± 0,03	7,42 ± 0,03	13,04*	13,04*
Chou chinois	0,38 ± 0,52	1,22 ± 0,08	0,09 ± 0,05	0,61 ± 0,78	0,54 ± 0,03	0,29 ± 0,34
Ray grass	1,4 ± 0,15	1,45 ± 0,09	1,35 ± 0,04	1,52 *	1,55*	1,55*

* Signifie qu'il n'y a eu qu'une seule valeur mesurée.

DISCUSSION

La composition chimique des sédiments utilisés est comparable à celles obtenues précédemment [26-28]. La classification des Q_{PECM} au travers des polluants mesurés au sein de ces cinq matrices est bien différente de celle que l'on aurait pu réaliser simplement sur un classement quantitatif et décroissant à partir des concentrations totales mesurées. En effet, ce quotient de risque permet d'évaluer les effets de mélanges de polluants en les rapportant au nombre de contaminants, et de pouvoir comparer ainsi entre eux des échantillons ne contenant pas la même diversité d'analyses de composés chimiques [7, 17]. De plus, MacDonald et al. [8] ont montré qu'il y avait une corrélation entre le rapport de la somme des quotients individuels normalisés pour chaque polluant par le nombre de contaminants mesurés et le pourcentage d'échantillons toxiques dans un jeu de données incluant plusieurs centaines de sédiments.

Concernant les essais de phytotoxicité, on peut constater que l'impact des eaux d'égouttage varie suivant l'eau d'égouttage testée, mais aussi suivant l'espèce testée et le paramètre observé.

Les essais de germination entrepris lors de la première étude sur trois sédiments avaient montré un effet des eaux d'égouttage testées sans aucune corrélation avec la teneur en polluants ou classe de polluants présents dans ces eaux [10]. Ainsi, les trois sédiments testés, notés A, B et C présentaient des Q_{PECM} de valeur respectivement : 0,2 ; 1,25 et 0,44 [6]. Par contre, les eaux testées étaient par ordre décroissant de niveau de contamination $C1 > A1 > B1$. Les eaux B1 et C1 inhibaient significativement

la germination des trois mêmes espèces testées. Les espèces testées avaient aussi montré ce type de variation lors de la première étude réalisée avec trois autres sédiments, et les résultats obtenus ici confortent la nécessité d'utiliser différentes espèces végétales pour évaluer l'effet toxique des sédiments et des eaux associées.

Ainsi, malgré des eaux d'égouttage assez distinctes, tant par leur composition que par la quantité des polluants présents, on ne voit pas d'effet réellement distinct sur le nombre de graines germées entre ces eaux. Les essais de germination, s'ils permettent de détecter un potentiel phytotoxique, se révèlent peu discriminants. L'étude réalisée par Wang et Zhou [14] sur le blé avait montré aussi que le taux de germination était le paramètre le moins sensible à l'effet toxique de trois polluants. Par contre, ils avaient démontré la sensibilité de la mesure de l'élongation racinaire ou des feuilles vis-à-vis de la toxicité de certains polluants, notamment en obtenant des relations linéaires entre ces deux mesures et certains de ces polluants seuls ou en mélange. Dans cette étude, les variations morphologiques liées à la longueur des radicules ou des pré-feuilles permettent de mettre en évidence les fortes toxicités des eaux D et E. Il convient aussi de noter que seule l'eau B inhibe significativement le nombre de graines germées, alors que toutes les autres eaux testées ont eu un effet sur la longueur des radicules des graines germées. Des stress hydriques donnent lieu, par ailleurs, à des diminutions du ratio P/R, dues à des adaptations morphologiques de la plante [25, 29].

L'activité GS était apparue précédemment comme un bon indicateur de l'effet de la toxicité des eaux, notamment sur le ray grass plus que sur le maïs [10]. Ainsi, l'eau C1 stimulait significativement l'activité GS des plantules du ray grass alors qu'aucun effet significatif n'avait été mis en évidence sur l'activité GS du maïs. Les résultats concernant les activités enzymatiques pour le ray grass et le maïs sont du même ordre de grandeur que ceux établis antérieurement [10], sauf dans le cas de l'activité spécifique de la GS du maïs. Aucune différence concernant l'activité spécifique de la GS n'a été trouvée entre un cultivar sensible au zinc et un autre non résistant au zinc de *Deschampsia cespitosa* [30]. À l'inverse l'activité spécifique de la GS pour la silène est affectée par l'addition de métaux lourds [15]. On peut, dans cette étude, constater que les tests enzymatiques permettent de mettre en évidence des perturbations non détectées par l'observation des paramètres simples tels que le taux de germination, la croissance des radicules ou des pré-feuilles. Sur cette base, on peut proposer un classement (par ordre décroissant de phytotoxicité) des eaux d'égouttage suivant les différentes perturbations qu'elles entraînent sur la germination des espèces testées : E > C > B = A > D. Ces observations permettent également d'établir un classement des espèces suivant leur capacité à supporter les perturbations liées aux eaux d'égouttage. Le chou chinois semble ici plus tolérant que le ray grass, lui-même plus tolérant que le maïs.

CONCLUSION

L'utilisation des tests de germination permet, dans un délai raisonnable, de détecter un potentiel toxique des eaux d'égouttage de sédiments de dragage vis-à-vis de la végétation avoisinante, lors de leur mise en dépôt sur sol. L'adjonction de mesures morphologiques et d'activités enzymatiques permet ensuite de préciser leur phytotoxicité et d'identifier la fonction physiologique perturbée.

Par ailleurs, le classement relatif des cinq sédiments étudiés ici, via les tests de toxicité sur la germination de trois plantes, et via le calcul du coefficient moyen de contamination Q_{PECm} concordent, ce qui confirme la capacité de ce dernier à bien orienter les sédiments au début de la procédure globale de gestion des sédiments. Précisons toutefois que cette classification des sédiments par le coefficient Q_{PECm} n'a été confortée ici que pour une cible écologique du scénario de mise en dépôt des sédiments de dragage, à savoir les plantes qui poussent sur le sol au voisinage du dépôt. Il serait maintenant nécessaire de conduire le même travail pour les autres cibles du scénario, à savoir pour les micro-organismes et la faune de ce même sol ainsi que pour les organismes des milieux aquatiques potentiellement aussi présents au voisinage du dépôt.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Manuelle Neto, Martine Ghidini et Marc Danjean pour leur aide et savoir-faire technique. Cet article reprend en partie les travaux qui ont été réalisés dans le cadre de l'étude financée en 2001-2003 par le ministère de l'Équipement (Direction de la recherche et des affaires scientifiques et techniques) et Voies navigables de France.

- [1] BABUT M., BREUZIN C., LASCOMBE C., PEREIRA-RAMOS L., Sediment quality assessment of three rivers and streams in France : the Moselle, the Rhone and the Seine, *International Symposium Sediment quality Assesment*, Berlin, 20-22, April 1999.
- [2] US-EPA, USACE, *Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the United States. Testing manual*, (draft) Report US Environment Protection Agency – US Army Corps of Engineers, Washington, Duluth , USA, EPA-823/B-94/002, 1994, 172 pages.
- [3] US-EPA, USACE, *Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the United States. Testing manual*, US Environment Protection Agency – US Army Corps of Engineers, Washington, DC, USA, EPA-823/B-98/004, 1998.
- [4] US-EPA, USACE, *Great Lakes dredged material testing and evaluation manual*, U.S. Environmental Protection Agency/US Army Corps of Engineers, 1998, 62 pages.
- [5] BABUT M., PERRODIN Y., BRAY M., CLÉMENT B., DELOLME C., DEVAUX A., DURRIEU C., GARRIC J., VOLLAT B., BECARD D., CHARRIER C., Évaluation des risques écologiques causés par des matériaux de dragage : proposition d'une approche adaptée aux dépôts en gravière en eau, *La Revue des Sciences de l'Eau*, vol. 15, 3, 2002, pp. 615-639.
- [6] BEDELL J.-P., DELOLME C., BABUT M., BRAY M., CHARRIER C., CLÉMENT B., DEVAUX A., DURRIEU C., GARRIC J., MONTUELLE B., PERRODIN Y., Proposition d'une méthodologie d'évaluation des risques écotoxicologiques liés à la mise en dépôt sur sol ou en gravière de sédiments de dragage, *Bulletin des laboratoires des Ponts et Chaussées*, 244-245, 2003, pp. 131-142.
- [7] MACDONALD D.D., DIPINTO L.M., FIELD J., INGERSOLL C.G., LONG E.R., SWARTZ R.C., Development and evaluation of consensus-based sediment effect concentrations for polychloro-biphenyls (PCBs), *Environmental Toxicology Chemistry*, 19, 2000, pp. 1403-1413.
- [8] MACDONALD D.D., INGERSOLL C.G., BERGER T.A., Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39, 2000, pp. 20-31.
- [9] BABUT M., PERRODIN Y., *Évaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage. (I) Présentation et justification de la démarche, rapport Cemagref-ENTPE pour Cetmef et VNF*, 2001, 47 pages.
- [10] BEDELL J.-P., BRIANT A., DELOLME C., PERRODIN Y., Evaluation of the phytotoxicity of contaminated sediments deposited « on soil » : I. Impact of water draining from the deposit on the germination of neighbouring plants, *Chemosphere*, 50, 2003, pp. 393-402.
- [11] GONG P., WILKE B.-M., STROZZI E., FLEISCHMANN S., *Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seeding growth test for the use in the ecotoxicological assesment of soils*, *Chemosphere*, 44, 2001, pp. 491-500.
- [12] CHEN Y.X., ZHU G.W., TIAN G.M., ZHOU G.D., LUO Y.M., WU S.C., Phytotoxicity of dredged sediment from urban canal as land application, *Environmental Pollution*, 117, 2002, pp. 233-241.
- [13] BISHNOI N.R., DUA A., GUPTA V.K., SAWHNEY S.K., Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 47(1), 1993, pp. 47-57.
- [14] WANG M., ZHOU Q., Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60 (2), 2005, pp. 169-175.
- [15] MATHYS W., Enzymes of heavy-metal-resistant and non-resistant populations of *Silene cucubalus* and their interaction with some heavy metals in vitro and in vivo, *Physiologia Plantarum*, 33, 1975, pp. 161-165.
- [16] ERNST W.H.O., PETERSON P.J., The role of biomarkers in environmental assessment (4) terrestrial plants, *Ecotoxicology*, 3, 1994, pp. 180-192.
- [17] INGERSOLL C.G., MACDONALD D.D., WANG N., CRANE J., FIELD L.J., HAVERLAND P.S., KEMBLE N.E., LINDSKOOG R., SEVERN C., SMORONG D., *Prediction of sediment toxicity using consensus-based freshwater sediment quality guidelines*, Report 905-Rxx-XXX. Draft. US-EPA, GLNOP, 2000.
- [18] AFNOR X31-201, *Qualité des sols : essai d'inhibition de germination de semences par une substance*, 1982, 5 pages.
- [19] ISO 11269-2, *Qualité du sol – Détermination des effets des polluants sur la flore du sol partie 2 : effets des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs*, 1995, 10 pages.
- [20] GUIZ C., *Contribution à l'étude des enzymes du métabolisme azoté chez Phaseolus vulgaris L.*, Ph. D. thèse, Université Nancy I, 1979, 150 pages.
- [21] BEDELL J.-P., *Purification, caractérisation et régulation de la glutamine synthétase racinaire chez le Douglas (Pseudotsuga menziesii). Étude de son activité dans les mycorhizes Douglas/Laccaria bicolor*, Ph. D. thèse, Université Poincaré-Nancy I, 1996, 161 pages.
- [22] BEDELL J.-P., CHALOT M., GARNIER A., BOTTON B., Effects of nitrogen source on growth and activity of nitrogen-assimilating enzymes in Douglas-fir seedlings, *Tree Physiology*, 19, 1998, pp. 205-210.
- [23] BRADFORD M. M., A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72, 1976, pp. 248-254.

- [24] MARSCHNER H., Mineral nutrition of higher plants, 2nd edition, Academic-Press, **2002**, 889 pages.
- [25] MAGGIO A., De PASCALE S., RUGGIERO C., BARBIERI G., Physiological response of field-grown cabbage to salinity and drought stress, *European Journal of Agronomy*, **23 (1)**, **2005**, pp. 57-67.
- [26] VERVAEKE P., LUYSSAERT S., MERTENS J., DE VOS B., SPELEERS L., LUST N., Dredged sediment as a substrate for biomass production of willow trees established using the SALIMAT technique, *Biomass and Bioenergy*, **21**, **2001**, pp. 81-90.
- [27] VANDECASTEELE B., DE VOS B., TACK F. M. G., Heavy metal contents in surface soils along the Upper Scheldt river (Belgium) affected by historical upland disposal of dredged materials, *The Science of the Total Environment*, **290**, **2002**, pp. 1-14.
- [28] TACK F.M., CALLEWAERT O.W.J.J., VERLOO M.G., Metal solubility as a function of pH in a contaminated, dredged sediment affected by oxidation, *Environmental pollution*, **91**, **1995**, pp. 199-208.
- [29] CUARTERO J., FERNANDEZ-MUÑOZ R., Tomato and salinity, *Scientia Horticulturae*, **78 (1-4)**, **1999**, pp. 83-125.
- [30] SMIRMOFF N., STEWART G.R., Glutamine synthetase and ammonium assimilation in roots of zinc-tolerant and non-tolerant clones of *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. and *Anthoxanthum odoratum*, *New Phytologist*, **107**, **1987**, pp. 659-670.

