



**Faculté de Géographie et d'Aménagement
Université de Strasbourg**

*Master 2 Géographie, Aménagement, Environnement et Développement
Parcours Fonctionnement et Gestion des Environnements Ruraux et Naturels*

**CARACTÉRISATION GÉOCHIMIQUE ET ÉCOTOXICOLOGIQUE
D'UNE FRICHE INDUSTRIELLE MULTI-CONTAMINÉE
– AZUR CHIMIE –**

Février 2019 – Juillet 2019

SIEGWALD Laura

Membres du jury :

ERTLEN Damien, enseignant référent

SCHWARTZ Dominique, responsable de master

COMBROUX Isabelle, examinatrice

Encadrants :

AUSTRUY Annabelle, IECP

LAURETTE Julien, CEREGE



Les données, les interprétations et les images présentes dans ce rapport sont la propriété du CEREGE (Aix-Marseille Université, CNRS, IRD, INRA, Coll France), de l'Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions et de l'Université de Strasbourg, libres d'accès et d'utilisation à condition de citer les références du rapport et d'indiquer la source des données, photos, et graphiques.

Il ne sera pas apporté, à la version originale du rapport, de modifications à des fins de diffusion.

L'Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions ne pourra être tenu responsable de toute interprétation réalisée par un tiers et qui n'est pas explicitement détaillée dans ce rapport.

Pour citer ce rapport :

Laura Siegwald. Caractérisation géochimique et écotoxicologique d'une friche industrielle multi-contaminée. CEREGE - Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions - Université de Strasbourg, 87 p.

Remerciements

Je souhaite avant tout remercier le Master Géographie Aménagement Environnement et Développement de Strasbourg et ses responsables, Dominique Schwartz et Christophe Eaux, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce cursus et ce stage ;

Merci à l'Observatoire Hommes-Milieus « Littoral méditerranéen » pour le financement de cette étude ;

Je voudrais également exprimer ma grande reconnaissance à Annabelle Austruy et Julien Laurette pour leur encadrement, leurs conseils, leurs réflexions et leur investissement dans cette étude, mais aussi pour avoir su me rassurer et me redonner confiance lorsque cela a été nécessaire ;

Un grand merci à l'équipe de l'Institut écocitoyen pour la connaissance des pollutions, pour son accueil toujours sympathique et bienveillant ; et l'équipe Environnement Durable du CEREGE pour son écoute et ses conseils avisés. Je remercie Jean-Paul Ambrosi et Catherine Keller pour m'avoir accordé de leur temps et avoir répondu à mes questions, et plus particulièrement Bernard Angeletti, pour sa patience, sa pédagogie et sa sympathie ;

Pour leur amitié, leur bonne humeur et leur soutien, pour les hauts et les bas, je remercie mes collègues de bureau, Glory, Tatiana, Smaïn, Tiffany, Souleyman, Claire et Thomas ;

Enfin je remercie le jury qui me lira : Isabelle Combroux, Damien Ertlen et Dominique Schwartz.

Merci à vous !

Résumé

Au sein des territoires industriels et portuaires du Golfe de Fos, la friche industrielle étudiée présente une contamination multiple, due à un passé industriel chargé : éléments traces (Cd, Pb, Hg, Cu, Zn), composés organiques (PCB, PCDD-F, HAP) dont certains sont des polluants émergents (PBDE). Dans l'optique d'une réhabilitation envisagée par les pouvoirs publics, la toxicité de ce mélange complexe de polluants reste une préoccupation majeure. C'est pourquoi nous avons (i) analysé 2 carottes de sols afin de déterminer la contamination du site en profondeur et le lessivage des polluants dans le profil de sol ou vers les milieux proches, et (ii) mené une étude d'écotoxicologie végétale sur 4 échantillons de sols représentatifs de l'hétérogénéité spatiale des sols de surface et caractérisés par un ou 2 polluants majoritaires.

Tout d'abord, nos résultats suggèrent une première zone d'accumulation rencontrée à environ 50 cm de profondeur (F1-3) ainsi qu'à plus de 2 m de profondeur. Ces contaminations de profondeur peuvent être la conséquence de sources ponctuelles et hétérogènes de pollution provenant de déchets issus de l'utilisation du site comme décharge ménagère avant la mise en place de l'activité industrielle. De plus, la biodisponibilité élevée de ces principaux polluants métalliques présents sur le site entraîne un risque important de transfert de ces contaminants vers la nappe souterraine située à 4 m environ et le milieu marin.

Dans le second aspect de notre travail, la germination, la croissance et les paramètres physiologiques (biomasses, teneurs en pigments chlorophylliens, teneurs en N) du radis (*Raphanus sativus*) et de l'orge (*Hordeum vulgare*) ont été suivis durant 4 semaines. Des signes de toxicité ont été observés dans chacune des 4 conditions. Les 2 espèces ont affiché des réponses sensiblement différentes face aux cocktails de polluants contenus dans les sols testés, mais globalement, les sols A (caractérisé par de fortes teneurs en métaux et en PCDD-F) et D (PBDE) apparaissent moins phytotoxiques que les sols B (HAP) et C (PCB), B étant le sol le plus impactant.

La poursuite de ces travaux (nouvel essai de dilution des sols, mesures de bioaccumulation, analyses statistiques) nous permettra d'affiner nos interprétations quant aux réponses des végétaux et de mieux comprendre le rôle de chacun des polluants dans la toxicité observée.

Abstract

In the industrial-port zone of Fos, the studied industrial wasteland has a multiple contamination, due to a rich industrial history: trace metals (Cd, Pb, Hg, Cu, Zn), organic compounds (PCB, PCDD-F, PAH) some of which are emerging pollutants (PBDE). In the context of a rehabilitation envisaged by the public authorities, the toxicity of this complex mixture of pollutants remains a major concern. For this reason, we (i) analysed 2 soil cores to determine the deep contamination and the leaching of pollutants into the soil profile or to nearby environments, and (ii) conducted a vegetable ecotoxicology study on 4 soil samples representative of the spatial heterogeneity of surface contamination and characterized by one or two major pollutants.

First, our results suggest a first accumulation zone encountered at about 50 cm depth (F1-3) and at more than 2 m depth. These depth contaminations can be the result of point and heterogeneous sources of pollution from wastes resulting from the use of the site as a household waste before the industrial activity. In addition, the high bioavailability of these main metal pollutants present on the site poses a significant risk of pollutant transfer to the groundwater, located in about 4 m depth, and the marine environment.

In the second aspect of our work, germination, growth and physiological parameters (biomass, chlorophyll pigment content, N content) of radish (*Raphanus sativus*) and barley (*Hordeum vulgare*) were monitored for 4 weeks. Signs of toxicity were observed in each of the 4 conditions. The 2 species showed significantly different responses to the pollutant cocktails contained in the soils tested, but overall, soils A (characterized by high levels of metals and PCDD-F) and D (PBDE) appear less phytotoxic than the soils B (PAH) and C (PCB), B being the most impacting soil.

The continuation of this work (new soil dilution test, bioaccumulation measurements, statistical analyzes) will enable us to refine our interpretations of plant responses and to better understand the role of each of the pollutants in the observed toxicity.

Table des matières

<u>Résumé.....</u>	<u>4</u>
<u>Abstract.....</u>	<u>5</u>
<u>Table des illustrations.....</u>	<u>9</u>
<u>Table des Abréviations.....</u>	<u>11</u>
<u>Introduction.....</u>	<u>13</u>
<u>I.État de l’Art.....</u>	<u>15</u>
I.1. Politique nationale française de traitement et de réhabilitation des sols pollués.....	15
I.2. Présentation des principaux polluants.....	18
I.2.1. Mobilité des polluants – généralités.....	18
I.2.2. Éléments Traces Métalliques et Métalloïdes (ETMM).....	19
I.2.3. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).....	22
I.2.4. Substances organochlorées.....	23
I.2.5. Polluants émergents : les dérivés bromés (PBDE).....	26
I.3. Contamination multiple.....	27
I.4. Principes d’écotoxicologie.....	29
I.4.1. Définitions.....	29
I.4.2. Mesures d’évaluation.....	30
I.4.3. Tests normalisés et espèces modèles.....	31
<u>II.Présentation du site étudié.....</u>	<u>33</u>
II.1. Situation géographique.....	33
II.2. Passé industriel.....	34
II.3. Caractéristiques naturelles.....	34
II.4. Études connexes.....	35
<u>III. Distribution verticale des polluants du sol.....</u>	<u>38</u>
II.1. Méthodologie.....	38
III.1.1. Carottage et prélèvement de sol.....	38
III.1.2. Pré-traitement des échantillons de sol.....	39
III.1.3. Calcul du facteur d’enrichissement.....	40

<u>III.2. Description et identification des horizons de sol.....</u>	<u>42</u>
<u>III.3. Paramètres physico-chimiques et concentrations en métaux dans les carottes de sol.....</u>	<u>46</u>
<u>III.3.1. Physico-chimie des horizons de sol.....</u>	<u>46</u>
<u>III.3.2. Concentrations en métaux dans les profils de sol.....</u>	<u>48</u>
<u>IV. Écotoxicité.....</u>	<u>53</u>
<u>IV.1. Méthodologie.....</u>	<u>53</u>
<u>IV.1.1. Sols étudiés.....</u>	<u>53</u>
<u>IV.1.2. Conditions de culture.....</u>	<u>55</u>
<u>IV.1.3. Récolte et pré-traitement des échantillons de végétaux.....</u>	<u>56</u>
<u>IV.1.4. Germination et croissance.....</u>	<u>57</u>
<u>IV.1.5. Analyses des échantillons végétaux.....</u>	<u>58</u>
<u>IV.1.6. Traitements statistiques.....</u>	<u>59</u>
<u>IV.2. Réponse physiologique des plantes à la toxicité des sols.....</u>	<u>60</u>
<u>IV.2.1. Germination.....</u>	<u>60</u>
<u>IV.2.2. Croissance végétale.....</u>	<u>61</u>
<u>IV.2.3. Biomasse végétale.....</u>	<u>62</u>
<u>IV.2.4. Teneurs en pigments.....</u>	<u>65</u>
<u>IV.2.5. Teneurs en azote.....</u>	<u>69</u>
<u>Conclusions et perspectives.....</u>	<u>73</u>

Figures

FIGURE 1 : SITES ET SOLS POLLUÉS RECENSÉS EN FRANCE DÉBUT 2018 (ANTONI ET AL., 2019).....	16
FIGURE 2 : NATURE ET OCCURRENCE DES PRINCIPAUX POLLUANTS PRÉSENTS DANS LES SOLS EN FRANCE, SEULS OU EN MÉLANGE (BASOL, 2008).....	16
FIGURE 3 : MOBILITÉ DES ÉLÉMENTS TRACES ET MÉTALLOÏDES DANS LES SOLS (JUSTE, 1988).....	20
FIGURE 4 : PRINCIPAUX TYPES D'INTERACTIONS OBSERVÉES LORS DE L'ÉTUDE DE MÉLANGES DE COMPOSÉS CHIMIQUES (RIBERA ET TEBERLY, 2011).....	28
FIGURE 5: INTERACTIONS DANS DES MÉLANGES REPRÉSENTATIFS DE DIFFÉRENTES ACTIVITÉS INDUSTRIELLES (A) PAPETIÈRE, (B) CHIMIQUE, (C) TEXTILE, (D) PÉTROLIÈRE (PARVEZ ET AL., 2009).....	29
FIGURE 6 : COURBE TYPE CONCENTRATION/RÉPONSE DES TESTS D'ÉCOTOXICITÉ. CSEO = PLUS FORTE CONCENTRATION POUR LAQUELLE AUCUN EFFET N'A ÉTÉ OBSERVÉ. CMEO = PLUS FAIBLE CONCENTRATION INDUISANT UN EFFET SIGNIFICATIF.....	31
FIGURE 7 : LOCALISATION DU SITE AZUR CHIMIE (13).....	33
FIGURE 8 : TEMPÉRATURES ET PRÉCIPITATIONS MOYENNES À PORT-DE-BOUC SUR LA PÉRIODE 1982-2012 (CLIMATE-DATA.ORG, 2019)....	35
FIGURE 9 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN CONTAMINANTS DANS L'HORIZON DE SURFACE DU SOL D'AZUR CHIMIE ET ÉCART-TYPES (N=21) (CIARLO, 2017 ; AUSTRUY ET AL., 2018).....	36
FIGURE 10 : LOCALISATION DES POINTS DE CAROTTAGE, SITE D'AZUR CHIMIE.....	38
FIGURE 11 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA CAROTTE F1-2.....	42
FIGURE 12 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA CAROTTE F1-3.....	44
FIGURE 13 : CONCENTRATIONS PSEUDOTOTALES ET BIODISPONIBLES DES PRINCIPAUX CONTAMINANTS MÉTALLIQUES (Cd, Pb, Zn, Hg, Cu, Cr) MESURÉES DANS LA CAROTTE F1-2.....	49
FIGURE 14 : CONCENTRATIONS PSEUDOTOTALES ET BIODISPONIBLES DES PRINCIPAUX CONTAMINANTS MÉTALLIQUES (Cd, Pb, Zn, Hg, Cu, Cr) MESURÉES DANS LA CAROTTE F1-3.....	50
FIGURE 15 : CONCENTRATIONS EN BR TOTAL MESURÉES DANS LES CAROTTES F1-2 ET F1-3 (À GAUCHE) ET EN BR LIBRE DANS LA CAROTTE F1-2 (À DROITE).....	52
FIGURE 16 : CARTOGRAPHIE DES DIFFÉRENTS POINTS DE PRÉLÈVEMENT DE SOL.....	54
FIGURE 17 : CINÉTIQUE DE GERMINATION SUR LES DIFFÉRENTS SOLS DE CULTURE CHEZ (A) L'ORGE ET (B) LE RADIS (N=20).....	61
FIGURE 18 : CINÉTIQUE DE CROISSANCE DES FEUILLES D'ORGE PAR CONDITION DE CULTURE (N=20).....	62
FIGURE 19 : BIOMASSE FRAÎCHE MOYENNE DES FEUILLES D'ORGE PAR CONDITION DE CULTURE (N=20).....	63
FIGURE 20 : BIOMASSE MOYENNE DES FEUILLES DE RADIS (VERT) ET DES TUBERCULES (MARRON) PAR CONDITION DE CULTURE. LA MASSE DES TUBERCULES A ÉTÉ DIVISÉE PAR TROIS AFIN DE POUVOIR COMPARER LES DEUX PARAMÈTRES (N=20).....	64
FIGURE 21 : TENEURS EN EAU MOYENNES (EN %) DES FEUILLES D'ORGE (VERT CLAIR) ET DE RADIS (VERT FONCÉ) PAR CONDITION DE CULTURE (N=4).....	65
FIGURE 22 : TENEURS EN CHLOROPHYLLES A, B ET TOTALES EN MG/G DE MF CHEZ (A) L'ORGE ET (B) LE RADIS (N=4).....	66
FIGURE 23 : TENEURS DE CAROTÉNOÏDES EN MG/G DE MF CHEZ (A) L'ORGE ET (B) LE RADIS (N=4).....	68
FIGURE 24 : VALEURS MOYENNES DU RATIO [CHLOROPHYLLE A] / [CHLOROPHYLLE B] POUR CHAQUE CONDITION DE CULTURE (N=4).....	69
FIGURE 25 : CHLOROSE OBSERVÉE SUR LES FEUILLES D'ORGE ET DE RADIS AU JOUR 25 DE CROISSANCE.....	70
FIGURE 26 : TENEURS EN AZOTE TOTAL (%) MESURÉES DANS LES FEUILLES D'ORGE (VERT CLAIR) ET DE RADIS (VERT FONCÉ).....	71
FIGURE 27 : LOCALISATION DES SITES INDUSTRIELS ET ACTIVITÉS DE SERVICE (BASIAS – MAI 2019).....	83
FIGURE 28 : CYCLES DE TEMPÉRATURE ET DE PRESSIION APPLIQUÉ AUX ÉCHANTILLONS PENDANT LA PHASE DE MINÉRALISATION.....	85
FIGURE 29: RÉPONSE PHYSIOLOGIQUE DE L'ORGE CULTIVÉ DANS LES SOLS DILUÉS AVEC TV.....	87

Tableaux

<u>TABLEAU 1 : PRINCIPAUX PARAMÈTRES INFLUENÇANT LA MOBILITÉ DES POLLUANTS DANS LE SOL.....</u>	<u>19</u>
<u>TABLEAU 2 : CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES HAP.....</u>	<u>23</u>
<u>TABLEAU 3 : CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES PCB.....</u>	<u>24</u>
<u>TABLEAU 4 : CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES PBDE.....</u>	<u>27</u>
<u>TABLEAU 5 : CONCENTRATIONS PSEUDO-TOTALES EN PLOMB MESURÉES EN SURFACE DU SITE D'AZUR CHIMIE (CIARLO, 2017).....</u>	<u>36</u>
<u>TABLEAU 6 : FOND PÉDOGÉOCHIMIQUE NATUREL DU TERRITOIRE SITUÉ À L'OUEST DE L'ÉTANG DE BERRE ET SUR LE POURTOUR DU GOLFE DE FOS (AUSTRUY ET AL., 2016).....</u>	<u>41</u>
<u>TABLEAU 7 : CLASSES DÉTERMINÉES POUR LE DEGRÉ DE POLLUTION EN FONCTION DU FACTEUR D'ENRICHISSEMENT (SUTHERLAND, 2000). .</u>	<u>41</u>
<u>TABLEAU 8 : PRÉSENTATION DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES MESURÉS DANS LES HORIZONS DES DEUX CAROTTES.....</u>	<u>46</u>
<u>TABLEAU 9 : CONCENTRATIONS EN CONTAMINANTS ET CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS D'ESSAI.....</u>	<u>55</u>
<u>TABLEAU 10 : DIFFÉRENCES OBSERVÉES AVEC LE TÉMOIN HUMIN POUR CHAQUE CONDITION. LES VALEURS NÉGATIVES SONT LES VALEURS INFÉRIEURES À CELLES DE HUMIN. EN ROUGE SONT MISE EN ÉVIDENCE LES PLUS GRANDS ÉCARTS ET * SIGNIFIE UNE DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE.....</u>	<u>72</u>
<u>TABLEAU 11 : LISTE DES 16 HAP CLASSÉS PRIORITAIRES PAR L'US-EPA.....</u>	<u>84</u>

Table des Abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales
ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie
Cd : cadmium
CE : concentration efficace
CI : concentration inhibitrice
CL : concentration létale
CMEO : Concentration Minimale avec Effet Observé
COT : Carbone Organique Total
Cr : chrome
CSEO : Concentration Sans Effet Observé
Cu : cuivre
DE : dose efficace
DI : dose inhibitrice
DJA : Doses Journalières Admissibles
DJE : Doses Journalières d'Exposition
DL : dose létale
ET : éléments traces
ETMM : Éléments traces métalliques et métalloïdes
FD : facteur de dilution
FE : facteur d'enrichissement
FPNG : fond pédogéochimique naturel
GPMM : Grand Port Maritime de Marseille
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
Hg : mercure
ICP AES : Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy
ICP MS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICPE : Installation classée pour l'environnement
IEM : Interprétation de l'État des Milieux
INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques
MF : masse fraîche
MO : matière organique
MS : masse sèche
Pb : plomb
PBDE : Polybromodiphényléthers (dérivés bromés)
PCB : polychlorobiphényles
PCDD : polychlorodibenzodioxines (dioxines)
PCDF : polychlorodibenzofuranes (furanes)
SIS : Secteurs d'Information sur les Sols
SSP : sites et sols pollués
US-EPA : United States Environmental Protection Agency
Zn : zinc

Introduction

Pendant près de 150 ans, le secteur industriel a évolué avec peu d'attention et de contrôle sur ses émissions et rejets dans l'environnement. Le sol était alors considéré comme une ressource renouvelable, capable d'assimiler sans conséquences les apports de nos activités. Nous savons à présent que leur équilibre est fragile, et que ce patrimoine est menacé, que ce soit par le lourd héritage du passé ou par l'extension des surfaces industrielles (Remon, 2006).

Une gestion efficace des sites et sols pollués est devenue nécessaire face à la diversité des enjeux à protéger. C'est, d'une part, la santé des populations qui peuvent être exposées de manière directe (par inhalation de sol ou de poussières par exemple), ou indirecte (consommation de produits en contact avec le sol) ; mais aussi les ressources et les milieux naturels (DGPR, 2017).

Le Grand Port Autonome de Marseille est le premier port maritime de France et le quatrième d'Europe ; ce qui représente plus de 40 000 emplois en 2013, dont la moitié se concentre à Fos-sur-Mer, Marseille (2^{ème} arrondissement) et Martigues (Artaud *et al.*, 2016). De nombreux sites industriels se trouvent par conséquent dans la zone industrialo-portuaire de Fos, et représentent autant de friches actuelles ou potentielles, dont le diagnostic et la requalification sont un enjeu pour l'avenir (Ciarlo, 2017). En effet, dans la Métropole Aix-Marseille-Provence, la croissance urbaine a tendance à s'étaler plutôt qu'à se densifier. Depuis les années 1990, les espaces urbains ont avancé d'environ 20 %, ce qui a pour conséquence la nécessité de produire de nouveaux logements, services, réseaux de transport, etc. (AGAM, 2017). La reconversion des friches est alors l'opportunité de récupérer des espaces fonciers dans un contexte où la "ville durable" est mise en avant et où le foncier se raréfie.

La politique de gestion des sites et sols pollués prévoit la réalisation d'un diagnostic basé sur des campagnes de mesures dans les milieux susceptibles d'être contaminés. Pour chaque contaminant, les teneurs mesurées sont alors comparées à des valeurs de gestion réglementaires ou à l'état des milieux naturels voisins. En fonction du niveau de contamination par polluant diagnostiqué, la réalisation d'une étude d'Interprétation de l'État des Milieux peut être demandée, accompagnée de la mise en place d'un plan de gestion (DGPR, 2017). Cependant, alors que dans de nombreux cas des contaminations multiples sont rencontrées dans les sols, ces diagnostics ne permettent pas de prendre en considération la problématique de la toxicité et du comportement de ces cocktails de polluants. En effet, certains contaminants peuvent présenter des effets plus toxiques lorsqu'ils sont en présence d'autres contaminants (synergisme), ou inversement, voir leurs effets réduits (antagonisme) (Ribera et Taberly, 2011).

Le site d'Azur Chimie, sur lequel se base cette étude, se trouve à Port-de-Bouc (13) en bordure du Canal de Caronte, qui relie l'Étang de Berre à la mer Méditerranée. Depuis les années

1920, le site a accueilli successivement les déchets municipaux et industriels de la ville, puis divers groupes industriels producteurs, entre autres, de matières plastiques et de dérivés aromatiques bromés. C'est pour ces raisons qu'il fait l'objet d'études depuis 2017, dont le projet Brom'Azur (OHM LM – Labex DRIIHM), dont dépend cette étude. Le projet Brom'Azur est en cours de réalisation, porté par le Laboratoire Chimie de l'Environnement en collaboration avec le CEREGE, deux laboratoires de Aix-Marseille Université, et l'Institut Écociroyen pour la Connaissance des Pollutions. Ces travaux ont d'ores et déjà mis en évidence une multi-contamination hétérogène en surface impactant l'environnement proche (Ciarlo, 2017 ; Austruy *et al.*, 2018 ; Malleret *et al.*, 2019).

Deux problématiques sont inhérentes à cette étude. Dans un premier temps l'objectif est de caractériser la contamination du site en profondeur et de tenter d'en comprendre son origine vis-à-vis de l'historique industriel chargé. Ceci permettra également de compléter les données disponibles en surface, notamment sur les risques d'exposition des différents milieux.

D'autre part, nous nous intéressons à l'écotoxicité des polluants présents en surface. En effet, la problématique des effets toxiques de cocktails complexes est relativement récente, et les interactions sont assez mal connues dès qu'il s'agit de mélanges en présence de plus de deux contaminants. Nous cherchons donc à savoir si des effets synergiques ou antagonistes peuvent être mis en évidence vis-à-vis de végétaux cultivés sur plusieurs sols de la friche, caractérisés par des concentrations en polluants hétéroclites. Pour cela nous observerons les réponses physiologiques et l'accumulation des polluants chez ces végétaux.

I. État de l'Art

I.1. Politique nationale française de traitement et de réhabilitation des sols pollués

En France, c'est dans les années 1950 que l'on a commencé à prendre conscience des problématiques environnementales, notamment à cause des problèmes de santé publique. La réglementation a tout d'abord ciblé les enjeux liés à l'eau, avec la création des Agences de l'Eau en 1964 ; mais ce n'est qu'à la fin des années 1990 que la politique de gestion des sites et sols pollués s'est développée. Depuis, des normes et des lois ont été édictées pour encadrer la problématique des sites et sols pollués (Blondel, 2014). Leur gestion s'appuie principalement sur la législation des installations classées (ICPE).

Le principe retenu est celui d'une gestion prenant en compte la balance entre usage du site et risque potentiel ; il convient donc de réaliser une étude au cas par cas (Portet, 2004). Deux outils sont alors mis en place :

- La démarche d'interprétation de l'état des milieux (IEM) ;
- L'élaboration d'un plan de gestion.

Dans un premier temps, l'IEM permet de constater quels sont les milieux nécessitant des actions simples de gestion, et quels sont ceux qui nécessitent la mise en œuvre d'un plan de gestion. Pour se faire, les résultats des diagnostics (principalement des concentrations totales et lixiviables en polluants) sont comparés avec les valeurs de gestion en vigueur, l'état initial de l'environnement et des référentiels locaux (DPGR, 2017). Des méthodes géophysiques sont également employées, telles que la résistivité électrique, l'électromagnétisme ou l'utilisation de géoradar (radar à pénétration de sol) (Blondel, 2014). Un plan de gestion est ensuite mis en place, visant à "définir une stratégie de gestion à appliquer en vue de la réalisation des travaux dans une phase ultérieure" (DPGR, 2017).

En 1993, la France met en place la base de données BASIAS, un inventaire historique de Sites Industriels et Activités de Service, permettant de recenser tous les sites industriels, qu'ils soient en activité ou non, susceptibles d'engendrer une pollution. La base de données BASOL, sur les sites et sols pollués ou potentiellement pollués est mise en place en 1999 et reste actualisée de manière permanente. Elle permet, d'une part, d'informer les collectivités et les citoyens et, d'autre part, de pouvoir gérer les risques par des actions de mise en sécurité du site ou bien de restriction des usages possibles. En 2014, la loi pour l'Accès au Logement et un Urbanisme Rénové (ALUR)

est venue renforcer la politique française de gestion des sites et sols pollués, en prévoyant l'élaboration des Secteurs d'Information sur les Sols (SIS). Les SIS s'appliquent aux sites pollués qui pourraient présenter des risques, notamment en cas de changement d'usage. Ils ont pour but une meilleure information des populations mais aussi de garantir la compatibilité entre les usages potentiels et l'état des sols, pour préserver la sécurité, la santé et l'environnement. Ainsi, dans un contexte où l'étalement urbain est important, un aménagement sur un terrain répertorié sur un SIS nécessitera obligatoirement la présentation d'une attestation garantissant la prise en compte de l'état du sol (source : georisques.gouv.fr).

En France, plus de 310 000 sites industriels et activités de services sont recensés en 2019 (BASIAS), dont 85 000 toujours en activité. Historiquement, les régions les plus industrialisées sont les régions Rhône-Alpes, Île-de-France, Midi-Pyrénées, Nord-Pas-de-Calais, Alsace-Lorraine et Provence-Alpes-Côte d'Azur ; rejoints de nos jours par la région Pays-de-la-Loire (Annexe 1). Parmi les sites recensés, la France en compte 6800 pollués, appelant une action des pouvoirs publics (Antoni *et al.*, 2019) (Figure 1). Les principaux polluants sont présentés sur la Figure 2, et ceux présents dans cette étude seront explicités au paragraphe I.2.

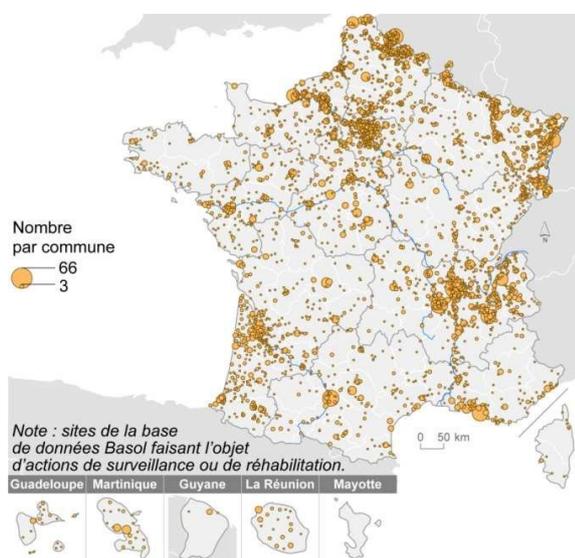


Figure 1 : Sites et sols pollués recensés en France début 2018 (Antoni *et al.*, 2019).

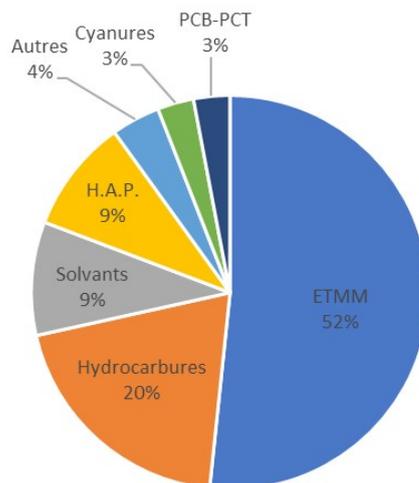


Figure 2 : Nature et occurrence des principaux polluants présents dans les sols en France, seuls ou en mélange (BASOL, 2008).

La nécessité d'établir une gestion des SSP découle d'une multiplicité des enjeux à protéger. La Direction Générale de la Prévention des Risques (2017) précise que les polluants couramment retrouvés peuvent avoir des effets à long terme sur la santé humaine, qu'il s'agisse d'effets systémiques (altération des reins, du foie, etc.), cancérigènes ou toxiques pour la reproduction.

L'exposition à des polluants peut être :

- Directe :
 - o inhalation ou ingestion de poussières ou de gaz provenant des sols et des eaux souterraines ;
 - o contact cutané de sols, de poussières, ou de produits de consommation.
- Indirecte :
 - o consommation de végétaux ou de produits animaux eux-mêmes en contact avec des sols, des poussières ou des eaux contaminées.

Ainsi, pour préciser le risque, il est possible d'évaluer les Doses Journalières d'Exposition (DJE), qui correspondent à la quantité de polluants ingérée par la cible en une journée. En comparant les DJE avec les Doses Journalières Admissibles (DJA), qui désignent les doses maximales des substances qu'un individu puisse ingérer sans risque pour la santé, il est possible de calculer l'indice de risque (Ciarlo, 2017).

$$\text{Indice de risque} = \frac{DJE}{DJA}$$

Si le résultat est supérieur à 0.2, cela signifie la présence potentielle d'un risque.

Pour certains polluants tels que le plomb (Pb), le mercure (Hg) ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP - cf. I.2.3), les dangers pour la santé humaine sont assez connus. Ils peuvent s'attaquer au système cardiovasculaire, reproductif (effets germinaux), aux reins ou encore aux poumons et ont un effet cancérigène reconnu. En revanche, les polluants émergents tels que les composés bromés ont des effets toxiques assez peu connus vis-à-vis de l'Homme. Depuis 2014, la Commission européenne a demandé aux États membres de contrôler la présence des retardateurs de flamme bromés dans les denrées alimentaires, notamment des polybromodiphényléthers (PBDE), car ils sont suspectés d'avoir des effets neurocomportementaux et d'induire une perturbation du système endocrinien (CE, 2014).

La ressource en eau peut également être dégradée, ponctuellement ou non, ce qui impacterait alors la qualité de l'eau potable mais aussi la biodiversité. Au-delà de la problématique sanitaire, les pollutions entraînent la modification de l'équilibre naturel des sols : ceux-ci peuvent être déstructurés (déficit d'agrégation, tassement), affaiblis en éléments minéraux indispensables (N, P, K, etc.), présenter des difficultés à retenir l'eau ou encore voir leur composition en ions perturbée. On observe alors une sélection des espèces pionnières ou invasives et une unification de la faune : les écosystèmes naturels se trouvent modifiés (ADEME, 2014).

I.2. Présentation des principaux polluants

« L'aptitude d'une substance à contaminer l'environnement dépend de ses propriétés physicochimiques, de son comportement dans les différents milieux environnementaux, de sa capacité à séjourner dans ces milieux et à s'accumuler ou à se transformer dans les organismes vivants » (Buckenmeier et al., 2010). Parmi les polluants d'intérêt, tous n'ont pas été étudiés dans les mêmes proportions. Tandis que leur comportement est bien déterminé, leurs effets phytotoxiques sont parfois peu étudiés. Ceci peut s'expliquer par le fait que certaines substances aient été synthétisées relativement récemment et que la priorité soit mise sur la toxicologie humaine, c'est-à-dire sur les risques pour la santé de l'Homme.

I.2.1. Mobilité des polluants – généralités

Dans les sols contaminés, les polluants sont rarement statiques. Ils peuvent être transférés verticalement (percolation) ou horizontalement (lessivage superficiel ou circulation des nappes phréatiques) vers les eaux ou terres avoisinantes (Bonnard, 2010).

La mobilité des polluants dans le sol se caractérise par leur aptitude à passer dans les compartiments où ils sont les moins énergiquement retenus. Elle dépend à la fois de la nature du sol, mais également de celle des polluants. En effet, les paramètres physico-chimiques du sol influencent directement la mobilité des espèces chimiques : un changement dans ces paramètres peut faire passer un polluant d'une forme à une autre. La spéciation chimique, c'est-à-dire la distinction entre les différentes formes de liaisons possibles d'un élément dans un environnement donné (Sigg *et al.*, 1992), est donc un paramètre primordial qui « contrôle la migration, la biodisponibilité et la toxicité des éléments chimiques dans les eaux, les sols et les sédiments ». Elle résulte des interactions qu'il y a entre les solutés, les surfaces minérales et les substances organiques et biologiques (Qasim, 2015).

De plus, il est reconnu que la toxicité des espèces chimiques ne dépend pas seulement de leur concentration totale dans les sols, mais également de leur forme chimique, qui détermine leur biodisponibilité. La biodisponibilité est une notion primordiale qui se définit comme le « degré auquel des substances chimiques présentes dans le sol peuvent être adsorbées ou métabolisées par un récepteur humain ou écologique, ou être disponibles pour une interaction avec les systèmes biologiques » (RECORD, 2012). En d'autres termes, elle peut être considérée comme la disponibilité d'un contaminant dans les sols, vis-à-vis des organismes, et elle est déterminée par les conditions environnementales et les propriétés physico-chimiques d'un polluant. Un polluant biodisponible est alors susceptible de s'accumuler dans les organismes et d'avoir une action toxique au cours du temps. La bioaccumulation correspond à l'augmentation de la concentration dans

l'organisme par rapport à sa concentration dans le milieu (INERIS, 2014). Les principaux paramètres influençant la mobilité des polluants sont résumés dans la Figure 3.

Tableau 1 : Principaux paramètres influençant la mobilité des polluants dans le sol.

Sol (DGPR, 2017)	Polluants (Lemière <i>et al.</i> , 2008)
Équilibre eau-air. En cas de déficit d'air, il peut y avoir dégradation de certaines molécules toxiques (réactions anaérobies).	Solubilité dans l'eau. Influe sur la tendance à être lessivé.
Granulométrie. Influe sur le drainage ou la rétention d'eau.	Densité et viscosité. Contrôlent la vitesse d'infiltration et d'écoulement dans le sous-sol.
Teneur et composition en matière organique. Influe sur la rétention des polluants.	Stabilité. Reflète les potentialités de persistance dans l'environnement.
pH. Influence la spéciation des polluants.	Polarité (K_{ow}). Influe sur la fixation dans le sol et sur la matière organique du milieu.
	Volatilité. Influe sur la migration/élimination dans le sol.

Le coefficient de partage n-octanol/eau, appelé K_{ow} est défini uniquement pour les polluants organiques et permet de définir la polarité des composés. Celle-ci influence la manière dont un composé peut être mobilisé par l'eau de pluie ou dont il est extrait lors d'opérations de dépollution. Plus $\log K_{ow}$ est petit, plus la substance est polaire, et inversement. Une substance polaire est hydrophile, tandis qu'une substance apolaire est hydrophobe et aura tendance à s'associer aux phases solides. Elle influe également sur sa biodisponibilité et son potentiel de bioaccumulation (Lemière *et al.*, 2008).

I.2.2. Éléments Traces Métalliques et Métalloïdes (ETMM)

Origine

Les éléments traces métalliques et métalloïdes (ETMM) regroupent 80 éléments chimiques, constituants de la croûte terrestre. Naturellement, ils représentent à eux seuls 0,6% du total de la croûte terrestre, tandis que les 12 éléments majeurs représentent le reste (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, Ti, H, P, Mn) (Baize et Paquereau, 1997). Parmi les éléments métalliques et métalloïdes,

certains sont essentiels pour la respiration, la photosynthèse, ou encore dans des processus moléculaires (croissance, synthèse de protéines...), comme le zinc (Zn) ou le cuivre (Cu). Cependant ces oligoéléments essentiels deviennent toxiques lorsqu'ils sont retrouvés à forte concentration. D'autres éléments traces (ET) n'ont pas de fonction biologique connue et sont toxiques même à très faible concentration (par exemple le plomb ou le cadmium).

Certains phénomènes naturels, tels que le volcanisme, les incendies ou les embruns marins sont à l'origine d'un enrichissement significatif de ces teneurs, mais ce sont surtout les activités anthropiques (stockage de déchets, agriculture, industries, extractions de minerais...) qui y contribuent. La pollution des sols par les ET est devenue un problème majeur de notre époque car ces activités ont conduit à la formation de stocks potentiellement toxiques pour l'environnement (Qasim, 2015). En effet, ils sont omniprésents dans les milieux aquatiques et terrestres, et l'évaluation de leurs risques pour l'environnement est donc un domaine de recherche actif (ULSOP, 2009). Compte tenu des méthodes d'analyses performantes disponibles aujourd'hui, la contamination des sols en métaux a fait l'objet d'un plus grand nombre d'études que les contaminants organiques. En effet, les métaux ne se dégradent pas mais se transforment, ce qui les rend plus simples à appréhender du fait de l'absence de produits de biodégradation (Bonnard, 2010).

Comportement

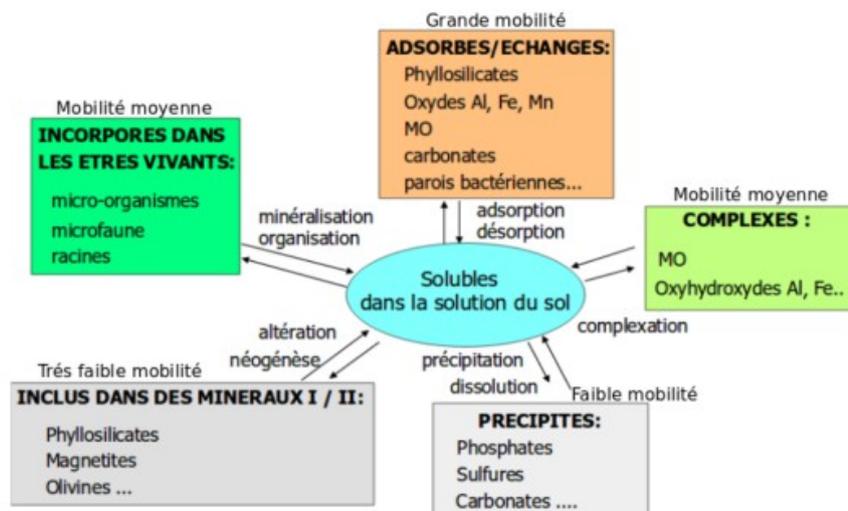


Figure 3 : Mobilité des éléments traces et métalloïdes dans les sols (Juste, 1988).

Le comportement des ETMM dans l'environnement et dans les organismes dépend de l'état dans lequel ils se trouvent et de leur fractionnement dans le sol. Ils peuvent précipiter, souvent sous forme d'hydroxydes, de carbonates ou encore de phosphates, auquel cas leur mobilité sera relativement faible ; être adsorbés à une surface, où ils seront plus mobiles ; ou être complexés à la

matière organique du sol, ce qui leur offre une mobilité moyenne (Ciarlo, 2017) (Figure 4). C'est dans la solution du sol (phase liquide) que les métaux sont retenus le moins énergiquement. Les processus de transfert entre le sol et la solution du sol dépendent à la fois du type de liaison entre les espèces chimiques et le sol et des conditions physico-chimiques du milieu (Remon, 2006).

Un grand nombre d'études a démontré que le risque toxique résultait en réalité principalement de la fraction biodisponible des ETMM, plutôt que de leur concentration totale (Adriano, 2001). C'est sur quoi se base le modèle FIAM (free-ion-activity model), destiné à décrire les interactions déterminant l'absorption et la toxicité des ETMM.

Toxicité

La phase liquide du sol représente le principal réservoir d'alimentation hydrominérale des végétaux et de la faune du sol. En dépit du caractère essentiel pour le vivant connu pour de nombreux métaux, ils sont tous considérés comme toxiques à partir d'un certain seuil.

Remon (2006) a étudié les transferts des métaux vers la plante. Tout d'abord, les métaux sont absorbés via les racines, généralement de manière passive (non spécifique). Lorsque le transport est actif, il est possible que des cations toxiques soient des compétiteurs vis-à-vis des cations essentiels (par exemple Cd compétiteur connu de Ca, As compétiteur de P). Après avoir été absorbés, les éléments se dirigent vers les parties aériennes via le xylème (translocation), qui permet la circulation de la sève brute (eau et sels minéraux). La fixation des éléments chimiques aux cellules de la plante dépend de leur affinité pour les pectines, des substances contenues dans les parois cellulaires végétales : $Pb > Cu > Cd > Zn$ (Souguir, 2009). Les transferts peuvent également s'effectuer par voie aérienne via les retombées atmosphériques qui pénètrent par absorption foliaire, principalement à travers les stomates (Xiong *et al.*, 2014).

Chez certaines espèces, il peut y avoir une hyper-accumulation des métaux dans les parties aériennes. Ainsi, différentes stratégies ont été définies chez les plantes en fonction de leur capacité d'accumulation : végétaux excluants, indicateurs, accumulateurs ou hyperaccumulateurs. Ces stratégies sont utilisées par les plantes pour tolérer, transporter et accumuler les polluants métalliques en excès dans le sol et ainsi réduire leur toxicité (Baker, 1981).

L'un des premiers effets toxiques des métaux observable chez les végétaux est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, lésions nécrotiques, repliement ou dessèchement du feuillage (Remon, 2006). Ceci s'explique par le fait que les métaux nuisent à l'absorption et au transport des éléments nutritifs essentiels, ce qui vient perturber le fonctionnement normal du métabolisme et impacte la croissance et la reproduction (Cheng, 2003).

Par exemple, le taux de germination et la croissance de l'orge diminuent lorsqu'il y a une pollution en Cd, proportionnellement aux concentrations et à la durée d'exposition (Zhang, 1997). Le cadmium peut également causer une réduction de la croissance et un brunissement des racines, ainsi qu'un enroulement des feuilles (Souguir, 2009). Une étude sur le riz a également montré que Cd avait un effet différent suivant le stade de croissance de la plante. Au stade précoce, il inhibe photosynthèse et croissance, puis la différenciation des organes reproducteurs et finalement le transport des nutriments. Les racines, les semis ou encore la capacité d'absorption de l'eau peuvent également être endommagés, en fonction des espèces considérées.

Jiang *et al.* (2000) et Muller *et al.* (2001) ont montré une inhibition de la croissance racinaire chez *Helianthus annuus* et *Thypha latifolia*, s'accompagnant, dans le premier cas, d'une chlorose foliaire. Le cuivre viendrait interférer avec le métabolisme cellulaire, c'est-à-dire l'élongation ou la division cellulaire. En revanche, à faible concentration, des métaux tels que le mercure ou l'uranium pourrait stimuler la croissance (Cheng, 2003) ou la germination (Laurette, 2011) : c'est l'effet d'hormèse. L'hormèse est le phénomène de stimulation observé à faibles doses, qui serait la conséquence d'une réponse adaptative des systèmes biologiques face aux agents toxiques (*ibid.*).

La mobilité et la phytotoxicité des éléments traces sont donc spécifiques aux espèces chimiques et végétales considérées. Les exemples sont multiples et il apparaît compliqué de formuler des généralités.

I.2.3. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

Origine

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques neutres et apolaires, considérés comme des substances dangereuses prioritaires par la Directive Cadre sur l'Eau (2000/60/CE) (Brignon *et al.*, 2004). En effet, leur effet cancérigène a été démontré par de nombreuses études, notamment sur les populations de travailleurs exposés (Bonnard, 2010). Ils peuvent être d'origine naturelle, issus de la roche, des incendies de forêts, ou formés par la biosynthèse de la matière organique (minoritaires) ; mais la source principale est d'origine anthropique, liée à l'industrie chimique et pétrolière, la sidérurgie, les moteurs à combustion, etc.

Parmi les 130 HAP identifiés à ce jour, 16 sont généralement pris en compte lors des études environnementales, considérés comme prioritaires par l'United States Environmental Protection Agency (US-EPA) (Annexe 2).

Comportement

Les sols constituent un réservoir majeur pour les HAP : ces derniers s'accumulent sur les particules solides, les argiles et sont plus particulièrement piégés dans la structure de la matière organique, ce qui réduit leur potentiel de désorption (Le Bihanic, 2013). De plus, la partie des HAP fixée sur la matrice fine du sol n'est pas accessible aux microorganismes dégradants. La mobilité augmente pour les HAP de plus faible poids moléculaire (INERIS, 2005). Les caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans la Figure 5.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des HAP.

Solubilité	Faible à très faible
Densité	Forte, immiscibles à l'eau
Stabilité	Biodégradable si milieu suffisamment aérobie
Polarité	Apolaire ($3 < Kow < 7$)
Volatilité	Semi-volatils

Toxicité

Après exposition à des sols dopés, l'inhibition de la germination et de la croissance de plusieurs espèces végétales a été observée, tout comme l'apparition de chlorose, des diminutions de l'activité photosynthétique et des stress hydriques, (*Festuca arundinacea*, *Medicago sativa*, *Sorghum vulagre* et *Panicum virgatum*) (Reilley *et al.*, 1996 ; Chaineau *et al.*, 1997).

Dans leur étude sur 17 espèces végétales exposées aux 16 HAP classés prioritaires, à des concentrations proches de 150 mg/kg, Henner *et al.* (1999) ont montré que l'orge, le maïs et le ray-grass n'étaient pas affectés par la contamination en présence, tandis que les dicotylédones présentaient une inhibition de la germination à des taux compris entre 15 et 40%. Smith *et al.* (2006) ont montré que la germination pouvait ne pas être affectée, alors que c'était le cas pour la croissance. Ces différences peuvent être expliquées par les différences de conditions expérimentales, que ce soit les propriétés du sol ou le moment de la contamination (Dupuy, 2014). Une biomasse moins importante est souvent accompagnée de modifications morphologiques du système racinaire, mais l'intensité des effets observés dépend de l'espèce végétale considérée, du polluant et du temps d'exposition (*ibid*).

Il ressort de ces études que les espèces testées ont une sensibilité différente à la présence des HAP dans le sol de culture, avec par exemple une sensibilité plus grande chez les Fabacées que chez les Poacées. Par ailleurs, la croissance racinaire serait davantage affectée que la croissance foliaire (Bonnard, 2010).

I.2.4. Substances organochlorées

I.2.4.1. Polychlorobiphényles (PCB)

Origine

Les PCB sont de formule générale $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$. Il en existe 209 différents, ayant entre 1 et 10 atomes de chlore. La convention de Stockholm les classe comme des polluants organiques persistants et ils sont également qualifiés de micropolluants, car leurs effets toxiques se font sentir sur l'environnement à très faible concentration (Brunet, 2017).

La présence de PCB dans l'environnement est uniquement due à l'activité anthropique : avant l'interdiction de leur mise sur le marché en 1987, ils étaient utilisés en tant qu'additifs dans des vernis, colles, pesticides ou encore comme isolant électrique grâce à leur résistance aux hautes températures (Abbes *et al.*, 2010). Souvent sous forme d'un liquide huileux, leur toxicité varie selon les congénères et les milieux.

Comportement

Très stables à la chaleur, les PCB ne se décomposent qu'à des températures dépassant 1000°C. Leur inertie chimique les rend peu sensibles aux acides, bases et oxydants, d'où leurs différentes utilisations. Ce sont des polluants ubiquitaires et persistants, ayant une demi-vie allant de 94 jours à 2700 ans selon les molécules. En général, les molécules les plus chlorées sont celles qui sont le mieux adsorbées dans le sol car elles ont moins tendance à lixivier.

Les PCB, peu solubles et volatils, sont donc très persistants et aucun mécanisme de dégradation important n'a été mis en évidence dans les eaux naturelles et les systèmes pédologiques (FAO, 2000 ; Chahal, 2008). Ainsi, ils sont encore largement retrouvés dans l'environnement, y compris dans les zones reculées (Abbes *et al.*, 2010). Les caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans la Figure 6.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des PCB.

Solubilité	Faible à très faible
Densité	Forte
Stabilité	Non biodégradable
Polarité	Non polaire ou peu polaires ($3.2 < Kow < 7.2$)
Volatilité	Semi-volatils
Viscosité	Moyenne à élevée

Toxicité

Le transfert des PCB vers les végétaux peut se faire de différentes manières : (i) prélèvement depuis le sol par les racines. Ce mécanisme est limité en raison de la faible mobilité des molécules et de leur taille, limitant le passage des barrières racinaires ; (ii) absorption au niveau de l'épiderme via l'exposition atmosphérique. C'est la voie de transfert la plus significative (Chahal, 2013).

Les plantes supérieures peuvent accumuler voire métaboliser les PCB. Plusieurs études ont montré un effet phytotoxique modéré, en fonction de l'espèce et du congénère (Subramanian, 2017). Par exemple, Weber et Mrozek (1979) ont rapporté une inhibition de la croissance de 27 % chez le soja contre 3 % de stimulation chez la fève, en présence de PCB à une concentration de 10 mg/l. Chez *Aribidopsis thaliana*, les PCB n'ont pas montré de toxicité significative vis-à-vis du taux de germination, à des concentrations variant de 0 à 100 mg/l (Subramanian, 2017).

I.2.4.2. Dioxines (PCDD) et Furanes (PCDF)

Origine

Rendus célèbres par l'accident de Seveso (Italie) en 1976, les polychlorodibenzodioxines (PCDD) et polychlorodibenzofuranes (PCDF), dits les dioxines et les furanes, sont toujours un sujet de préoccupation en France. L'Organisation Mondiale de la Santé les considère comme des polluants organiques persistants dans l'environnement, très toxiques et pouvant causer de graves problèmes de santé. Ils sont généralement produits par des phénomènes thermiques, tels que l'incinération de déchets ou la combustion d'essence plombée (Barriuso *et al.*, 1996). La sidérurgie et la métallurgie, très présentes sur le Golfe de Fos, sont les principales activités industrielles qui émettent ces substances en France. Tout comme pour les PCB, dont ils peuvent être des composés secondaires, il existe de nombreux congénères : 75 dioxines et 135 furanes. Leurs différences résident sur le nombre et la position des atomes de chlore (Roulier, 2015).

Comportement

Ces deux familles de composés, regroupés sous le nom générique de "dioxines" sont très stables, peu solubles dans l'eau, mais ont un fort potentiel de bioaccumulation (BRGM, 2008). En effet, leur caractère lipophile ($K_{ow} > 6$) fait qu'ils sont retenus sur la matière organique du sol et difficilement lessivés, même lors de fortes pluies. Ainsi, la biodisponibilité est fonction de la teneur en matière organique du sol. Par ailleurs, une source d'élimination peut être la volatilisation ou la photodégradation, mais cela se restreint à la surface du sol et aux composés faiblement chlorés (Roulier, 2015).

Toxicité

De nombreuses études sur les effets des PCDD-F existent, mais celles-ci sont centrées sur la santé humaine et animale. Les effets des PCDD-F sur les végétaux restent encore à décrire, et l'attention est aujourd'hui portée sur les mécanismes d'absorption plutôt que sur les effets toxiques. Bien qu'ayant aucun rôle métabolique connu, les dioxines peuvent être absorbées et accumulées dans les tissus végétaux, notamment via les parties aériennes (Hanano *et al.*, 2018). Hanano *et al.* (2014) ont montré que chez *A. thaliana*, les PCDD-F induisaient un plus faible taux de germination, une perte de biomasse aérienne et de chlorophylle, mais une augmentation de la biomasse du système racinaire secondaire.

I.2.5. Polluants émergents : les dérivés bromés (PBDE)

Origine

De formule générale $C_{12}H_{10n}Br_nO$, les polybromodiphényléthers (PBDE) sont utilisés en tant que retardateurs de flamme dans différents matériaux grâce à leur propriété ignifuge. Ceux-ci empêchent le départ du feu et retardent sa propagation, ce qui est à l'origine d'une diminution des incendies résidentiels ces dernières décennies. Leur présence dans l'environnement est uniquement due à l'activité anthropique car ce sont des composés synthétiques, utilisés en remplacement des PCB (Buckenmeier, 2010). Il en existe plus de 209 congénères, dont trois principalement commercialisés. Deux d'entre eux (pentaBDE et octaBDE) sont interdits en Europe depuis 2004 et le troisième (decaBDE) est soumis à la réglementation REACH.

Comportement

Dans les sols et sédiments, les PBDE ont tendance à se fixer à la fraction organique des particules. C'est dans ce compartiment que l'on en retrouve la majeure partie, et leur adsorption augmente avec le nombre d'atomes de brome (Buckenmeier, 2010). Une fois adsorbés aux particules solides, les PBDE sont peu mobiles, mais peuvent tout de même migrer dans certains types de sols (percolation, ruissellement ou lessivage). Leur élimination dans la nature est favorisée par l'exposition des sols et des sédiments aux conditions environnementales, mais leur transformation en congénères moins bromés et autres sous-produits s'effectue lentement (Beaumier, 2014). Les caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans la Figure 7.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des PBDE.

Solubilité	Très faible
Densité	Très élevée
Polarité	Apolaire ($6 < Kow < 7$)
Viscosité	Très forte

Toxicité

Une fois encore, bien que la recherche concernant la toxicité des PBDE ait progressé, elle s'est surtout intéressée aux effets sur les espèces aquatiques et les mammifères. Par exemple, des dangers létaux ont été rapportés sur *Daphnia magna* (la puce d'eau), *Palaemonetes pugio* (la crevette) et *Scophthalmus maximus* (le turbot) pour respectivement $CL_{50}=7,9 \mu\text{g/l}$, $24\mu\text{g/l}$ et $14 \mu\text{g/l}$ (Beaumier, 2014).

En 2014, Xu (2014) écrit qu'à sa connaissance "aucune étude n'a été menée sur leur toxicité sur les plantes terrestres". Cependant, leur étude a démontré une inhibition de la germination des graines et du développement des plantules de maïs, ainsi que des dommages causés à l'ADN par trois congénères.

I.3. Contamination multiple

Au fil du temps, de nombreuses connaissances ont été acquises sur la description et la caractérisation des effets à la suite d'une exposition à une substance toxique. Cela s'est avéré nécessaire et utilisé dans les textes réglementaires pour la gestion des risques. Cependant, de nombreuses réglementations se basent uniquement sur les effets des substances agissant de manière isolée (Badot, 2012). C'est seulement depuis les années 2000 que la communauté scientifique s'est intéressée aux interactions entre plus de 2 espèces chimiques, alors que le milieu naturel est très souvent soumis à plusieurs contaminants (ULSOP, 2009).

Afin de prédire les effets toxiques des mélanges de polluants, on utilise des modèles de référence basés sur l'action connue des contaminants un à un. Ces modèles d'addition ou d'indépendance permettent de mieux appréhender la toxicité des mélanges « *a priori* ». Cependant, on estime que dans 20 à 40 % des cas, il y existe des interactions entre contaminants, et les prédictions des modèles se retrouvent biaisées. Cela peut mener à des décisions de gestion qui majorent ou minorent les risques liés à la pollution du site (Badot, 2012).

Entre deux composés, il peut y avoir soit une non-interaction, c'est-à-dire une simple additivité des concentrations ou des réponses, soit une interaction (Figure 8). Dans le second cas, l'effet du mélange peut être supérieur (**synergisme**) ou inférieur (**antagonisme**) à celui attendu sur la base de l'additivité simple (Ribera et Taberly, 2011).

Plusieurs facteurs entrent en jeu dans les interactions entre substances chimiques (Ribera et Taberly, 2011) :

- La durée et la fréquence d'exposition. Un effet peut être synergique les premiers jours puis simplement additif par la suite ;
- L'organisme testé. Les effets peuvent différer d'une espèce à une autre ;
- Le ratio entre les substances ;
- L'ordre suivant lequel les substances entrent dans le mélange ;
- La vulnérabilité du milieu.

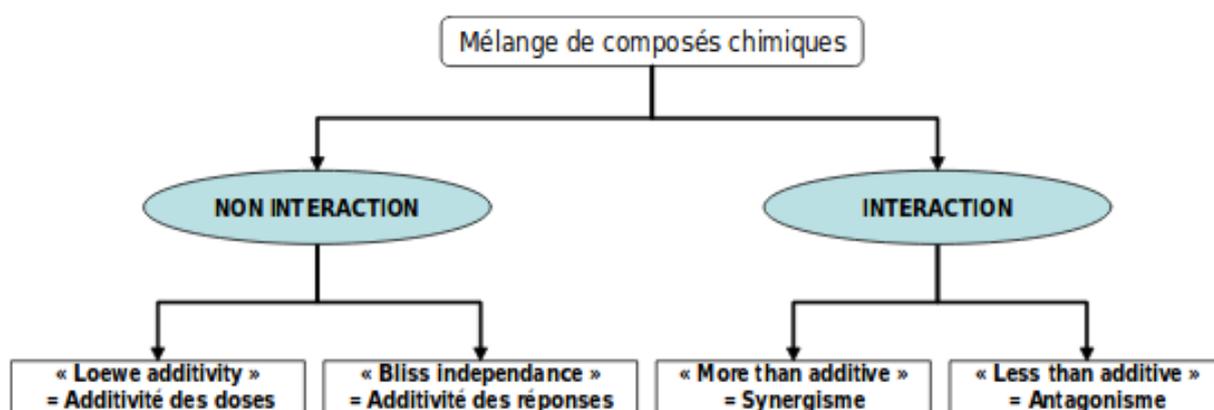


Figure 4 : Principaux types d'interactions observées lors de l'étude de mélanges de composés chimiques (Ribera et Teberly, 2011).

Norwood *et al.* (2003) ont évalué 191 études sur les mélanges de métaux. Parmi elles, seulement 35 ne concernaient pas des mélanges binaires. Dans 27 % des cas, ils ont observé un phénomène d'additivité strict, dans 30 % des cas du synergisme et dans 43 % des cas de l'antagonisme. Cependant, pour des mêmes mélanges, des phénomènes contraires peuvent être observés. Chapman (2008) a déclaré qu'il n'était pas possible actuellement de prédire précisément les interactions entre métaux.

S'ajoute au faible nombre d'études portant sur des mélanges complexes le fait que ces études soient généralement dédiées à des substances ayant des structures ou des modes d'action similaires. Cependant, il existe des travaux sur les mélanges industriels qui ont montré que le principe d'additivité se vérifie lorsque le mélange devient plus complexe, indépendamment du mode d'action des substances (Ribera et Taberly, 2011). De plus, De Zwart et Sloof (1987) ont

évalué des mélanges d'hydrocarbures (dont les HAP), d'alcools, d'amines et de métaux dont les effets sur la daphnie étaient généralement additifs. De même, de nombreux travaux ont montré des réponses similaires, que ce soit sur des algues, des bactéries ou des poissons (Ribera et Taberly, 2011). En revanche, Parvez et al. (2009) ont également constaté des effets antagonistes de mélanges de composés organiques représentatifs des industries chimiques, textiles ou pétrolières (27 à 67 % des cas) (Figure 9).

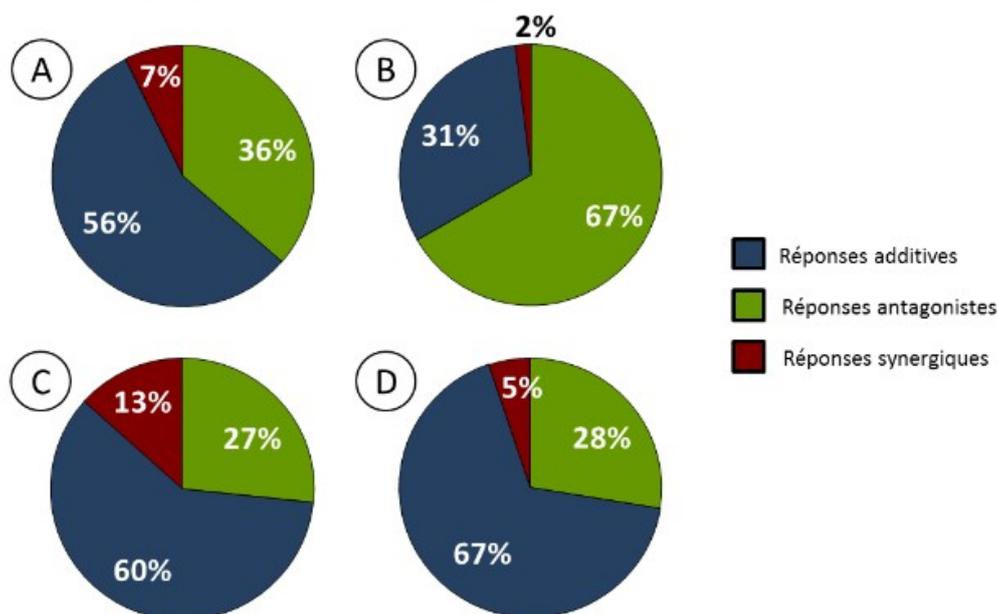


Figure 5 : Interactions dans des mélanges représentatifs de différentes activités industrielles (A) papetière, (B) chimique, (C) textile, (D) pétrolière (Parvez et al., 2009).

I.4. Principes d'écotoxicologie

Après avoir cerné les propriétés importantes des sols et des polluants, il est primordial de s'intéresser à leur toxicité environnementale et aux dégradations que peuvent subir les écosystèmes. C'est le rôle de l'écotoxicologie, dont nous allons ici définir les principales notions.

I.4.1. Définitions

L'écotoxicologie est une discipline relativement récente, située à l'interface entre l'écologie et la toxicologie. Elle est définie en 1977 par François Ramade comme étant l'étude des agents

polluants produits par l'activité humaine ; mais aussi leurs mécanismes d'actions et effets sur les êtres vivants qui peuplent la biosphère. L'écotoxicologie a donc pour but de répondre aux questions concernant l'impact des polluants sur les écosystèmes et de rendre accessibles et exploitables des outils pour les décideurs politiques et les gestionnaires de milieux naturels (Fritsch, 2010).

L'évaluation de l'écotoxicité de polluants vient en complément des analyses physico-chimiques du milieu, qui suffisent rarement à définir leur dangerosité. Pour se faire, des tests sont réalisés, outils qui offrent une information plus intégrée des effets de la substance d'intérêt (Priac, 2014). Il s'agit de mettre en contact un organisme « modèle » avec la substance étudiée afin d'en évaluer sa toxicité (cf. 3.3).

La toxicité d'une substance dépend des concentrations auxquelles un individu est exposé et du temps d'exposition. On distingue ainsi :

- La toxicité aiguë, ou à court terme. Les effets se manifestent rapidement, après une exposition unique ou sur quelques heures, à une forte concentration de ladite substance ;
- La toxicité subaiguë, due à une exposition pouvant aller jusqu'à 3 mois ;
- La toxicité chronique, ou à long terme. L'individu est alors exposé de manière répétée, à une faible concentration de substance, et les effets seront observés quelques mois à quelques années plus tard (ineris.fr).

I.4.2. Mesures d'évaluation

L'écotoxicité d'une substance peut être évaluée selon plusieurs critères : les doses, les concentrations et les seuils (Ramade, 2007).

Une dose est une quantité apportée à un individu. On peut déterminer la dose d'inhibition (DI), par exemple la dose à partir de laquelle la photosynthèse est inhibée, et la dose d'effet (DE) d'un processus biologique, par exemple la dose à partir de laquelle on observe un effet sur la croissance d'un végétal. On peut aussi déterminer la dose létale (DL), qui mènera à la mort d'un individu. Ces mesures s'expriment suivant le pourcentage de l'effet créé : DL50 représente la dose pour laquelle 50 % de la population testée meurent.

Cependant, mesurer les doses administrées dans des essais de terrain est impossible, c'est pourquoi cet indice est utilisé pour des essais de laboratoire où les conditions expérimentales sont contrôlées (Priac, 2014). Pour des essais environnementaux, on utilise plutôt les concentrations : inhibitrices (CI), efficaces (CE) ou létales (CL), grandeurs qui sont mieux adaptées.

Enfin, nous pouvons déterminer des seuils de toxicité, valeurs pour lesquelles aucun effet n'est observé (CSEO - Concentration sans effet observé) ou valeurs pour lesquelles nous observons le plus petit effet (CMEO - Concentration minimale avec effet observé) (Figure 10) (Priac, 2014).

Toutefois cet indice peut mener à sous-évaluer l'action d'un produit toxique car l'absence d'effets manifeste ne signifie pas qu'il n'en existe pas.

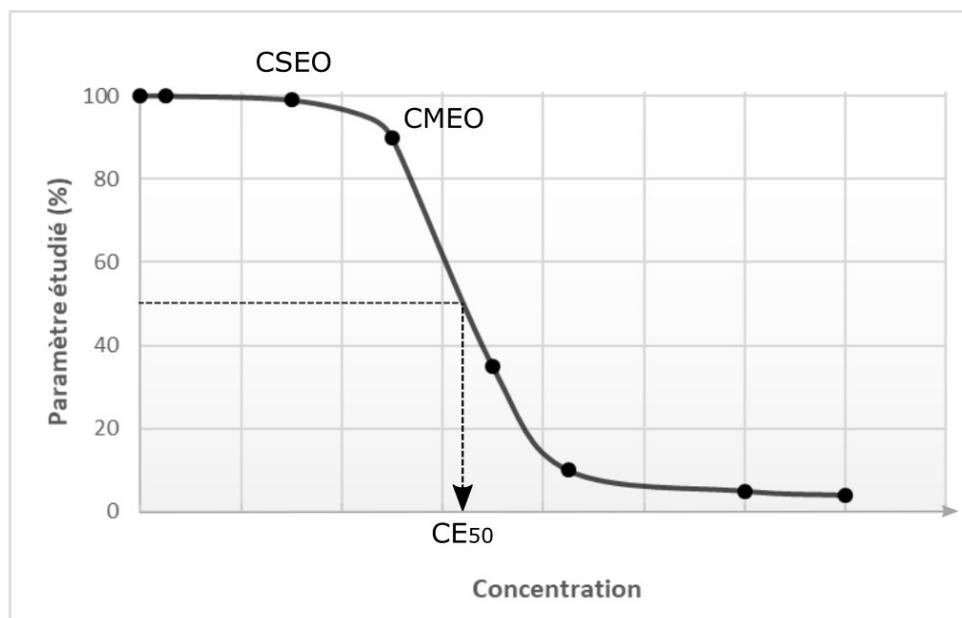


Figure 6 : Courbe type concentration/réponse des tests d'écotoxicité. CSEO = plus forte concentration pour laquelle aucun effet n'a été observé. CMEO = plus faible concentration induisant un effet significatif.

I.4.3. Tests normalisés et espèces modèles

Il existe plusieurs tests normalisés, qui permettent de mettre en œuvre une démarche de caractérisation des propriétés toxiques des contaminants. Ceux-ci sont basés sur l'utilisation d'espèces modèles retenues pour leur facilité d'utilisation ou leur sensibilité aux polluants. Les tests d'écotoxicité s'appliquent au milieu terrestre aussi bien qu'au milieu aquatique.

Daphnia magna (la daphnie) est l'un des organismes les plus couramment utilisés. On s'en servira par exemple pour un test d'écotoxicité aiguë : des juvéniles sont exposés à une gamme de concentrations de substances toxiques pendant 1 à 2 jours (ISO 6341). Il s'agit ensuite de mesurer le paramètre « inhibition de la nage », c'est-à-dire déterminer la concentration efficace, sans effets observés et minimale. Pour un test d'écotoxicité chronique, ces juvéniles sont exposés pendant 3 semaines à la substance toxique, et on s'intéresse ensuite à leur capacité de reproduction (ISO 10706). Un autre test couramment utilisé est le test Microtox. Il permet de déterminer l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri*, une bactérie qui produit une bioluminescence naturelle. Il s'agit ici de mesurer les variations de luminescence induite par les substances contenues dans l'eau.

Ces deux tests ont été comparés à travers l'étude de 39 effluents industriels. Dans 86% des cas, les réponses obtenues étaient concordantes, mais il est apparu que la sensibilité des tests était fonction de la nature de l'effluent, et que le test Microtox présentait des avantages pour sa rapidité, sa simplicité et son prix réduit (Vasseur et Ferard, 1984). Ceci souligne l'importance du test choisi dans l'interprétation des résultats acquis.

Les tests d'écotoxicité terrestre s'appuient, quant à eux, souvent sur des vers de terre ayant un cycle de vie court et une sensibilité notable. Par exemple, une population de vers (*Eisenia fetida*) pourra être mise en contact d'un sol pendant 14 jours avant l'évaluation de sa mortalité pour un test d'écotoxicité aiguë (ISO 11268-1), ou être mise en contact 56 jours avant l'évaluation des effets sur la reproduction pour un test d'écotoxicité chronique (ISO 11268-2).

Enfin, les modèles végétaux sont intéressants car ils présentent des surfaces d'échanges importantes grâce à leurs parties aériennes et racinaires, ce qui leur donne l'avantage d'être au contact à la fois avec le sol et l'atmosphère (site du LIEC, UMR 7360). Les principaux paramètres déterminés sont l'inhibition de la croissance racinaire (ISO 11269-1) et l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs (ISO 1169-2). *Hordeum vulgare* (l'orge), *Brassica rapa* (la navette) et/ou *Brassica rapa* ssp. *rapa* (le navet sauvage) sont recommandés par la norme, mais plusieurs variétés de végétaux définies peuvent être utilisées.

L'activité photosynthétique des plantes est aussi un indicateur pertinent de la contamination des sols (Grand *et al.*, 2012). La teneur en pigments foliaires peut varier selon les espèces mais également en fonction des facteurs internes et des conditions environnementales. Les teneurs en chlorophylles *a* et *b* sont considérées comme des biomarqueurs sensibles de la pollution et du stress environnemental (Tripathi *et al.*, 2007). Aujourd'hui, il est établi que des facteurs de stress, et notamment la présence d'éléments traces métalliques, peuvent affecter les capacités photosynthétiques des plantes. Ceci se manifeste par une baisse de photosynthèse nette due à une augmentation de la fluorescence de la chlorophylle *a*, voire une altération de la synthèse des chlorophylles. Les HAP, certains insecticides et solvants organiques peuvent également affecter la photosynthèse des végétaux. Mesurer la fluorescence de la chlorophylle peut donc être utile pour mettre en évidence des conditions de stress (Serra, 2015).

Enfin, la bioaccumulation des polluants apporte des informations sur leur biodisponibilité et leur mécanisme d'action et de transfert. Cependant, la diversité des facteurs influençant le comportement de la faune et de la flore (propriétés physico-chimiques, contaminations, conditions climatiques) peut rendre les résultats d'essais menés sur des sols difficiles à interpréter. Il devient nécessaire de trouver un sol non contaminé servant de référence avec des propriétés les plus proches possible du ou des sols étudiés. De plus, les conditions expérimentales doivent être adaptées au mieux pour permettre une croissance normale des végétaux d'essai. Il faut donc pouvoir contrôler et suivre la température, l'humidité et l'éclairage présents dans le laboratoire d'essai.

II. Présentation du site d'étude

II.1. Situation géographique

Dans les Bouches-du-Rhône, nous recensons 9270 sites ayant accueilli une activité industrielle, dont 3961 ne sont plus en activité (source : BASIAS). Une forte implantation industrielle est donc présente, notamment sur le pourtour du Golfe de Fos, associée à un fort trafic routier et maritime. En effet, ce territoire abrite le bassin ouest du Grand Port Maritime de Marseille (GPMM), qui en fait la première zone industrialo-portuaire de France et d'Europe du Sud (Ciarlo, 2017).

Le site industriel d'Azur Chimie est localisé dans la zone d'activité de la Gafette, à Port-de-Bouc. Il se situe en bordure nord du Canal de Caronte, qui relie l'Étang de Berre à la Mer Méditerranée (Figure 11). Ce site, qui n'est plus exploité depuis 2010, est une friche industrielle. L'Institut National de la Statistique et des Études Économiques (INSEE) indique qu'une friche est un « espace bâti ou non, anciennement utilisé pour des activités industrielles, commerciales ou autres, abandonné depuis plus de 2 ans et de plus de 2000 m² ». L'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie (ADEME) ajoute que l'activité qui a eu lieu par le passé a pu laisser derrière elle « une pollution plus ou moins prononcée » (ADEME, 2013).



Figure 7 : Localisation du site Azur Chimie (13).

II.2. Passé industriel

Le site d'Azur Chimie, référencé dans BASOL (numéro 13.0080 et 13.0083) présente un historique industriel chargé. Il est situé sur une ancienne lagune côtière utilisée pour l'extraction de sel, dont une partie a été remblayée peu à peu pour permettre la création d'une voie ferrée dans les années 1920. Peu à peu, la partie restante a ensuite été comblée par les déchets municipaux ou industriels de la ville de Port-de-Bouc. En 1966, c'est le groupe producteur de matières plastiques et de résines synthétiques Ugine Kuhlmann qui s'installe. Une succession de groupes industriels suivra, le dernier en date étant Azur Chimie. C'est une installation classée pour l'Environnement (ICPE) et classée SEVESO, ayant deux secteurs de fabrication : le secteur Fine Chemicals, qui produit des dérivés aromatiques bromés et le secteur Flame Retardant, producteur de retardateur de flamme pour matières plastiques. L'exploitant a cessé l'ensemble de ses activités en 2010 (source : BASOL). Aujourd'hui, l'ensemble des bâtiments a été détruit par la mairie de Port-de-Bouc, le propriétaire du terrain, mais aucun traitement supplémentaire n'a été effectué (Ciarlo, 2017).

II.3. Caractéristiques naturelles

II.3.1. Géologie

En France, le pourtour méditerranéen se sépare en deux : la Provence cristalline et la Provence calcaire, où se situe l'Étang de Berre et le Golfe de Fos (Ciarlo, 2017). Les formations géologiques qui composent le site d'étude sont datées du Bégudien (Maastrichtien inférieur, 72-66 Ma) et on y retrouve principalement des alternances marno-calcaires avec la possible imbrication d'argilite, de lentilles de poudingue ou de grès. Le Golfe de Fos est compris entre l'extrémité occidentale de la chaîne de la Nerthe et le delta du Rhône, au Sud de la plaine de la Crau.

II.3.2. Hydrologie

Sur le contour du site se trouve le ruisseau Saint-Jean, de 700 m de long pour une largeur de 2 à 5 m. Sa profondeur varie entre quelques dizaines de centimètres à l'amont à deux mètres à l'aval, avec un faible débit et une eau saumâtre. Il se jette dans le Canal de Caronte, à 200 m, qui relie l'Étang de Berre à la mer Méditerranée (via le Golfe de Fos) (*ibid*). Une unité aquifère à nappe majoritairement libre traverse le site en s'écoulant du nord-ouest vers le sud-est. Il s'agit de la masse d'eau du bassin versant de la Touloubre et de l'Étang de Berre (FRDG513).

II.3.3. Climatologie

À Port-de-Bouc le climat est méditerranéen, c'est-à-dire caractérisé par des étés chauds et secs et des hivers doux et humides (Figure 12). La température moyenne annuelle est de 14,1°C et les précipitations annuelles de 594 mm en moyenne (source : climate-data.org, 2019).

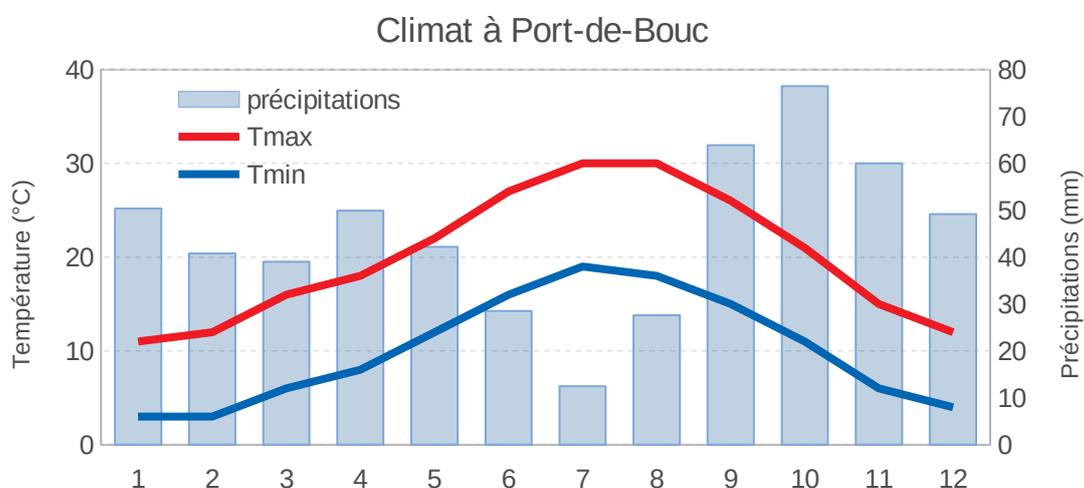


Figure 8 : Températures et précipitations moyennes à Port-de-Bouc sur la période 1982-2012. Source : climate-data.org (2019).

II.3.4. Végétation

Le site d'Azur Chimie se caractérise par une végétation majoritairement herbacée, avec des zones de végétation basse et des zones de végétation d'environ 1,5 m de hauteur. Certaines espèces sont retrouvées en grand nombre : *Avena sterilis* (Avoine sauvage), *Foeniculum vulgare* (Fenouil), *Urospermum dalechampii* (Urosperme de Daléchamps), *Plantago lanceolata* (Plantain lancéolé), *Ecballium elaterium* (Concombre d'âne) ou encore *Bromus sterilis* (Brome sterile), une plante rudérale (Austruy *et al.*, 2017).

II.4. Études connexes

L'Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions réalise depuis 2 ans des études sur ce site, en partenariat avec le Centre Européen de Recherche et d'Enseignement en Géosciences de l'Environnement (CEREGE) et le Laboratoire Chimie Environnement (LCE). Un projet de recherche est actuellement financé, le projet Brom'Azur (OHM LM, Labex DRIIHM) dont le principal objectif est de caractériser la présence, le comportement et le transfert des dérivés bromés,

polluants émergents ciblés par la Directive Cadre Européenne sur l'Eau comme substances dangereuses prioritaires, du site industriel vers le milieu marin (Malleret *et al.*, 2019).

Tableau 5 : Concentrations moyennes en contaminants dans l'horizon de surface du sol d'Azur Chimie et écarts-types (n=21) (Ciarlo, 2017 ; Austruy *et al.*, 2018).

	ETMM (mg/kg)						HAP (µg/kg)	PCB (µg/kg)	PCDD-F (µg/kg)
	Pb	Cr	Cu	Zn	Cd	Hg			
Moyenne	624,81	59,34	269,34	1 099,67	5,85	5,64	19 497,65	576,10	2,76
Écart-type	1 136,67	19,75	463,01	1 207,43	4,07	18,05	16 753,59	915,63	1,91

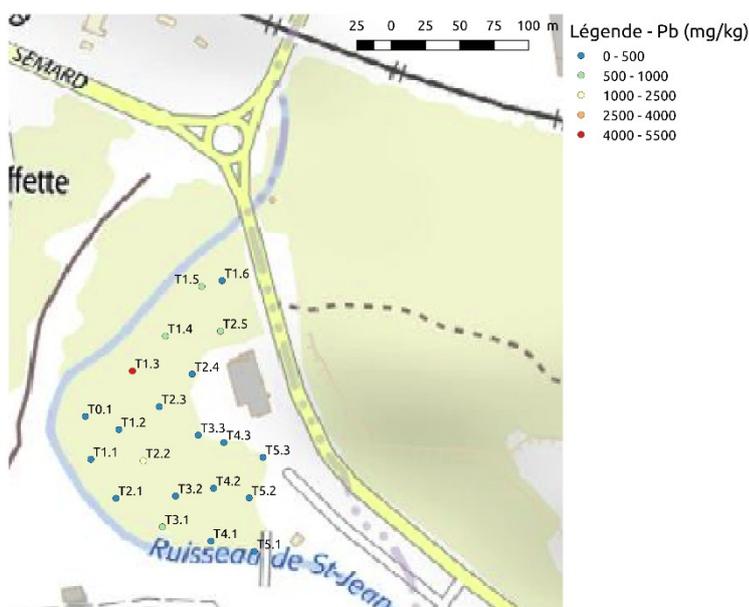


Figure 9 : Concentrations pseudo-totales en plomb mesurées en surface du site d'Azur Chimie (Ciarlo, 2017).

Ciarlo (2017) a mis en évidence une contamination métallique importante (Cd, Cu, Pb, Zn, Hg, Cr) et hétérogène en surface, entraînant un impact négatif sur l'activité biologique du sol, aggravé par la présence de remblais sur certaines zones. La contamination en polluants organiques (PCB, HAP, PCDD-F et PBDE) s'est aussi révélée très hétérogène sur l'ensemble du site (Austruy *et al.*, 2018). La Figure 13 présente les concentrations de surface moyennes obtenues pour la totalité des points d'échantillonnage par contaminant. Pour une grande partie d'entre eux, l'écart-type est supérieur ou proche de la valeur moyenne. Ceci montre la forte dispersion des concentrations obtenues et met bien en évidence l'hétérogénéité et la complexité de la contamination en surface. La Figure 14 illustre ce phénomène à travers l'exemple de la répartition des teneurs en chrome. De plus, la réalisation de fosses pédologiques sur le site a permis de caractériser et d'analyser les différents horizons de sol jusqu'à environ 70 cm de profondeur mettant en évidence la présence de contaminations (HAP, PCDD-F, PCB, métaux) jusqu'à 70 cm.

L'étude sanitaire a démontré un indice de risque élevé notamment pour Pb, ce qui n'est pas compatible pour un usage sensible du site (habitats, établissement recevant du public), nécessitant la réalisation d'une étude d'Interprétation de l'État des Milieux (IEM) et éventuellement un plan de gestion.

Des mesures géophysiques ont été effectuées en parallèle (Austruy *et al.*, 2018). Le signal de la décharge a été détecté à travers de nombreuses anomalies magnétiques ponctuelles. Les mesures de résistivité électrique semblent indiquer la présence d'une nappe d'eau, principalement saumâtre, dont le niveau piézométrique se trouverait à environ 4,5 m de profondeur.

Toutes ces données servent à la caractérisation du sol du site d'Azur Chimie, que cette étude a pour ambition de compléter en mesurant la toxicité des mélanges de polluants.

III. Distribution verticale des polluants

Dans le domaine des sites et sols pollués, les contraintes réglementaires et les valeurs guides utilisées en tant que référentiel dans la remédiation des sols contaminés reposent principalement sur des critères physico-chimiques, qu'il est donc important de déterminer. Nous cherchons ici à déterminer la contamination du site d'Azur Chimie en profondeur et les risques que cela peut engendrer vis-à-vis des populations proches et de l'environnement.

III.1. Méthodologie

III.1.1. Carottage et prélèvement de sol

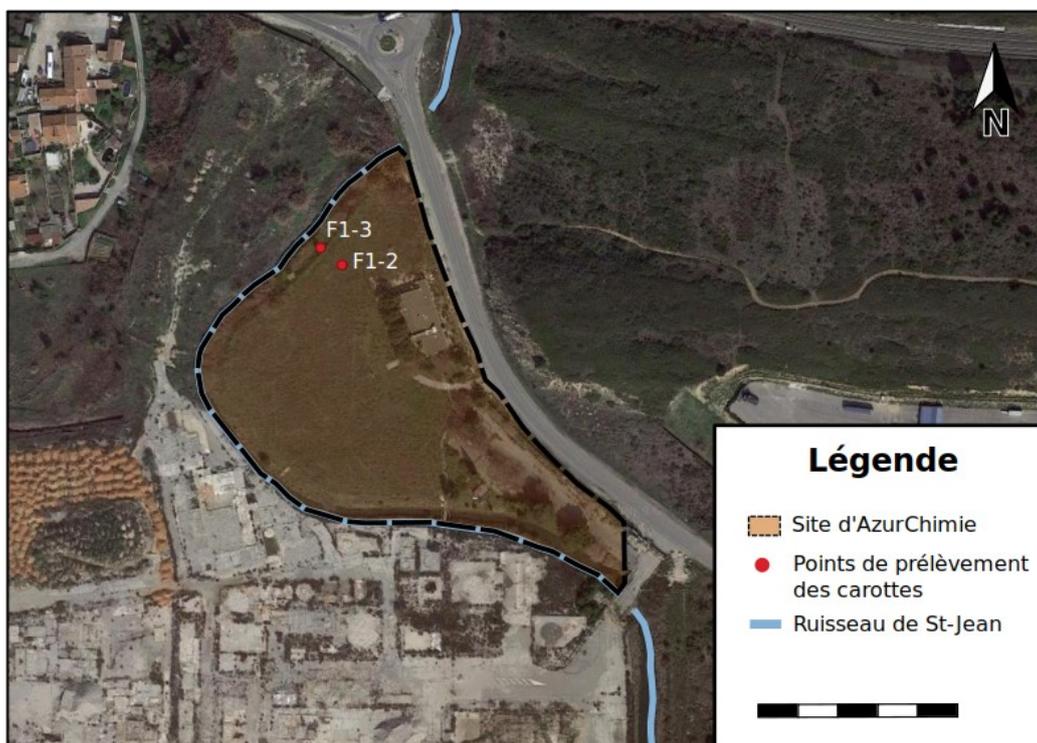


Figure 10 : Localisation des points de carottage, site d'Azur Chimie.

Deux carottes ont été réalisées sur le site Azur Chimie à l'aide d'un carotteur mécanique (Cobra TT) permettant la réalisation de carotte jusqu'à 4 m de profondeur. Ces carottages ont été effectués le 18 mai 2018 (Figure 15). La carotte F1-2 est localisée au nord-ouest du site et présente une profondeur de 310 cm. La carotte F1-3, de 175 cm de profondeur, a été réalisée en contrebas de

F1-2 près du ruisseau. Cette deuxième carotte avait pour but de prélever du sol plus en profondeur par rapport au niveau du site. Les prélèvements ont été effectués sous un temps ensoleillé, des précipitations avaient cependant eu lieu la semaine précédente facilitant le prélèvement. Les carottes ont ensuite été décrites et un échantillon par horizon a été réalisé.

III.1.2. Pré-traitement des échantillons de sol

III.1.2.1. Paramètres physico-chimiques analysés

L'analyse des paramètres physico-chimiques a été réalisée sur la fraction inférieure à 2 mm selon les normes AFNOR suivantes :

- NF X13-117 pour le pH et la conductimétrie ;
- NF ISO 10694 pour le Carbone Organique Total (COT) (perte au feu) ;
- NF ISO 13878 pour l'azote total (analyseur élémentaire FlashSmart 2000 ThermoFisher).

À partir de la concentration en azote total et en COT, le rapport C/N a été calculé. De même, à partir de la teneur en COT, la concentration en matière organique (MO) a été calculée selon l'équation :

$$MO(\text{g/kg}) = \text{COT} \times 1,71$$

III.1.2.2. Extraction de la fraction pseudo-totale en ETMM

Les échantillons réalisés sur les carottes F1-2 et F1-3 ont été séchés à 40°C à l'étuve jusqu'à une perte de poids inférieure à 5 % en 24, avant d'être tamisés à 2mm puis broyés en particules fines à l'aide d'un mortier. Une prise d'essai d'environ 100 mg de chaque échantillon de sol broyé a été introduite dans un creuset en téflon avec 4,5 ml d'eau régale (2/3HCl + 1/3 HNO₃). L'eau régale permet d'obtenir la concentration pseudo-totale en éléments traces, c'est-à-dire environ 90 % de la teneur totale. Pour pouvoir mettre en solution tous les constituants, il aurait fallu utiliser de l'acide fluorhydrique, extrêmement toxique et corrosif, mais de nos jours, dans le domaine des sites et sols pollués, les extractions sont en grande majorité réalisées à l'eau régale (DGPR, 2017).

Les échantillons sont ensuite minéralisés au four micro-ondes (Mars 5 CEM) et soumis au cycle de chauffage suivant : (i) 15 min jusqu'à 180°C puis 10 min à 180 °C (plateau), (ii) 20 min jusqu'à 230°C puis 15 min à 230°C (plateau), (iii) refroidissement des réacteurs (Annexe 3). La minéralisation permet de détruire la matrice de l'échantillon et de libérer les éléments en solution. Après refroidissement, les minéralisats sont transvasés dans des tubes à centrifuger, et complétés à 15 ml avec de l'eau miliQ. Ces derniers sont centrifugés 15 min à 4000 tour/min, puis dilués d'un

facteur 14 avec de l'HNO₃ 2 %. Les échantillons sont conservés à 4°C jusqu'à l'analyse à l'ICP-AES (Annexe 4).

III.1.2.3. Extraction de la fraction biodisponible en ETMM

L'extraction de la fraction biodisponible en ETMM des échantillons de sol a été effectuée à partir d'une solution de DTPA. L'utilisation du DTPA pour évaluer la biodisponibilité d'une grande partie des ETMM dans les sols calcaires a fait l'objet de nombreuses publications (Chaignon, 2001) et est aujourd'hui une méthode reconnue. La prise d'essai est de 5 g de sol tamisé à 2 mm, mise au contact avec 10 ml de la solution d'extraction composée d'acide diéthylène triamine pentaacétique (DTPA) à 0,005 mol.l⁻¹, de triéthanolamine (TEA) à 0,1 mol.L⁻¹ et de CaCl₂ à 0,01 mol.L⁻¹, le pH doit être maintenu à 7,3. La présence de DTPA et CaCl₂ dans la solution d'extraction permet d'éviter une dissolution excessive de CaCO₃ et la libération trop importante de métaux (Chaignon, 2001). Ainsi, seule la fraction soluble et facilement échangeable des métaux et métalloïdes est extraite.

Le mélange est ensuite agité pendant 2 h à 120 tour/min dans un agitateur rotatif, puis centrifugé à 4500 tour/min pendant 20 min. Le surnageant est recueilli grâce à un filtre seringue de 0,22 µm dans des flacons en polyéthylène (chimiquement inerte). Ces échantillons prétraités peuvent ensuite être passés à l'ICP-AES et l'ICP-MS.

III.1.3. Calcul du facteur d'enrichissement

La politique française de gestion des risques se base sur la comparaison du sol étudié avec l'état initial de l'environnement et des milieux naturels voisins. Il est donc nécessaire de connaître les concentrations naturelles en éléments traces, liées à la géochimie du matériau parental à partir duquel le sol s'est formé et à sa pédogenèse : c'est ce qu'on appelle le fond pédogéochimique naturel (FPGN) (Austruy *et al.*, 2016). Le FPGN permet de faire ressortir les anomalies naturelles et est défini par des valeurs moyennées pour l'aire géographique considérée (Ciarlo, 2017).

À partir des valeurs du FPGN (Figure 16), il est possible de déterminer le facteur d'enrichissement (FE) des sols, afin d'identifier les contaminations anthropiques.

$$FE = \frac{\left(\frac{[ET]}{[Al]}\right)_{\text{horizon de surface}}}{\left(\frac{[ET]}{[Al]}\right)_{\text{horizon profond}}}$$

L'aluminium est utilisé comme élément de référence car il est conservatif et sa concentration est relativement constante avec la profondeur en milieu naturel pour de nombreux sols. Nous

pouvons parler de pollution lorsque FE est supérieur à 2, c'est-à-dire lorsque les concentrations en ETMM dans le sol considéré sont significativement supérieures au FPGN de la zone (Austruy *et al.*, 2016). La Figure 17 montre les classes proposées par Sutherland (2000) pour classer les degrés de pollution d'après le facteur d'enrichissement.

Tableau 6 : Fond pédogéochimique naturel du territoire situé à l'Ouest de l'Étang de Berre et sur le pourtour du Golfe de Fos (Austruy *et al.*, 2016).

	As	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn	Al	Fe
	mg/kg									g/kg	
Moyenne	14,9	0,4	9,5	31,7	13,1	21,4	16,4	30,9	41,7	78,4	57,6
Vibrisse inférieure	0	0	4	0	0	0	0	0	0,1	30,4	11,2
Vibrisse supérieure	33,9	0,9	14,6	67,1	29,2	55,1	33,1	63,2	88,8	133,8	95,1

Tableau 7 : Classes déterminées pour le degré de pollution en fonction du facteur d'enrichissement (Sutherland, 2000).

EF < 2	Enrichissement inexistant ou faible
2 < EF < 5	Enrichissement modéré
5 < EF < 20	Enrichissement significatif
20 < EF < 40	Enrichissement très fort
EF > 40	Enrichissement extrême

III.2. Description et identification des horizons de sol

La première carotte F1-2 se situe en surface de la friche et présente une profondeur de 3,10 mètres (Figure 18). Les limites entre horizons ont été définies suivant des critères morphologiques visuels mais aussi grâce à une mesure de susceptibilité magnétique de surface. L'ensemble de la tarière est de texture limono-sableuse avec une charge en cailloux très importante. Près de 50 % de la carotte est constitué de cailloux ou d'artefacts d'origine anthropique. Une description par horizon a été effectuée et est présentée ci-dessous.

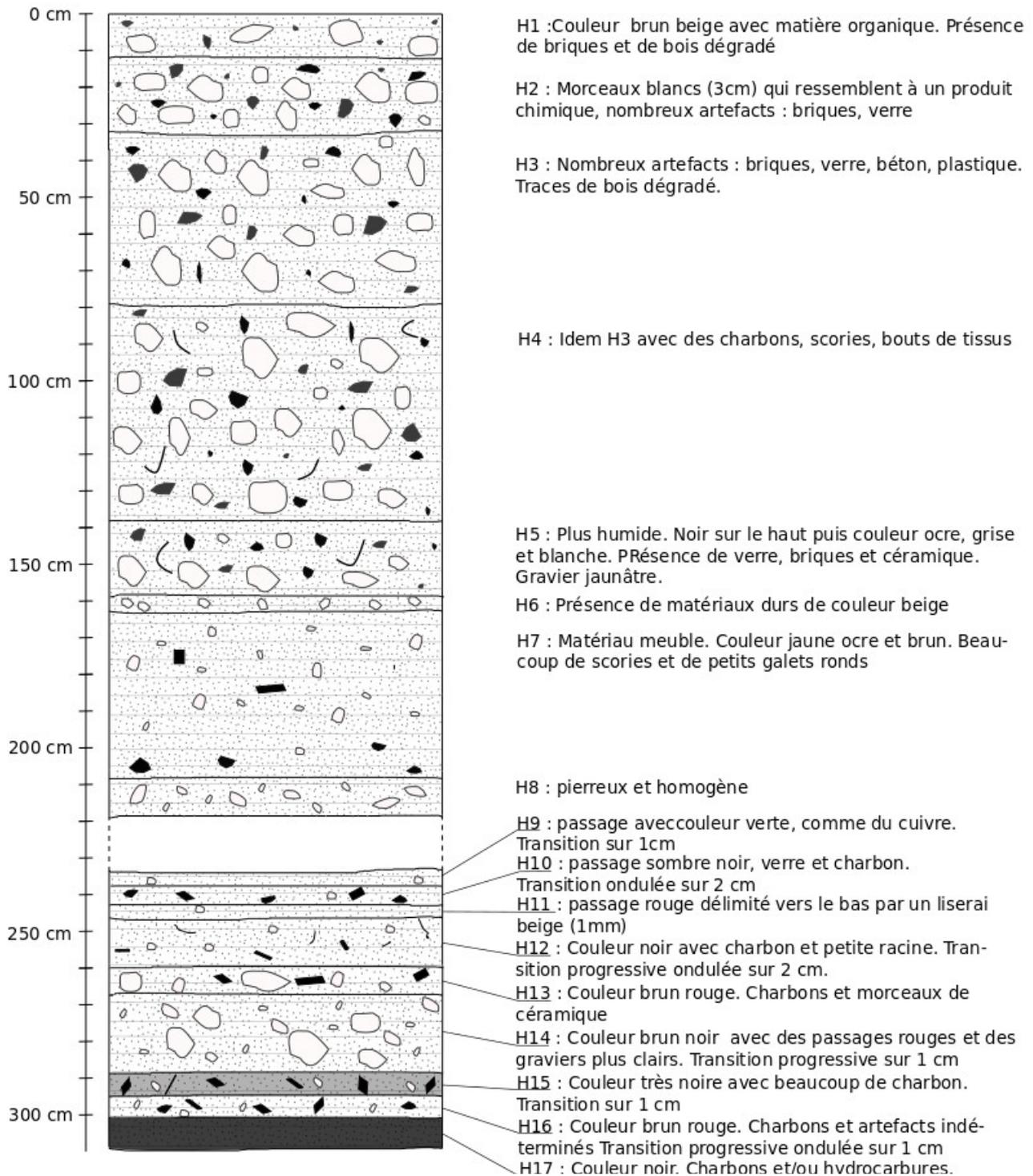


Figure 11 : Représentation schématique de la carotte F1-2.

H1 (0-12 cm) L'horizon est brun beige, avec de la matière organique et des graviers. On y retrouve la présence de briques, de verres et des traces de bois dégradés. Des cailloux plus grossiers, jusqu'à 5cm de diamètre font la transition avec l'horizon suivant.

H2 (12-35 cm) L'horizon comprend des morceaux blancs friables (jusqu'à 3cm) qui ressemblent à un produit chimique. Le reste est brun avec des cailloux, des traces de bois dégradés et de

nombreux artefacts (briques, verres). La transition se fait essentiellement via la disparition du blanc.

H3 (35-80 cm) L'horizon est frais, avec de nombreux artefacts également (briques, verre, béton, plastiques, scories). On y trouve des graviers ronds.

H4 (80-140 cm) L'horizon a été délimité via la susceptibilité magnétique mais peu de différences morphologiques ont été observées. On y trouve toutefois des morceaux de tissu de taille décimétrique et des petits bouts de racine. La transition à 140 cm est nette.

H5 (40-160 cm) Le matériau est plus humide et noir dans cet horizon. Sur 1 cm on note la présence de morceaux de béton, puis un changement en termes de couleur (ocre, gris, blanc). Là encore, des morceaux de verre sont retrouvés, de briques, de céramiques, des racines mortes et du gravier jaunâtre.

H6 (160-170 cm) L'horizon présente des matériaux durs, ressemblant à une roche beige poreuse.

H7 (170-210 cm) Le matériau devient meuble, avec de nombreux morceaux de scories, des petits galets ronds, des morceaux de charbon (1 à 10 cm), du verre. On y trouve également un morceau induré avec des couleurs allant du violet à l'orange.

H8 (210-220 cm) L'horizon est pierreux, homogène avec une transition sur 1 cm.

H9 (235-239 cm) L'horizon est caractérisé par un passage avec une couleur verte (comme du cuivre) et une transition inférieure à 1 cm.

H10 (239-244 cm) L'horizon est sombre avec des morceaux de verre et de charbon. La transition est ondulée sur 2 cm.

H11 (244-248 cm) L'horizon est de couleur rouge délimitée vers le bas par un liseré beige très fin (1mm). La transition horizontale se fait sur moins de 5 mm.

H12 (248-262 cm) L'horizon est homogène, noir avec la présence de charbons et de petites racines (diamètre inférieur à 1mm). La transition est ondulée sur 2cm.

H13 (262-278 cm) L'horizon est hétérogène brun rouge, avec des cailloux, charbons, morceaux de céramiques.

H14 (278-291 cm) L'horizon est brun-noir avec des passages rouges et des graviers plus clairs. La transition est progressive sur 1mm.

H15 (291-296 cm) L'horizon est également de couleur foncée (noire) avec beaucoup de charbons.

H16 (296-302 cm) La couleur de cet horizon est hétérogène (brun rouge avec un noyau très rouge). On y trouve du charbon et des artefacts indéterminés.

H17 (302-310 cm) Enfin ce dernier horizon est noir homogène avec du charbon et/ou des hydrocarbures. On observe un gradient d'humidité du haut vers le bas.

La seconde carotte F1-3 se situe en bordure du ruisseau Saint-Jean, en contre-bas de la surface de la friche et a été réalisée sur une profondeur de 1,72 m (Figure 19). Le carottier a bloqué sur un matériau dur empêchant d'atteindre une plus grande profondeur, mais rien n'indique que ce soit le matériau parental. L'horizon OL n'a pas été échantillonné, il était composé de feuilles de poacées et de feuilles d'arbres caduques. Jusqu'à 98 cm, le matériau est sableux, mise à part l'horizon H4. En dessous, il semble que les horizons correspondent à des matériaux d'apport, probablement issus de la décharge. De l'eau libre est observée dès 140 cm de profondeur.

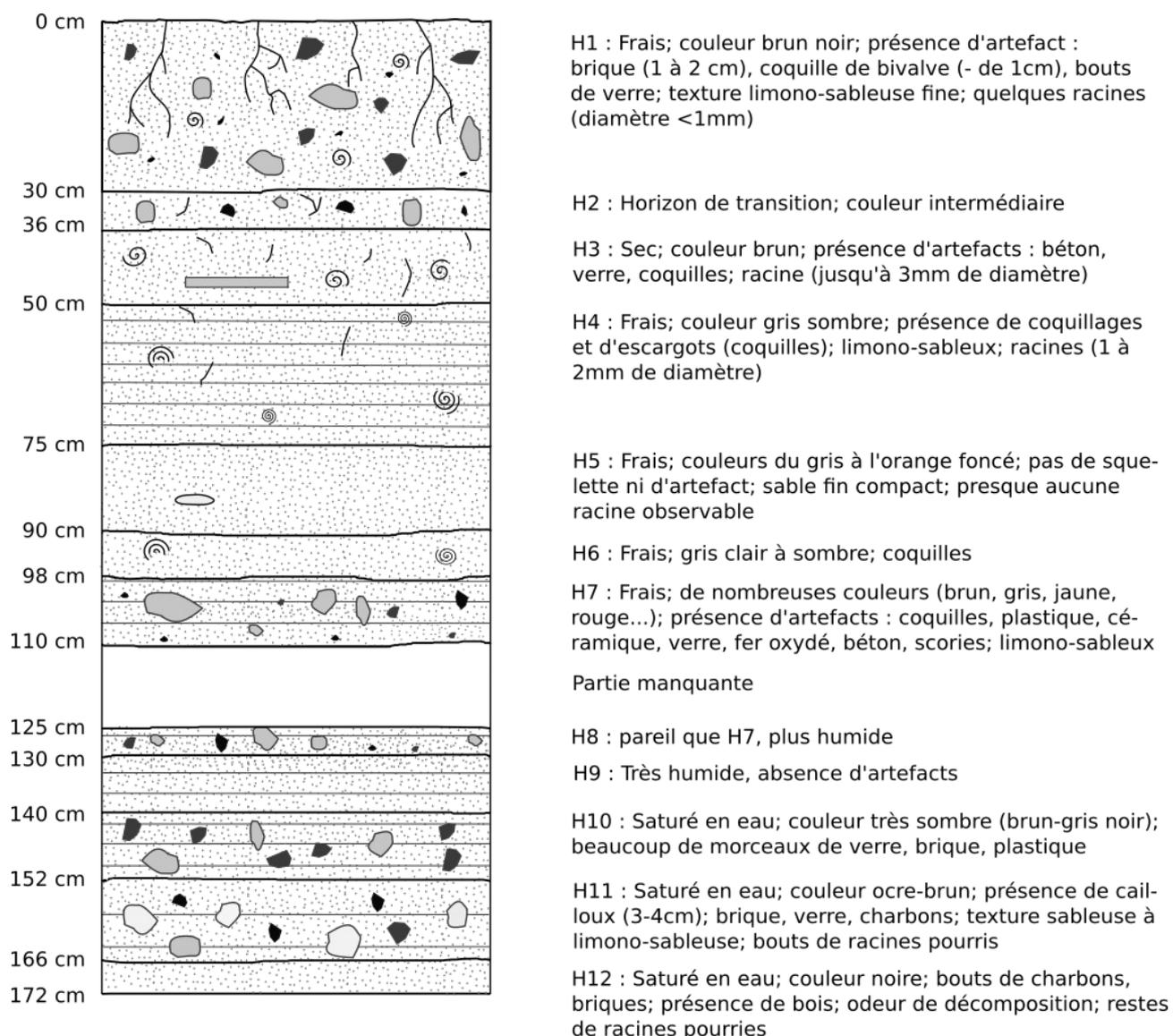


Figure 12 : Représentation schématique de la carotte F1-3.

- H1 (0-30 cm)** L'horizon est frais, de couleur homogène brun-noir. De nombreux artefacts sont présents tels que des morceaux de briques, des bouts de verre et des coquilles de bivalves. Des racines saines ont également été observées (diamètre de 1 à 5 mm).
- H2 (30-36 cm)** C'est un horizon de transition dans les tons ocres.
- H3 (36-52 cm)** L'horizon est sec, de couleur brune, avec un squelette estimé à moins de 15 %. Des artefacts sont également présents (galette de béton de 2 cm d'épaisseur, bouts de verre, coquilles, racines). La susceptibilité magnétique de cet horizon est très élevée. La transition se fait sur 1 à 2 cm.
- H4 (52-75 cm)** L'horizon est frais, de couleur gris sombre. On y trouve des coquilles de coquillages et d'escargots et des racines saines de diamètre inférieur à 1 mm. La structure de cet horizon est peu marquée et la transition se fait sur 1 cm.
- H5 (75-90 cm)** L'horizon est frais avec des couleurs allant du gris à l'orange foncé. Il n'y a pas de squelette mis à part un galet altéré de 4 cm et des coquilles. La texture est plus fine de type sable fin avec une partie de limons, plus compacte que l'horizon du dessus. La transition est rapide sur 1cm.
- H6 (90-98 cm)** L'horizon est frais, gris avec des passages beiges. Il n'y a pas de squelette, ni de racines. On y trouve quelques coquilles. La transition se fait sur 2 cm.
- H7 et H8 (98-110 et 125-130 cm)** L'horizon comporte un vide dû au tassement lors du forage. Il est frais et humide de couleur bariolée. Des artefacts sont présents : coquilles, barrette de plastique, céramiques, bouts de verre, béton, matériaux ferreux, etc. Cela ressemble à des produits d'incinération. La texture est limono-sableuse ou sablo-limoneuse. La transition se fait sur 1 cm.
- H9 (130-140 cm)** L'horizon est très humide, de texture limono-sableuse ou sablo-limoneuse.
- H10 (140-152 cm)** Cet horizon est saturé en eau, avec de l'eau libre. La couleur est très sombre et on y trouve de nombreux morceaux de verre, de la brique et du plastique. La transition se fait sur 1 cm.
- H11 (152-166 cm)** Cet horizon est également saturé en eau, avec de l'eau libre. On y trouve des cailloux (3-4 cm), des morceaux de brique, de verre, des passages de charbon, et quelques bouts de racines qui semblent pourris. La texture est sableuse avec du gravier. La transition se fait sur 1 cm.
- H12 (166-172 cm)** L'horizon est saturé en eau, de couleur très noire. Il n'y a pas de squelette mais on y trouve des bouts de charbon, de brique et de bois. En revanche il n'y a pas de plastique ou de verre.

La description et la caractérisation morphologique de ces deux carottes de sol permettent de confirmer que le sol du site Azur Chimie peut être classé en tant qu'anthroposol artificiel comme précisé dans les précédentes études réalisées (Ciarlo, 2017, Austruy *et al.*, 2018).

III.3. Paramètres physico-chimiques et concentrations en métaux dans les carottes de sol

III.3.1. Physico-chimie des horizons de sol

Tableau 8 : Présentation des paramètres physico-chimiques mesurés dans les horizons des deux carottes.

	Horizons	Profondeur (cm)	pH	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	C-organique (%)
F1-2	H1	0-12	7,90	265	7,07
	H2	12-35	7,63	1880	3,40
	H3	35-80	7,62	1780	3,49
	H4	80-140	7,74	1865	3,78
	H5	140-160	7,73	2040	9,33
	H6	160-165	7,62	2260	8,39
	H7	170-210	7,58	2120	5,30
	H8	210-220	7,60	2360	5,63
	H9	235-239	7,60	2350	6,22
	H10	239-244	7,70	2390	8,06
	H11	244-248	7,58	2370	10,35
	H12	248-262	7,61	2550	13,67
	H13	262-278	7,56	3180	13,36
	H14	278-291	7,65	3060	10,50
	H15	291-296	7,58	2800	13,79
	H16	296-302	NA	NA	NA

	H17	302-310	7,65	2380	11,41
F1-3	H1	0-30	7,79	295	5,17
	H2	30-36	8,09	241	2,56
	H3	36-50	8,16	274	2,80
	H4	50-75	8,00	511	1,70
	H5	75-90	7,77	2160	1,40
	H6	90-98	8,01	2460	1,00
	H7	98-110	7,79	2850	3,33
	H8	125-130	8,02	2100	4,70
	H9	130-140	8,08	1812	4,98
	H10	140-152	8,23	1122	8,41
	H11	152-166	8,11	1605	8,76
	H12	166-172	7,48	3760	NA

NA : non analysé

Les résultats des paramètres physico-chimiques sont présentés dans la Figure 20. Une faible conductivité est mesurée à la surface des carottes, respectivement de 265 et 295 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour la carotte F1-2 et F1-3. Dans la carotte F1-2, celle-ci augmente de manière importante dans l'horizon H2 (1880 $\mu\text{S}/\text{cm}$) puis l'augmentation avec la profondeur est régulière jusqu'à l'horizon H13 (3180 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Une légère diminution est observée à partir de l'horizon H14 pour atteindre 2380 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à plus de 3 m de profondeur (H17). Dans la carotte F1-3, la conductivité reste relativement stable jusqu'à 50 cm de profondeur (H3), comprise entre 241 et 295 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Les valeurs de conductivité augmentent ensuite avec la profondeur pour atteindre une conductivité de 2850 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à près d'un mètre de profondeur. À partir de H8 (125-130cm) la conductivité diminue jusqu'à 152 cm puis réaugmente de manière importante pour atteindre 3760 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans le dernier horizon prélevé, les horizons suivants étant inondés.

La mesure du pH met en évidence un pH alcalin sur l'ensemble des deux carottes avec de légères variations mesurées dans les deux profils. Les valeurs de pH mesurées dans la carotte F1-3 (pH moyen de 8,08) sont significativement plus importantes que celles mesurées dans la carotte F1-2 (pH moyen de 7,96).

Enfin, le carbone organique total (COT) met en évidence un sol relativement riche en matière organique à la surface des deux carottes, respectivement 7,07 et 5,17 % de COT pour F1-2

et F1-3. La teneur en COT diminue ensuite avec la profondeur dans les deux carottes jusqu'à 80 cm et près de 100 cm respectivement pour F1-2 (H3, 3,49 %) et F1-3 (H6, 1 % de COT). Dans la carotte F1-2, des teneurs très importantes sont mesurées dans H5 et H6 avec des valeurs près de 3 fois supérieures à celles mesurées dans les horizons H2 à H4. Ce résultat semble mettre en évidence un horizon d'accumulation entre 140 et 165 cm dans F1-2. La teneur en COT diminue dans l'horizon suivant puis réaugmente régulièrement à partir de 2 m de profondeur pour atteindre une teneur en COT de 11,4 % dans H17 (310 cm). Dans la carotte F1-3, la teneur en COT réaugmente régulièrement à partir de H7 (98-110 cm) pour atteindre 8,76 % à plus de 150 cm. Ainsi, des valeurs moyennes en COT sont mesurées en surface, semblant indiquer un sol équilibré en surface, les horizons profonds présentant des niveaux très élevées pouvant être la conséquence de la présence en quantité de charbons et de débris végétaux en profondeur.

III.3.2. Concentrations en métaux et métalloïdes dans les profils de sol

Pour faciliter la présentation des résultats, seuls les métaux présentant une contamination de surface établie dans les travaux antérieurs sont présentés (Ciarlo, 2017) (Figure 21).

Une forte contamination en **cadmium** (Cd) a été mesurée jusqu'à un mètre de profondeur, et celle-ci décroît ensuite de façon importante jusqu'à 2m de profondeur. Un pic est ensuite détecté sur l'horizon 2,10 – 2,20 m (7,4 µg/g). En surface, un facteur d'enrichissement (FE) de 16 est mesuré pour cet élément, indiquant une pollution significative.

Pour le **plomb** (Pb), le FE en surface est de 37, synonyme d'une contamination très forte en Pb. Cette contamination est mesurée sur l'ensemble du profil de sol, la plus forte concentration étant mesurée à 2,8 m de profondeur (6100 µg/g). Cela semble mettre en évidence une pollution ponctuelle causée par un déchet ou objet riche en Pb (résidus de peinture, ferrailles, ...). Par ailleurs, de fortes teneurs en Pb sont mesurées entre H5 et H8 (150-220 cm), profondeur correspondant aux horizons riches en matière organique pouvant indiquer un horizon d'accumulation (Bt).

Les valeurs de surface pour le **zinc** (Zn) sont plus élevées dans le premier mètre qu'en profondeur, excepté, comme pour Cd et Pb, un pic de concentration entre 2,15 et 2,40 m (17000 µg/g). Le FE en surface pour ce métal est de 29, mettant en évidence comme pour Pb une très forte contamination de surface.

Le **mercure** (Hg) se concentre de manière hétérogène dans le profil. Les valeurs apparaissant comme nulles sont celles qui n'ont pas pu être mesurées par l'ICP-MS (en-dessous du seuil de détection). Nous pouvons voir plusieurs pics à des concentrations élevées (1,6 µg/g). Bien que les valeurs de Hg n'aient pas été estimées dans le FPGN, nous savons que dans les sols français,

les concentrations ubiquitaires sont comprises entre 0,03 et 0,15 µg/g (INERIS, 2000), indiquant ainsi un FE de 10 environ en surface.

Concernant le **cuivre** (Cu), la contamination en surface est plus faible qu'en profondeur, avec un FE proche de 15. Un pic est présent entre 2,15 et 2,40 m (17000 µg/g) comme pour Zn et Cd. En deçà, les valeurs restent toujours élevées (>2000 µg/g). Cette accumulation de Cu, Zn et Cd à plus de deux mètres de profondeur dans l'horizon H9 pourrait correspondre à la substance verte rencontrée dans cet horizon qui pourrait être une matière oxydée riche en Cu.

Pour le **chrome** (Cr) en revanche, la contamination est assez homogène, mise à part sur le premier horizon et à 2 m, où des pics de concentration sont atteints. Le FE en surface pour cet élément est de 5.

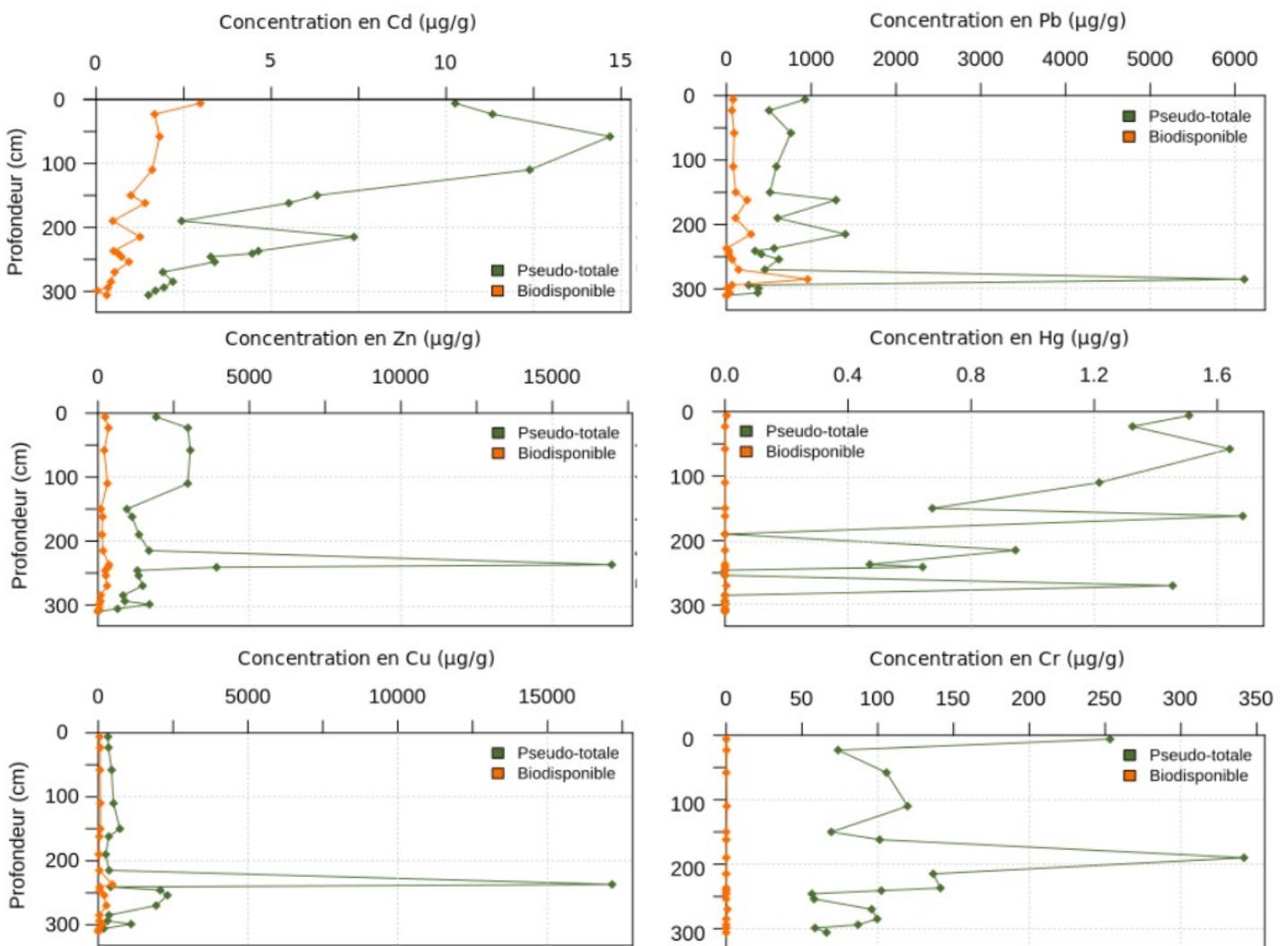


Figure 13 : Concentrations pseudototales et biodisponibles des principaux contaminants métalliques (Cd, Pb, Zn, Hg, Cu, Cr) mesurées dans la carotte F1-2.

Cette répartition des polluants métalliques semble mettre en évidence deux sources de contamination bien distinctes. D'une part, une contamination de surface pour de nombreux métaux (Pb, Cu, Zn, Cd, Hg) avec des FE toujours supérieurs à 10 synonymes de pollution significative et importante, mise en évidence dans les précédentes études (Ciarlo, 2017 ; Austruy *et al.*, 2018). Le sol de surface a ainsi été impacté par l'activité industrielle passée du site. D'autre part, les pics de concentrations observés pour ces différents métaux ainsi que Cr en profondeur (entre 2 et 3 m) semblent être la conséquence d'artefacts (matériaux ferreux oxydés, plastiques, mâchefers, etc.) résultants de l'utilisation du site comme décharge ménagère dans la période d'après-guerre.

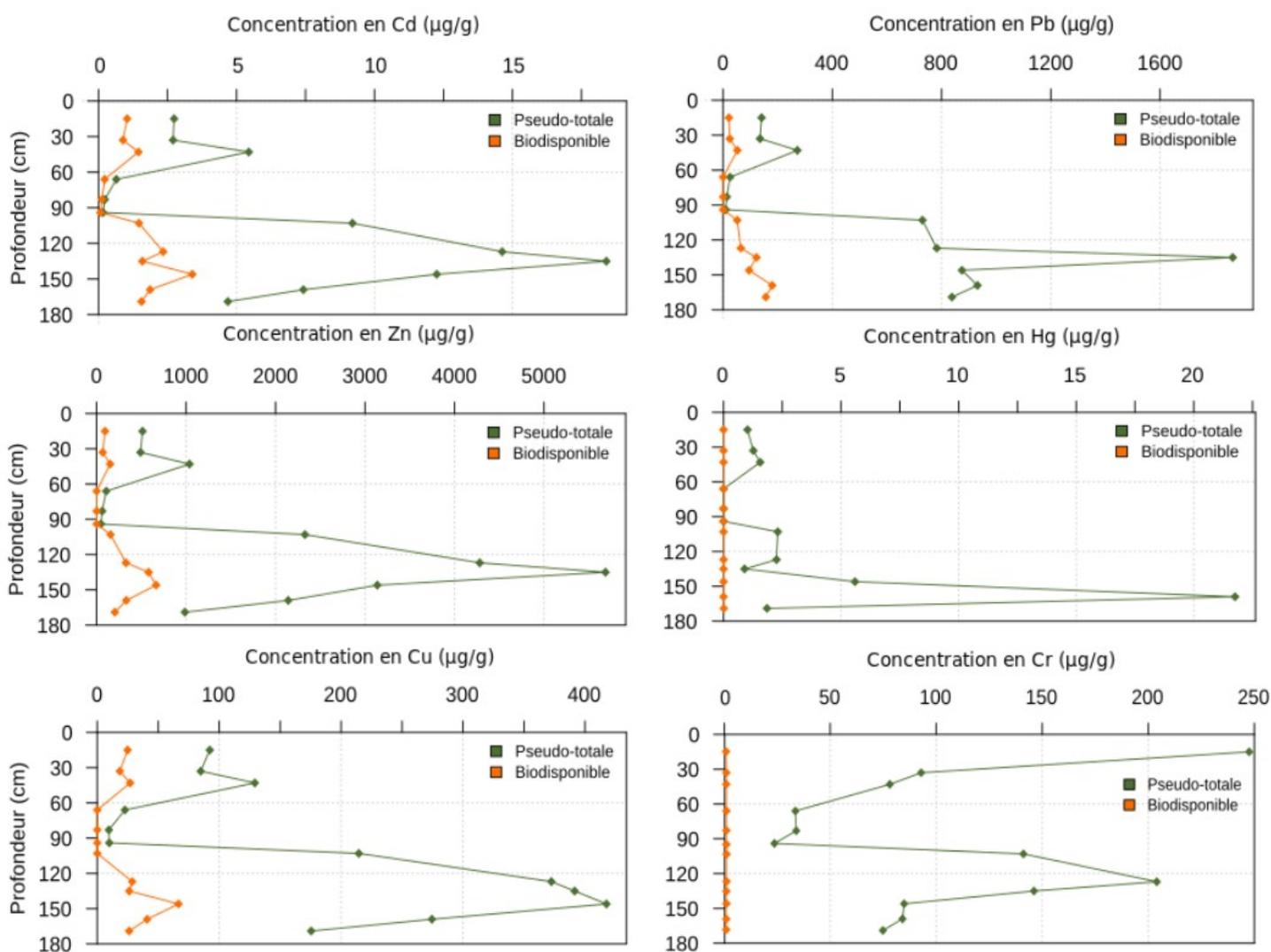


Figure 14 : Concentrations pseudototales et biodisponibles des principaux contaminants métalliques (Cd, Pb, Zn, Hg, Cu, Cr) mesurées dans la carotte F1-3.

Comme dans la carotte F1-2, les concentrations en métaux mesurées dans le profil de sol de la carotte F1-3 (Figure 22) mettent en évidence une contamination de sol de surface avec des FE variant de 4 pour Cd à près de 8 pour Zn. Ces contaminations de surface sont cependant moins

élevées que celles mesurées dans F1-2. Par ailleurs, la variation des concentrations pour les différents métaux dans la carotte F1-3 montre une évolution plus homogène des différents polluants. En effet, la distribution de Cd, Hg, Zn, Cu et Pb suit la même tendance avec deux zones d'accumulation/contamination observée, d'une part dans l'horizon H3 (36-50 cm) avec des concentrations près de deux fois supérieures dans cet horizon par rapport aux teneurs mesurées en surface. D'autre part, des teneurs très élevées sont mesurées entre 100 et 150 cm et plus particulièrement dans H9 avec des teneurs entre 4 (pour Cu) et près de 20 fois (pour Hg) supérieures à celles mesurées en surface. À cette profondeur, de nombreux déchets ont été retrouvés (brique, verre, matériaux ferreux très oxydés, céramique, ...) indiquant probablement le niveau de la décharge, pouvant être la raison de cette forte contamination. Ces horizons étaient très humides voire inondés au moment du prélèvement, semblant indiquer une zone de battance de la nappe à cette profondeur avec le risque d'un possible transfert de ces polluants vers la nappe souterraine. Pour Cr, les plus fortes concentrations sont mesurées en surface à près de 250 mg/kg. Ces concentrations diminuent de façon importante jusqu'à 1 m pour atteindre 22,1 mg/kg. Comme pour les autres éléments, les concentrations en Cr augmentent fortement avec un pic observé dans H8 (190 mg/kg) avant de diminuer à nouveau pour passer en dessous des 100 mg/kg à partir de 150 cm de profondeur.

L'analyse de la fraction biodisponible sur les deux carottes et pour les différents éléments étudiés est présentée dans les Figures 21 et 22. Malgré un pH alcalin, elle met en évidence la forte mobilité de certains métaux sur l'ensemble du profil de sol et notamment au niveau des zones de contamination. C'est notamment le cas de Cd, Zn et Cu et dans une moindre mesure Pb. Ces métaux présentent très souvent une mobilité importante dans les sols pollués situés en région méditerranéenne (Lafuente *et al.*, 2008). De cette biodisponibilité importante des métaux (considérés comme les principaux polluants métalliques présents sur le site), découle un risque accru de transfert de ces contaminants vers la nappe souterraine située à 4m environ et le milieu marin, le site étant situé en bordure du littoral. Par ailleurs, la fraction biodisponible des différents métaux est corrélée à la fraction pseudo-totale, ce qui signifie qu'une même proportion de polluant est mobile quel que soit l'horizon considéré.

Les concentrations en Br total dans les deux carottes et en Br libre dans la carotte F1-2 sont présentées dans la Figure 23. Alors que les teneurs naturelles en Br total dans un sol sont comprises entre 11 et 18 µg/g (Farmer et Cross, 1978), les concentrations mesurées en surface du site Azur Chimie sont élevées notamment dans la carotte F1-2 (181,4 µg/g). Bien que les sols calcaires soient connus pour être riches en Br (Gerzabek *et al.*, 1999), ces résultats mettent en évidence une contamination de surface en Br indépendamment des apports naturels tels que les embruns marins. La mesure du Br libre dans la carotte F1-2 montre une forte disponibilité de cet élément, notamment en surface où il représente près de 50 % de la teneur totale. Cette fraction diminue rapidement dans le deuxième horizon pour se stabiliser entre 10 et 20 µg/g environ dans le reste du profil de sol.

Cette forte disponibilité du Br dans le sol a été observée par Takeda *et al.* (2015) notamment en condition réductrice où Br est facilement lessivé.

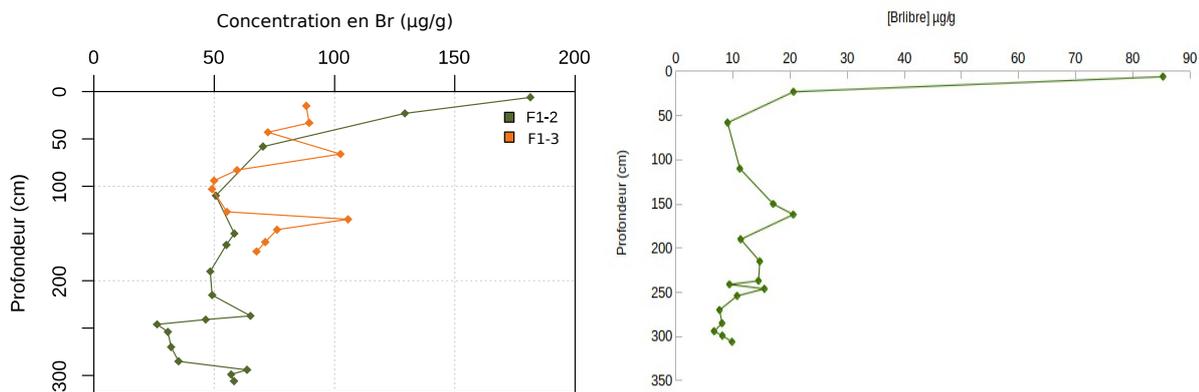


Figure 15 : Concentrations en Br total mesurées dans les carottes F1-2 et F1-3 (à gauche) et en Br libre dans la carotte F1-2 (à droite).

Ainsi, l'étude de la distribution des ETMM dans les différents horizons de sol ont permis de mieux appréhender l'historique du site et le fonctionnement de cet anthroposol. D'une part, une contamination de surface a été mise en évidence pour de nombreux métaux (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb et Zn) consécutive à l'activité industrielle passée du site. Par ailleurs, des contaminations/accumulations en ETMM ont été mesurées en profondeur. En effet, il a été observé des artefacts sur toute la longueur des carottes, et l'étude de la résistivité (Austruy *et al.*, 2018) fait apparaître une forte hétérogénéité du sous-sol sans « morphologie logique ».

Ce résultat semble indiquer une contamination via l'utilisation du site comme décharge et éventuellement l'apport de remblais. C'est notamment le cas des fortes concentrations observées en profondeur dans la carotte F1-3, autour de 150 cm de profondeur. Ces teneurs élevées en métaux sont accompagnées de teneurs en Na importantes dans les horizons profonds pouvant indiquer le niveau de la lagune de sel comblé par la décharge dans la période d'après-guerre. Par ailleurs, les études antérieures ont mis en avant la présence d'une nappe souterraine à environ 4,5 m de profondeur à l'aide de mesure de résistivité électrique (Austruy *et al.*, 2018). Les fortes teneurs en métaux mesurées en profondeur, à 150 cm dans la carotte F1-3 et à plus de 200 cm dans la carotte F1-2, et la salinité importante de ces horizons peuvent aussi être la conséquence du niveau de battement de la nappe qui dans ce cas indique un risque de contamination de celle-ci. Enfin, des similitudes entre la distribution de certains ETMM et la matière organique ont été observées dans le profil de sol. En effet, la distribution de la matière organique dans le profil met en évidence deux zones d'accumulation de celle-ci, entre 140 et 160 cm puis entre 250 et 300 cm. Entre 140 et 160 cm, une teneur élevée est aussi mesurée en Al, Pb et Mg semblant identifier un horizon d'accumulation Bt (Testiati, 2012 ; Fonseca *et al.*, 2011). Ce résultat est conforté par une corrélation

forte et positive de la matière organique avec Al et Mg sur l'ensemble de la carotte F1-2 (respectivement $R^2 = 0,82$ et $0,71$, p-value $< 0,05$).

IV. Écotoxicité végétale

Ce second volet de l'étude vise à déterminer l'écotoxicité des mélanges de polluants retrouvés dans les sols du site Azur Chimie. Des tests écotoxicologiques ont été effectués dans le but de comparer les effets des différents mélanges à travers la réponse physiologique et la bioaccumulation des contaminants dans les végétaux.

IV.1. Méthodologie

IV.1.1. Sols étudiés

Les sols étudiés ont été retenus en fonction de leur composition en polluants : chacun d'eux est multi-contaminé, mais est caractérisé par un ou 2 polluants majoritaires. Ce choix a été réalisé dans le but de pouvoir comparer les effets toxiques de différents cocktails de polluants, en déterminant d'éventuels effets antagonistes ou synergiques et en identifiant la contribution de chaque catégorie de polluant.

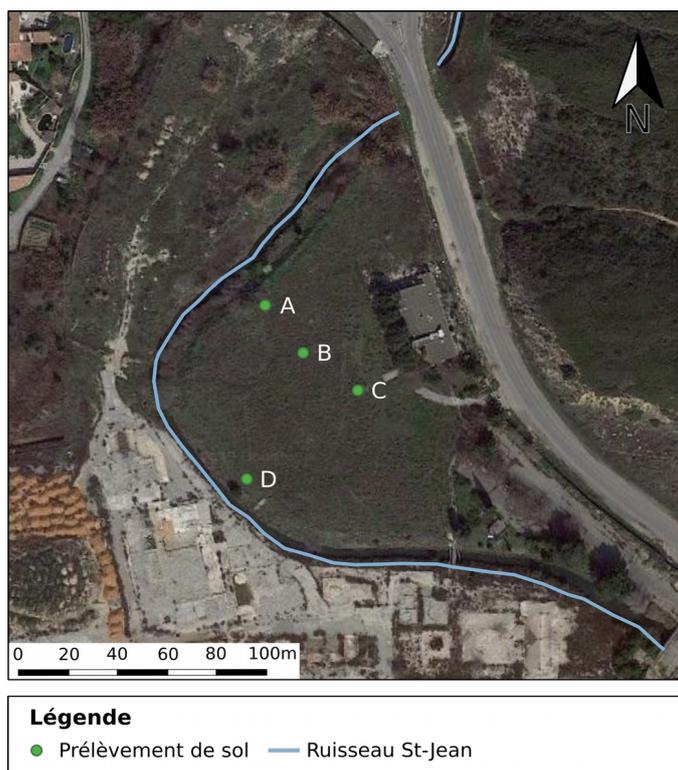


Figure 16 : Cartographie des différents points de prélèvement de sol.

Le choix des sols s'est basé sur un premier échantillonnage réalisé par Ciarlo (2017). Nous avons retenu les sols T1-3, T2-3, T3-3 et T2-1 ; qui ont été renommés respectivement sol A, B, C et D pour plus de clarté (Figure 24). Leurs principales caractéristiques sont indiquées dans la Figure 25.

Tableau 9 : Concentrations en contaminants et caractéristiques physico-chimiques des sols d'essai.

	ETMM (g/kg)						HAP (µg/kg)	PCB (µg/kg)	PCDD-F (ng/kg)	PBDE (µg/kg)
	Pb	Cr	Cu	Zn	Cd	Hg				
A	703	203	275	2 887	14	2	20 076	436	6 417	1 036
B	527	163	141	764	5	1	59 206	1 428	2 555	559
C	180	155	78	528	2	0	15 879	4 114	1 384	520
D	140	144	65	446	2	< 0.2	11 862	1 086	1 351	6 291
TV	14	5	34	68	0,2	< 0.2	1967	0	NA	NA
HUMIN	10	4	11	39	NA	< 0.2	119	0	53	NA

	pH eau	MO %	C orga %	N total (g/kg)	C/N	CEC	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)
A	8,1	5,4	3,1	2,82	11,1	13,8	9,4	29,3	61,4
B	8,3	3	1,8	1,38	12,8	10,9	10,8	39,9	49,4
C	8,3	2,9	1,7	1,1	15,4	11,1	15	30,5	54,5
D	8,3	3,1	1,8	1,45	12,5	10,7	12,9	38,2	48,9
TV	7,5	17	9,9	3,3	30	47,9	22,3	52,4	25,4
HUMIN	6,7	79,17	39,6	10,04	39,5	67,7	22,7	66,2	11

Le sol A se caractérise par la présence d'une forte contamination en métaux et métalloïdes et en PCDD-F ; le sol B par ses concentrations en HAP, plus spécifiquement pour BaP (6084 µg/kg), FIA (11083 µg/kg) ou Phe (8511 µg/kg) ; le sol C par une forte teneur en PCB et le sol D par des concentrations en PBDE élevées, principalement en BDE 209 (6174 µg/kg). Les analyses de concentrations en métaux et métalloïdes ont été réalisées au CEREGE et à l'IECP selon le même protocole que celui appliqué pour les sols prélevés dans la carotte de sol (cf. III.1.2). Les analyses des polluants organiques (PCB, HAP, PCDD-F, PBDE) ont été effectuées par le Laboratoire de la Drôme.

Plusieurs kilogrammes de sol ont été nécessaires pour réaliser la mise en culture des végétaux. Les 4 sols d'intérêt ont été prélevés fin aout 2018 avant d'être tamisés à 4 mm puis homogénéisés.

Lors d'essais écotoxicologiques menés sur des sols naturels, un sol de référence doit être utilisé, c'est-à-dire un sol non contaminé ayant les mêmes propriétés que le sol d'essai ; et/ou un sol standard considéré comme témoin positif permettant d'exprimer le potentiel maximal des végétaux dans les conditions du test (NF ISO 11269-2). Les essais ont été réalisés avec une terre végétale de la coopérative agricole de Berre l'Étang (support de culture NF U 44-551) comme sol de référence et un terreau horticole (Humin Substrat N2) en tant que témoin positif.

Pour la réalisation des tests d'écotoxicité, les sols soumis à essai ont été dilués avec le sol de référence afin d'évaluer la réponse des plantes face à différentes concentrations de polluants. Ainsi, pour chaque sol soumis à essai, 4 facteurs de dilution (FD) ont été appliqués :

- FD = 1, sol soumis à essai non dilué ;
- FD = 1/2, sol soumis à essai dilué à 50 % avec de la terre végétale ;
- FD = 1/4, 25 % de sol soumis à essai dilué dans 75 % de terre végétale ;
- FD = 0, 100 % de terre végétale.

IV.1.2. Conditions de culture

Au cours de son développement, la plante peut être perturbée par des stress chimiques comme la présence de contaminants organiques ou inorganiques. Ces perturbations influencent généralement le fonctionnement de la plante de manière défavorable (Serra, 2015). Ainsi, pour évaluer la toxicité de ces sols, deux espèces végétales ont été sélectionnées et cultivées sur ces différents sols et plusieurs paramètres physiologiques ont été suivis.

Cette étude s'appuie sur la norme NF ISO 11269-2 – Effets des sols contaminés sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs. Celle-ci décrit une méthode d'évaluation de la qualité d'un sol grâce à la détermination de la réponse physiologique sur les premiers stades de croissance de deux espèces végétales terrestres, une monocotylédone, *Hordeum vulgare* (orge commune) et une dicotylédone, *Raphanus sativus* (radis cultivé). L'orge est une espèce modèle très souvent utilisée dans les tests écotoxicologiques (Ati Ali *et al.*, 2004 ; Hubalek *et al.*, 2007 ; Zagury *et al.*, 2009). Le radis, issu de la famille des Brassicacées dont de nombreuses espèces ont des capacités d'accumulation des métaux et métalloïdes (Reisinger *et al.*, 2008 ; Sinha *et al.*, 2010 ; Amari *et al.* 2014), est particulièrement sensible à la contamination en ETMM et HAP (Benzarti *et al.*, 2008 ; Villatoro-Pulido *et al.*, 2009 ; Austruy *et al.*, 2016). Ces 2 espèces ont l'avantage de présenter une germination et une croissance rapide.

Pour mesurer la toxicité des sols de culture sélectionnés, chaque espèce végétale a été mise en culture sur les différents sols et leurs dilutions. Au total, pour chaque espèce végétale, 14 conditions de culture sont testées et répliquées 4 fois :

- le sol A * 3 FD ;
- le sol B * 3 FD ;
- le sol C * 3 FD ;
- le sol D * 3 FD ;
- le sol standard, dénommé HUMIN ;

- le sol de référence ou témoin (FD = 0), dénommé TV.

Ainsi, un total de 56 pots sont préparés pour chaque espèce végétale. Ils sont remplis avec environ 450 g de sol ou mélange de sol, puis 10 graines sont réparties de manière homogène et mises à germer dans chacun d'eux. Les pots sont disposés de manière aléatoire dans la chambre de culture et des rotations régulières sont également effectuées afin de limiter les effets de bordure sur les variations d'intensité lumineuse. Le rayonnement photosynthétiquement actif est mesuré à $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ à l'aide d'un PARmètre (JYP 1000 SDEC France). Il s'agit du rayonnement dont les longueurs d'ondes s'étendent de 400 à 700 nm, soit celles utilisées par le feuillage des plantes lors de la photosynthèse. La température est maintenue autour de 23 ± 1 °C grâce à un climatiseur, l'humidité entre 40 et 50 % et la photopériode est de 16 h.

Les sols sont hydratés quotidiennement avec de l'eau MilliQ dès la mise en culture, l'humidité du sol étant maintenue entre 80 et 100 % de la capacité maximale de rétention d'eau (capacité au champ).

Ayant rencontrés des difficultés inattendues pour la germination et la croissance des végétaux sur le sol de référence (TV) ainsi que sur les sols dilués, les résultats des cultures sur sols dilués ne seront pas traités dans ce rapport, ils seront présentés en annexe (Annexe 5). Cette terre végétale est pourtant équilibrée et exempte de tout polluant, et vendue aux agriculteurs. Un nouvel essai a été lancé début mai avec une terre agricole (prélevée sur des parcelles cultivées en foin de Crau au nord de l'Étang de Berre), la récolte étant programmée le 11 juin. Seules les données concernant les conditions non diluées seront présentées dans ce rapport. Ceux-ci seront comparés entre eux et avec le témoin positif (HUMIN), bien qu'il présente de bien meilleures conditions agronomiques.

Nous avons cherché à expliquer *a posteriori* la toxicité du substrat TV, qui présente pourtant toutes les caractéristiques agronomiques requises pour une croissance harmonieuse. La présence d'écorce de pins compostées dans la formulation pourrait expliquer tout ou partie de l'importante toxicité observée : de nombreux exemples fournis par la littérature (Morel *et al.*, 2000 ; Nektarios *et al.*, 2005 ; Hamrouni *et al.*, 2015) étayaient cette hypothèse d'une toxicité directe et/ou indirecte (eg carence induite en N) des écorces de résineux.

IV.1.3. Récolte et pré-traitement des échantillons de végétaux

Après quatre semaines et demie de culture (31 jours), les plants sont récoltés. Pour les radis, les individus sont récoltés pot par pot, les tubercules et feuilles sont séparés, puis pesés pour déterminer la biomasse fraîche. Chaque tissu est ensuite soigneusement nettoyé à l'eau milliQ pour éliminer toute trace de terre, et rapidement stockés au congélateur à -20 °C. Le traitement est similaire pour l'orge, mis à part que les racines ne sont pas prélevées.

Après récolte, les échantillons végétaux sont découpés à froid avec un couteau en céramique, homogénéisés et quartés afin d'obtenir deux fractions : une part pour le dosage des ETMM, des polluants organiques (PCB, HAP, PCDD-F, PBDE) et des teneurs en azote et l'autre partie pour le dosage des pigments chlorophylliens.

La première fraction est pesée pour déterminer sa biomasse fraîche (MF) puis lyophilisée (-55°C / 0,035 mbar, Christ alpha 1-4LD) jusqu'à une perte de masse inférieure à 5 % en 24 h. La lyophilisation permet d'éliminer l'eau des échantillons par sublimation à basse température et sous pression réduite. Une fois les échantillons végétaux lyophilisés, les masses sèches (MS) ont été déterminées à la balance de précision. Les échantillons ont ensuite été broyés en poudre fine à l'aide d'un broyeur équipé de bols et de billes en zirconium permettant de s'affranchir d'éventuelles contaminations métalliques (Retsch MM400 – fréquence 25 Hz – 2,5 min). Chaque échantillon est conditionné dans deux flacons en polyéthylène et stocké à -20 °C, car les analyses des polluants organiques ne seront pas réalisées sur place. La seconde fraction est stockée directement à -20 °C après quartage car le dosage des pigments photosynthétiques s'effectue sur matière fraîche.

IV.1.4. Mesure du taux de germination et croissance

IV.1.4.1. Évaluation du taux de levée

Le taux de levée est exprimé en pourcentage, calculé comme le rapport entre le nombre de graines dont les cotylédons (radis) ou le coléoptile (orge) ont percé la surface du sol et le nombre de graines semées dans le pot. La majorité des levées à lieu entre 3 et 7 jours.

Une fois la cinétique de germination évaluée (suivi du taux de levée au cours du temps), cinq plantules sont conservées dans chaque pot, évitant ainsi qu'une densité trop importante ne limite la croissance normale des végétaux. Cet éclaircissement a lieu 10 jours après semis.

IV.1.4.2. Évaluation de la vitesse d'élongation des feuilles d'orge

Afin de déterminer la vitesse d'élongation des feuilles d'orge, la longueur de la plus longue feuille de chaque plantule a été mesurée. Ces mesures ont été effectuées le 6^{ème}, 8^{ème}, 10^{ème}, 14^{ème} et 31^{ème} jour.

IV.1.4.3. Évaluation de la biomasse produite et teneur en eau

Les deux derniers paramètres utilisés pour mesurer le développement des végétaux sont :

- La biomasse fraîche produite par individu, celle-ci est mesurée juste après la récolte par pesée de la biomasse racinaire et aérienne ;

- La teneur en eau déterminée à partir de la biomasse fraîche et sèche de la première fraction mesurée avant et après lyophilisation. Son calcul est réalisé à partir de l'équation ci-dessous.

$$\text{Teneur en eau} = \frac{(MF - MS)}{MF} * 100$$

Où :

MF : Masse fraîche

MS : Masse sèche

IV.1.5. Analyses des échantillons végétaux

IV.1.5.1. Mise en solution pseudo-totale des ETMM

Les végétaux récoltés lyophilisés et broyés, sont prêts à être minéralisés. La minéralisation a été réalisée sur plaque chauffante, permettant de traiter un nombre important d'échantillons. Pour cela environ 0,2 g d'échantillon sont prélevés et introduits dans des flacons Savillex ®, avec 1,5 ml de HCl et 2,5 ml de HNO₃.

Les flacons sont ensuite mis à chauffer durant 12 h à 80 °C, et après refroidissement, 0,5 ml de peroxyde d'hydrogène sont ajoutés progressivement afin de dégrader la matière organique. Par la suite, les échantillons sont remis à chauffer pendant 48 h à 140 °C. Certains échantillons, dont la digestion était incomplète, ont nécessité l'ajout supplémentaire de 0,5 ml de HCl et 0,5 ml de HNO₃. Ils ont été replacés sur plaque chauffante pendant 48 h. Une fois la minéralisation effectuée, les solutions sont transvasées dans des tubes à centrifuger de type Falcon, et ajustés à 10 ml avec de l'eau milliQ. Le tout est homogénéisé, pesé puis placé à 4 °C en attendant les analyses ICP-MS et ICP-AES.

IV.1.5.2. Détermination des concentrations en pigments photosynthétiques

La première étape de la détermination consiste en l'extraction des chlorophylles. Les échantillons de feuilles sont finement broyés à froid dans un mortier en agate refroidi dans l'azote liquide. Un aliquot d'environ 300 mg du broyat obtenu est recueilli dans un tube à centrifuger de 15 mL de type Falcon ; une pointe de spatule de carbonate de calcium est ajoutée (afin de neutraliser l'acidité des sèves) avant versement de 10 mL d'acétone 80 % v/v. Les tubes sont immédiatement recouverts de papier aluminium (pour préserver l'obscurité) et placés dans un bain de glace à 4 °C, afin d'éviter toute dégradation des pigments. Ils sont régulièrement agités et après une durée d'extraction de 5 h, sont centrifugés à 1500 g pendant 10 min.

Les teneurs en chlorophylles *a* et *b* et en caroténoïdes sont ensuite déterminées par spectrophotométrie (Spectrophotomètre Jasco V-650). Ce dernier permet de déterminer l'absorbance A_λ , qui représente la capacité de l'espèce chimique d'intérêt à absorber la lumière à une longueur d'onde λ . Pour chaque tube, environ 2 mL de surnageant sont récupérés avec une micropipette puis insérés dans une cuve en quartz, afin d'être analysés au spectrophotomètre. Dans notre cas, pour déterminer les teneurs en pigments, l'absorbance de nos échantillons est mesurée à trois longueurs d'ondes 460, 646,6 et 663,6 nm.

Des équations empiriques sont ensuite utilisées pour déterminer les concentrations en pigments à partir de l'absorbance (Porra, 2001).

$$[\text{Chl a}] \text{ (mg/L)} = 12.25 \text{ DO}_{663.6} - 2.55 \text{ DO}_{646.6}$$

$$[\text{Chl b}] \text{ (mg/L)} = 20.31 \text{ DO}_{646.6} - 4.91 \text{ DO}_{663.6}$$

$$[\text{Car}] \text{ (mg/L)} = 5 \text{ DO}_{460} - ((3,19\text{Chla} + 130,3\text{Chlb}) / 200)$$

IV.1.5.3. Teneurs en carbone et azote totaux

La détermination des teneurs en azote et carbone totaux ne requiert que peu de préparation supplémentaire des échantillons. 7 mg d'échantillons broyés et lyophilisés sont prélevés dans des nacelles en étain. L'appareil (Analyseur élémentaire FlashSmart 2000 ThermoFisher) est calibré avec l'acide aspartique et la justesse des mesures est vérifiée à l'aide d'échantillons standards (laitue IPE 776 - WEPAL).

IV.1.6. Traitements statistiques

Afin de comparer les résultats obtenus entre les différentes conditions de culture, le test de Wilcoxon Mann-Whitney a été utilisé. C'est un test non paramétrique de comparaison de moyennes de deux échantillons indépendants ou appariés. Le niveau de significativité retenu est $p < 0,05$.

Des Analyses en Composantes Principales (ACP) ont également été réalisées. L'ACP permet de définir de nouvelles variables qui sont des combinaisons linéaires des variables initiales, en maximisant l'information. Les nouvelles variables sont appelées les composantes principales et les axes qu'elles déterminent les axes principaux. Elle permet ainsi de représenter graphiquement les corrélations entre variables, et comment ces variables sont représentées par les individus (les réplicats de végétaux dans notre cas).

IV.2. Réponse physiologique des plantes à la toxicité des sols

IV.2.1. Germination

La Figure 26 présente le taux de germination des graines d'orge et de radis en fonction du temps.

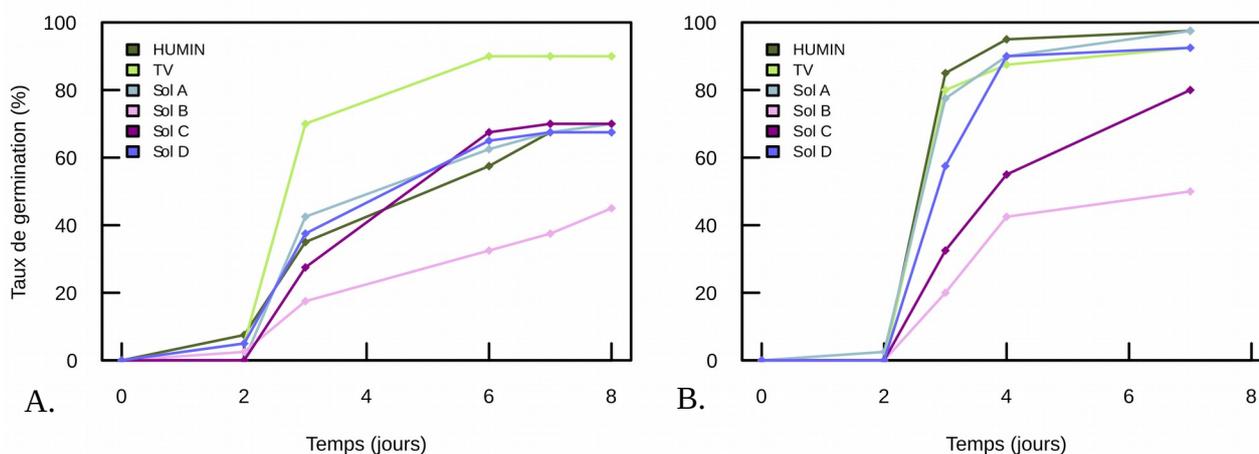


Figure 17 : Cinétique de germination sur les différents sols de culture chez (A) l'orge et (B) le radis (n=40).

Dès le deuxième jour, les graines d'orge ont commencé à germer. Au troisième jour, la terre végétale utilisée comme sol de référence a commencé à se démarquer des autres conditions avec un taux de germination de 70 % en moyenne, tandis que les autres sols, y compris le témoin positif HUMIN présentaient un taux de germination proche de 35-40 %. Dès ce troisième jour, le sol B a montré un retard de germination, qui persistera et s'accroîtra jusqu'au 8^{ème} jour. Par la suite, les tendances sont restées les mêmes. Le sol de référence a maintenu un taux de germination élevé jusqu'à atteindre 90 % le 8^{ème} jour tout comme HUMIN. Les conditions A, C, D et HUMIN ont continué à germer de façon régulière jusqu'à atteindre un taux de germination de 70 % au bout du 8^{ème} jour. La condition B n'a germé en moyenne qu'à 45 %, soit près de 50 % moins que sur le sol de référence.

Comme pour l'orge, la germination des radis a débuté le second jour. Les deux témoins ont répondu de manière similaire, ainsi que les réplicats de la condition A, qui ne semblent pas être affectés par la présence de contaminants. Leur taux de germination est compris entre 90 et 97,5 %. Les réplicats du sol D présentent un léger retard de germination dans les premiers jours, mais qui est

rattrapé par la suite. En revanche, les réplicats B et C présentent un taux de germination plus faible au terme des huit jours, respectivement de 50 et 80 %.

L'orge et le radis montrent ainsi des différences dans leur réponse vis-à-vis des sols contaminés, mais également vis-à-vis des sols témoins. La germination sur le sol de référence (TV) se démarque des autres sols pour l'orge, même vis-à-vis du témoin positif HUMIN, ce qui n'est pas observé pour le radis. Les radis cultivés sur le sol C présentent un retard ou une inhibition de la germination qui n'est pas présente pour l'orge. Enfin, pour les deux espèces cultivées sur le sol B, contaminé principalement aux HAP, le taux de germination était plus faible que pour les autres réplicats. Henner *et al.* (1999) a montré qu'en présence de HAP dans le sol de culture, l'orge voyait son taux de germination diminuer à 45 % pour une concentration de 50 mg/kg. Nous observons le même résultat, la concentration en HAP étant dans notre cas tout à fait comparable (59 mg/kg). La germination des radis semble être affectée de la même manière. Le sol C est caractérisé par ses fortes teneurs en PCB. Le radis apparaît comme étant plus sensible au mélange de contaminants présents dans ce sol.

IV.2.2. Croissance végétale

La croissance des feuilles d'orge a été mesurée au 6^{ème}, 8^{ème}, 10^{ème}, 12^{ème} et 31^{ème} jour après la mise en culture.

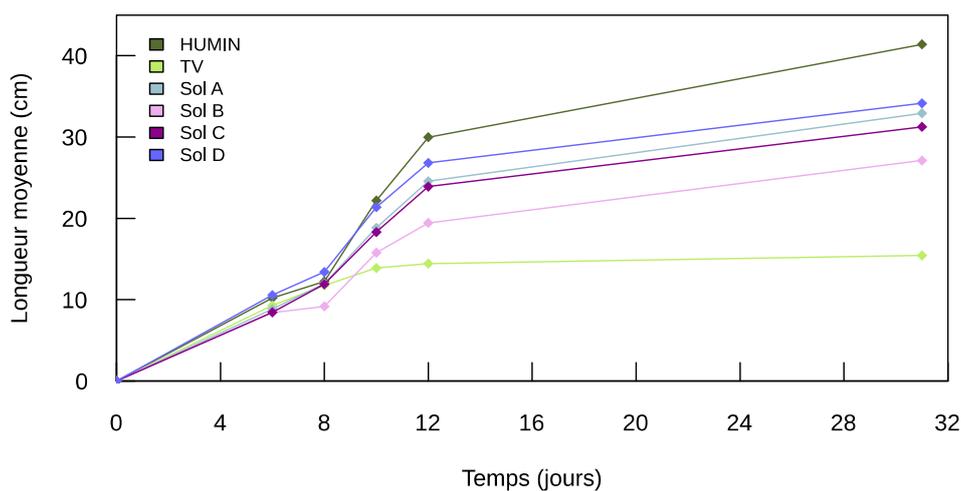


Figure 18 : Cinétique de croissance des feuilles d'orge par condition de culture (n=20).

La Figure 27 présente la longueur moyenne des pousses d'orge en fonction du temps pour les différentes conditions de culture. Une différence significative est observée dès le 8^{ème} jour entre le sol B et D (test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Au 10^{ème} jour, l'orge mise en culture sur le sol référence (TV) présente une croissance nettement inférieure aux autres traitements, malgré sa faible contamination. Le sol B semble également en retard de croissance. Cette tendance se confirme et même s'accroît au-delà du 12^{ème} jour, où le sol référence présente une différence significative avec tous les autres sols. La croissance en longueur des feuilles sur ce sol semble même stagner dès 12 jours, alors qu'elle continue à augmenter légèrement pour les autres traitements. En revanche, la plus forte croissance est observée sur le sol HUMIN (témoin positif), présentant de bonnes conditions agronomiques et une faible contamination.

Les sols A, C, D semblent avoir réagi de manière très similaire à la présence de polluants, avec une croissance des feuilles légèrement plus faible que pour HUMIN. Comme pour le taux de germination, le sol B est celui qui présente la croissance la plus faible. Plusieurs études ont montré une inhibition de la croissance en présence de HAP, principalement mesurée par les données de biomasse fraîche, discutées dans la partie suivante.

IV.2.3. Biomasse végétale

Au terme de 31 jours de culture, les végétaux ont été récoltés et leur biomasse fraîche mesurée (Annexe 5).

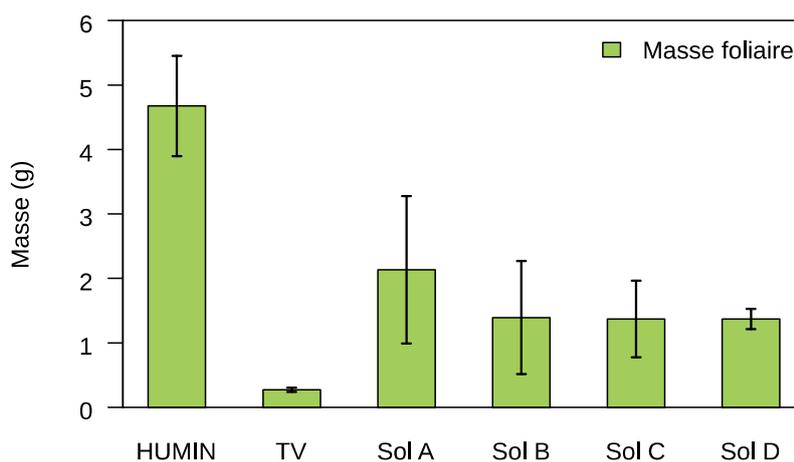


Figure 19 : Biomasse fraîche moyenne et écarts-types des feuilles d'orge par condition de culture (n=20).

La Figure 28 présente la biomasse fraîche moyenne des feuilles d'orge, mesurée pour chaque condition de culture. Nous pouvons noter que la biomasse obtenue pour le sol de référence TV est très largement inférieure aux autres, ce qui confirme l'existence d'un effet toxique de TV sur la croissance des végétaux.

Les réplicats des sols contaminés présentent tous une différence significative avec le témoin positif HUMIN, mais pas entre eux ($p < 0,05$). La biomasse fraîche des feuilles d'orge est 70 % plus faible pour les conditions B, C et D, et 55 % pour la condition A par rapport au témoin positif. Le sol A, soumis à une forte concentration en ETMM et en PCDD-F, semble avoir un effet toxique moins prononcé pour la croissance de l'orge (53 % de croissance en plus que pour les sols B, C, D).

Nous remarquons également que la biomasse est un indicateur plus sensible que la longueur des feuilles. En effet, les différences entre les sols d'essais et le témoin positif sont de 20 à 35 % pour la longueur des feuilles, contre 55 à 70 % pour la biomasse. Cependant la mesure de longueur des feuilles présente l'avantage d'être non destructif et se trouve être pertinent pour les 2 ou 3 premières semaines de croissance. Au-delà, la croissance s'effectue plutôt en « épaisseur », par tallage, notamment observé pour l'orge cultivée sur le témoin positif.

L'impossibilité de comparer les valeurs de biomasse obtenues sur sols contaminés avec un sol témoin aux caractéristiques proches limite l'interprétation de ces données et les différences significatives observées. Cependant, les résultats obtenus montrent que le mélange de polluants rencontrés dans le sol A, principalement dominé par les métaux (Cd, Pb, Zn, Hg) et les PCDD-F impacte de façon moins importante le cocktail de polluants mesuré dans les autres sols et notamment ceux rencontrés dans le sol B dominés principalement par les HAP. Ce résultat peut aussi être la conséquence d'un taux de matière organique près de deux fois plus élevé dans le sol A que dans les autres conditions, paramètre agronomique influençant positivement la croissance végétale (Delaunois *et al.*, 2008).

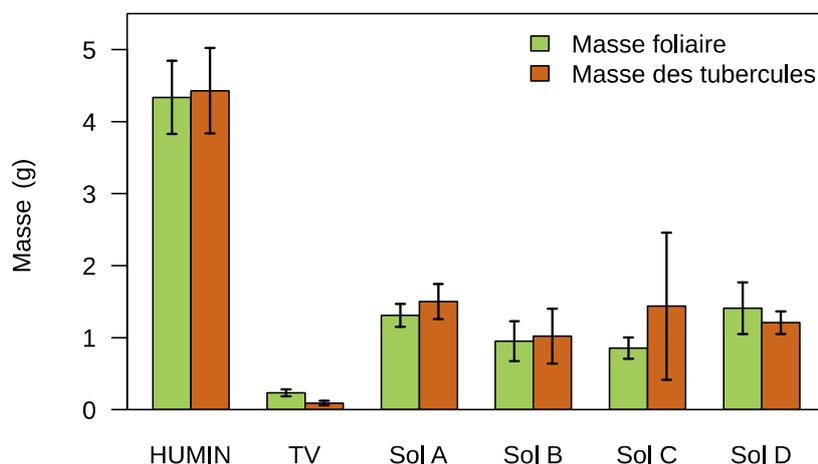


Figure 20 : Biomasse moyenne des feuilles de radis (vert) et des tubercules (marron) par condition de culture. La masse des tubercules a été divisée par trois afin de pouvoir comparer les deux paramètres ($n=20$).

La Figure 29 présente la biomasse fraîche moyenne des feuilles et des tubercules de radis, mesurées pour chaque condition de culture. Comme pour l'orge, le sol de référence (TV) montre

également un effet toxique sur la croissance du radis. Concernant les masses foliaires, les végétaux des sols A, B, C, D présentent une différence significative avec le témoin positif (HUMIN), de l'ordre de 70 à 80 %. Le sol D est celui pour lequel la masse moyenne est la plus élevée, et une différence de près de 40 % est constaté avec le sol C, pour lequel la masse est la plus faible. Concernant les masses des tubercules, les résultats sont un peu plus contrastés. En effet, les végétaux des sols contaminés présentent une différence de 70 à 80 % avec HUMIN, mais des différences significatives sont également notables entre ces sols. Le sol A est celui où la croissance a été la plus élevée et le sol B la moins élevée, avec une différence de 36 %. Ainsi, les HAP, polluants majoritaires du sol B, semblent impacter davantage la croissance racinaire, phénomène déjà constaté dans des travaux antérieurs (Bonnard, 2010).

D'un point de vue plus général, les valeurs de la biomasse foliaire et des tubercules évoluent sensiblement de la même manière. Les végétaux présentent la plus faible biomasse pour les sols B et C dont la contamination est principalement dominée par les HAP et les PCB respectivement.

En conclusion, les biomasses des deux espèces présentent un niveau comparable d'inhibition de la croissance par rapport au témoin positif HUMIN. Cependant, l'orge semblerait être plus sensible au mélange de contaminant du sol B, où les HAP sont majoritaires, tandis que le radis serait plus sensible au mélange du sol C, où les PCB sont majoritaires. Les cocktails de polluants du sol A, dominé par les métaux et PCDD-F, et du sol C principalement dominé par les PBDE semblent présenter une plus faible toxicité.

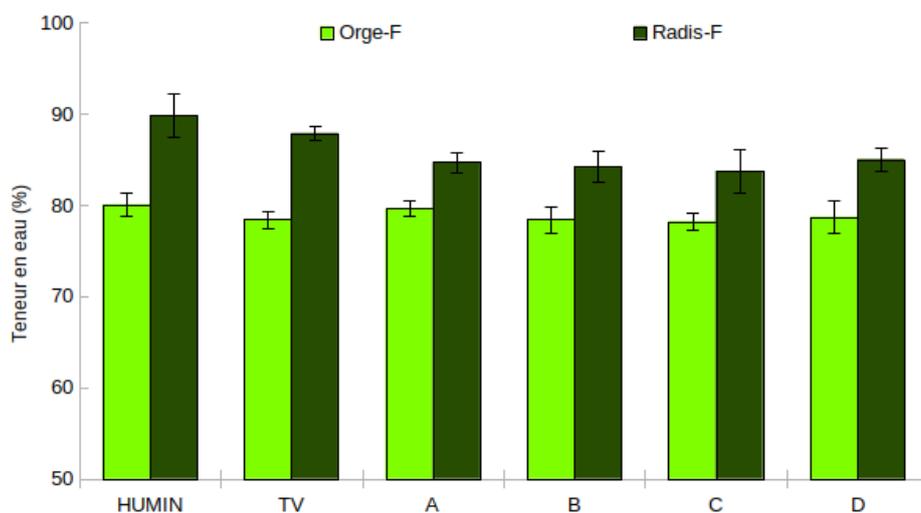


Figure 21 : Teneurs en eau moyennes (en %) des feuilles d'orge (vert clair) et de radis (vert foncé) par condition de culture (n=4).

Enfin, après lyophilisation et mesures des biomasses sèches, les teneurs en eau des feuilles ont été calculées (Figure 30). Pour l'orge, les teneurs en eau ne varient que très peu et se situent

autour de 80 %. En revanche chez le radis, les teneurs en eau sont légèrement supérieures sur les substrats non contaminés HUMIN et TV (environ 90 et 88 %, respectivement) contre 85 % en moyenne pour les 4 sols contaminés.

Du point de vue de la teneur en eau, orge et radis se comportent donc différemment en présence de contaminants : l'orge ne semble pas affectée, au contraire du radis. La présence d'ETMM toxiques (Cd, Pb) ou d'oligo-éléments en excès (Zn, Cu) peut perturber la nutrition hydrique des plantes, en particulier chez les dicotylédones comme le tournesol, le pois ou le haricot, perturbations qui se manifestent notamment par une diminution de la teneur en eau des feuilles (Pahlsson, 1989 ; Kastori *et al.*, 1992). Si les effets délétères des ETMM sur le statut hydrique des plantes sont très bien documentés, les effets des contaminants organiques sur cet aspect de la physiologie le sont beaucoup moins. Retenons tout de même les travaux de Dupuy (2014) qui n'ont relevé aucune modification significative de la teneur en eau des feuilles de maïs cultivé sur différents sols contaminés aux HAP.

Enfin, notons qu'un déficit hydrique, notamment en limitant l'ouverture des stomates, peut entraîner une diminution de la croissance et des perturbations du métabolisme carboné (relations entre organes sources et puits) (Muller *et al.*, 2011).

IV.2.4. Teneurs en pigments

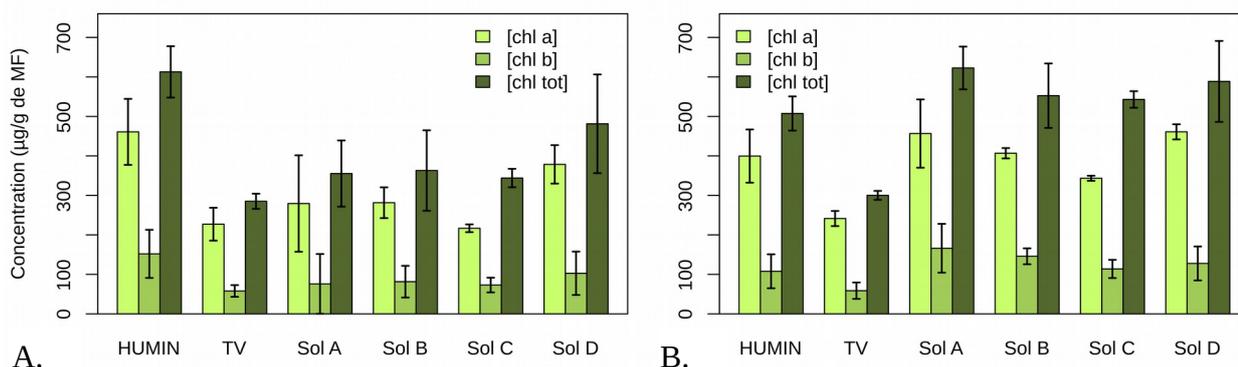


Figure 22 : Teneurs en chlorophylles a, b et totales en µg/g de MF chez (A) l'orge et (B) le radis (n=4).

La quantification des pigments chlorophylliens permet d'évaluer l'état physiologique de la plante. Deux chlorophylles a forment le centre réactionnel qui permet la transformation de l'énergie photonique en énergie chimique lors de la photosynthèse. L'antenne collectrice, regroupant les chlorophylles a et b, absorbe les photons. Un stress abiotique, comme la présence en grande quantité de polluants dans le sol, peut entraîner une inhibition de la voie de biosynthèse ou de dégradation des chlorophylles et aboutir à un dysfonctionnement des photosystèmes (Austruy *et al.*, 2013). Ceci influe sur le rendement de la photosynthèse et diminue ainsi la production de biomasse.

L'étude des teneurs en chlorophylles peut donc nous renseigner sur un éventuel impact de la pollution du sol sur la voie de biosynthèse des chlorophylles (Li *et al.*, 2007 ; Zhao *et al.*, 2009 ; Austruy *et al.*, 2013).

La Figure 31 A présente les teneurs en chlorophylles *a*, *b* et totales des feuilles d'orge pour chaque condition de culture.

Les sols A, B, C, D ne présentent pas de différence statistiquement significative entre eux concernant les deux types de chlorophylles étudiés et les teneurs totales. En revanche, les sols présentent une différence significative avec le témoin positif HUMIN pour la chlorophylle *b* et la chlorophylle totale, sauf pour le sol D. Ce dernier semble avoir un faible impact toxique sur l'orge.

Nous pouvons également observer des tendances générales. Les sols A et B montrent des concentrations similaires qui représentent 25 % de chlorophylle *a* et *b* en moins par rapport au sol D, et 23 % en plus par rapport au sol C. Entre les sols C et D, la différence est supérieure à 30 %, les teneurs en chlorophylles les plus faibles étant mesurées pour la condition C. Les teneurs en chlorophylles totales évoluent de la même manière que les teneurs en chlorophylles *a* et *b* prises séparément.

Les faibles teneurs en chlorophylles, mesurées notamment pour la condition C et dans une moindre mesure dans les végétaux cultivés sur les sols A et B, influencent le fonctionnement du photosystème II (PSII – complexe enzymatique photorécepteur) et notamment sa capacité à capter l'énergie lumineuse (Duquesnoy *et al.*, 2009), entraînant alors une perturbation de son activité photosynthétique et de son développement physiologique observé précédemment.

La Figure 31 B présente les teneurs en chlorophylles *a*, *b* et totales contenues dans les feuilles de radis pour chaque condition de culture. Les teneurs en chlorophylles *a* pour les végétaux ayant poussé sur le témoin positif HUMIN ne présentent pas de différence significative avec les autres sols, et sont plus faibles en moyenne que pour les sols A, B et D. Excepté le sol de référence (TV), les teneurs en chlorophylle *b* et en chlorophylles totales sont les plus faibles pour HUMIN. La chlorophylle *b* présente un spectre d'absorption différent de celui de la chlorophylle *a* permettant d'augmenter la quantité d'énergie lumineuse absorbée et donc le rendement énergétique de la photosynthèse (Maxwell et Johnson, 2000). Ces plus faibles teneurs en chlorophylles observées dans les radis cultivés sur le sol HUMIN peuvent être la conséquence d'un taux de croissance élevé de la biomasse aérienne par rapport à la biosynthèse des chlorophylles (Dapoigny *et al.*, 1996 ; Bojovic *et al.*, 2005).

Cela pourrait être dû au fait que les végétaux ayant poussé sur HUMIN ont une plus forte biomasse, donc des besoins accrus en azote, qui n'ont pas pu être pleinement satisfaits sur la durée de la culture en raison de la petite taille des pots ; ce qui aurait alors induit une plus faible concentration en chlorophylles. Pour la chlorophylle *a*, les valeurs ne sont pas significativement différentes entre les sols d'étude, cependant les concentrations des végétaux des conditions B et C

sont respectivement 11 % et 25 % plus faibles que pour les conditions A et D. Les concentrations en chlorophylle *b* sont également les plus faibles pour la condition C, de l'ordre de 30 %, 20 % et 10 % par rapport aux conditions A, B et D respectivement. Pour la chlorophylle totale, les tendances sont les mêmes, avec des valeurs plus faibles pour les sols B et C.

La Figure 32 A présente les concentrations moyennes en caroténoïdes présentes dans les feuilles d'orge. Pour les conditions A, B et C, les valeurs sont similaires ($\pm 5\%$). En revanche, il semble qu'il y ait une meilleure synthèse des caroténoïdes pour les végétaux de la condition D. Les variations de concentrations en chlorophylles totales et en caroténoïdes entre les différentes conditions testées semblent relativement synchrones et mettent en évidence l'impact des mélanges de polluants des sols A, B et C et plus spécifiquement des HAP et PCB sur la synthèse des pigments au niveau foliaire.

Par ailleurs, dans une étude sur les effets des métaux sur l'orge, Juknys *et al.* (2009) ont montré que pour une contamination en Cu, Cr, Ni, Cd, la concentration en chlorophylles totales et en caroténoïdes était maximale à faible concentration (1-3 μM). Deux hypothèses ont été émises pour expliquer ce phénomène : (i) l'augmentation des chlorophylles et surtout des caroténoïdes serait expliquée par une réaction de défense de la plante face aux stress oxydatifs causés par les métaux (hormèse) et (ii) la concentration en pigments photosynthétiques serait plus grande car la biomasse serait plus faible, c'est-à-dire que les pigments seraient répartis plus densément.

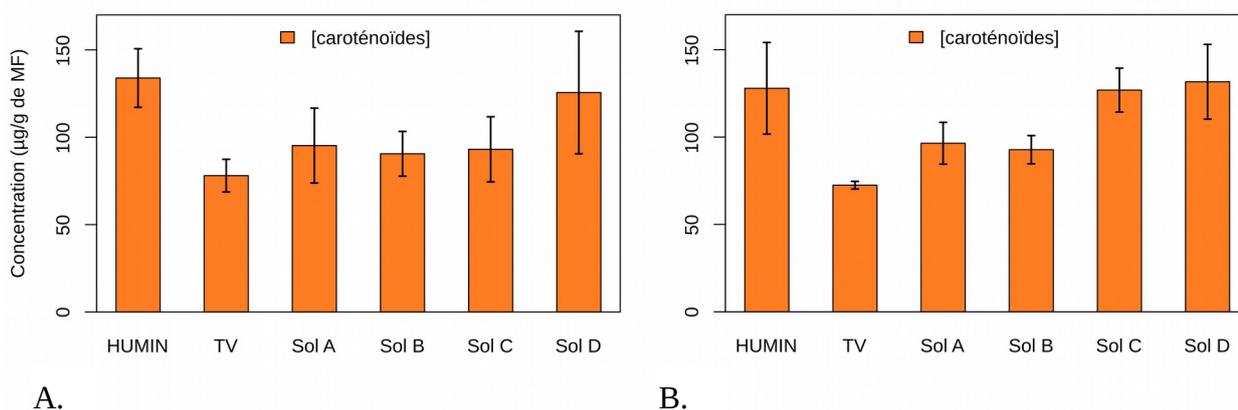


Figure 23 : Teneurs de caroténoïdes en $\mu\text{g/g}$ de MF chez (A) l'orge et (B) le radis ($n=4$).

Chez le radis (Figure 32 B), les teneurs en caroténoïdes semblent suivre des tendances différentes par rapport aux teneurs en chlorophylles *a*. En effet, les végétaux cultivés sur le sol HUMIN présentent des teneurs comparables à celles des sols C et D, tandis que les conditions A et B montrent des concentrations plus faibles de 25 %.

Les réponses des radis ont été différentes pour les teneurs en chlorophylles et celles en caroténoïdes. Les conditions B, C et HUMIN montrent de plus faibles teneurs en chlorophylles, tandis que ce sont les conditions A et B qui présentent les plus faibles valeurs pour les caroténoïdes. Il a été montré qu'une diminution du taux de chlorophylles ne s'accompagnait pas toujours d'une diminution du taux de caroténoïdes chez *Arabidopsis thaliana* lorsque le sol était contaminé en TCDD, le congénère le plus toxique des dioxines (Hanano *et al.*, 2014). Cela prouve que la variation entre ces deux paramètres n'est pas forcément reliée. Cependant, si nous comparons cette donnée avec nos résultats, nous pouvons observer la tendance inverse. Les végétaux cultivés sur le sol A, qui est le plus contaminé en PCDD, présente des valeurs plus faibles en caroténoïdes proportionnellement aux autres sols, alors que les valeurs en chlorophylles étaient élevées. Cependant, les métaux et métalloïdes sont également très présents dans ce sol, ce qui pourrait expliquer ces différences.

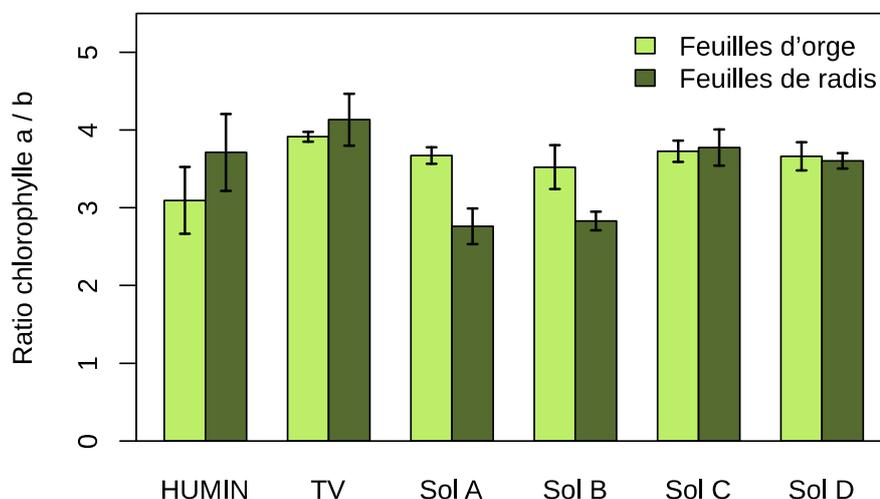


Figure 24 : Valeurs moyennes du ratio [chlorophylle a] / [chlorophylle b] pour chaque condition de culture (n=4).

Les rapports de concentrations entre chlorophylles *a* et chlorophylles *b* ont également été calculés (Figure 33). Ce ratio est souvent utilisé pour caractériser l'état de l'appareil photosynthétique ; bien qu'il reste relativement constant (autour de 3) chez les végétaux supérieurs, il peut varier significativement en fonction de l'état physiologique de la plante (Kouril *et al.*, 1999).

À nouveau, radis et orge ne se comportent pas de la même manière quant à la présence de polluants. Chez l'orge, le ratio le plus faible (3,1) est mesuré dans la condition HUMIN, le plus élevé pour le sol de référence (3,9). Pour les végétaux cultivés sur les sols contaminés, les conditions A, C et D sont proches entre elles (3,7 environ), B se démarque (3,5). Chez le radis, si on retrouve le ratio le plus élevé chez TV (4,1), les conditions A et B sont nettement plus faibles (2,8), tandis que C, D et HUMIN sont intermédiaires (entre 3,6 et 3,8).

La littérature nous fournit des cas où la toxicité des ETMM influe sur le ratio entre chlorophylles *a* et chlorophylles *b*. Par exemple, Paivoke et Simola (2001) ont rapporté une diminution du ratio chez le pois exposé à l'arsenic, résultat qui peut se comparer au radis exposé au sol A, le plus riche en ETMM parmi les 4 sols testés. Cependant, l'interprétation de l'évolution du ratio entre chlorophylles *a* et *b* peut être hasardeuse du fait de l'interaction sur ce paramètre entre la présence de polluants, l'intensité lumineuse et le statut azoté de la plante (Kitajima et Hogan, 2003).

IV.2.5. Teneurs en azote

La chlorose observée sur les végétaux cultivés pourrait s'expliquer de deux manières (Figure 34). Ceux-ci pourraient être carencés en azote et/ou ce serait l'effet toxique des contaminants présents dans les sols et qui pourraient s'accumuler dans les végétaux.



Figure 25 : Chlorose observée sur les feuilles d'orge et de radis au jour 25 de croissance.

En effet, chez les végétaux, l'azote est un élément indispensable à la synthèse de la matière vivante telles que les protéines, les chlorophylles ou les enzymes. C'est un élément mobile dans la plante, qui peut être remobilisé des vieilles feuilles vers les jeunes. En cas de carence en azote, il peut y avoir une inhibition de la croissance et une diminution des concentrations en protéines et en chlorophylles. Se forment alors des chloroses et des tiges chétives (Cadet, 2008).

Comme vu précédemment, certains cations toxiques peuvent être compétiteurs des cations essentiels. C'est notamment le cas de Cd, qui inhibe significativement l'absorption de l'azote, du potassium, magnésium et du manganèse (Cheng, 2003).

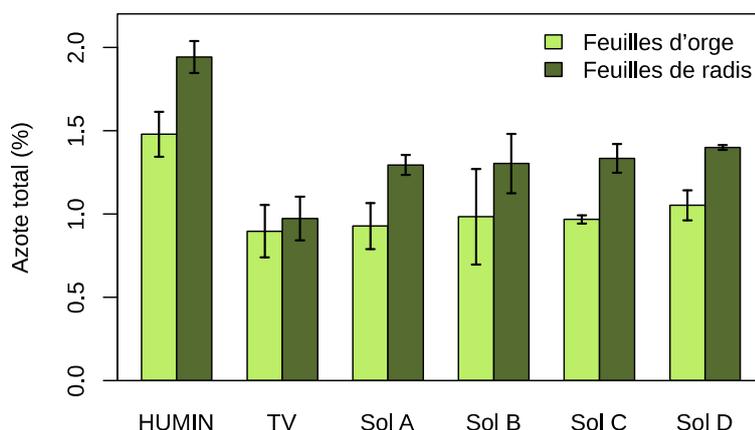


Figure 26 : Teneurs en azote total (%) mesurées dans les feuilles d'orge (vert clair) et de radis (vert foncé).

Pour tenter de trancher entre ces deux hypothèses, les concentrations en azote (et en carbone) ont été mesurées. La Figure 35 présente les concentrations foliaires moyennes en azote total analysées chez l'orge et le radis pour chacune des conditions. Le test de Wilcoxon-Mann-Whitney montre une différence significative ($p < 0,05$) entre les concentrations obtenues sur les végétaux cultivés sur le témoin positif HUMIN et celles obtenues pour les végétaux des sols d'essai.

Chez le radis, la variation entre les conditions A, B, C et D est inférieure à 8 %. En revanche, chez l'orge les conditions A et D présentent une différence significative de 12 % (en faveur de D). Nous pouvons noter que les teneurs en azote total des sols et celles des végétaux ne semblent pas directement liées car le sol A présente une concentration supérieure de 24 % par rapport au sol D. Ceci se confirme au regard de la condition TV, dont la concentration du sol est proportionnellement supérieure à celle contenue dans les feuilles.

Les valeurs obtenues sont faibles et nous indiquent que les végétaux semblent tous carencés en azote (la condition HUMIN dans une moindre mesure). Les sols A, B, C et D sont des sols relativement pauvres en azote. Au bout de 4 semaines de culture réalisée dans des pots relativement petits, tout l'azote disponible a probablement été consommé, même pour la condition HUMIN.

Ces faibles valeurs en N dans les parties aériennes prouvent que la nutrition azotée était déficiente à l'issue des 31 j de culture dans TV et les 4 sols contaminés, et peuvent expliquer à elles seules les chloroses et les variations des ratios entre chlorophylles a/b. En effet, d'après Kitajima et Hogan (2003), ce ratio augmente quand la disponibilité en N diminue, particulièrement en cas d'éclaircissement élevé (nos conditions d'éclaircissement sont élevées). Ce constat s'applique également

dans notre cas, le radis et l'orge cultivés sur le sol de référence (TV) ayant les plus faibles teneurs en N et le ratio Chl a/b le plus élevé. Pour l'orge cultivé sur le sol HUMIN le ratio le plus bas correspond au taux d'azote le plus élevé (mais pas pour le radis).

Les réponses physiologiques des végétaux face aux cocktails de polluants contenus dans les sols ont été détaillées en considérant chaque paramètre séparément. La Figure 36 résume les variations des valeurs obtenues par rapport à la condition HUMIN.

Tableau 10 : Différences observées avec le témoin positif HUMIN pour chaque condition. Les valeurs négatives sont les valeurs inférieures à celles de la condition HUMIN. En rouge sont mis en évidence les plus grands écarts et * signifie une différence significative.

	Germination	Biomasse foliaire	Chlorophylle a	Chlorophylle b	Chlorophylle tot	Caroténoïdes	Chlorophylle a/b	Azote total
<i>Hordeum vulgare</i>								
A	4 %	-55% *	-39% *	-50% *	-42% *	-29 %	18 %	-30% *
B	-33% *	-70% *	-39% *	-46% *	-41% *	-32 %	20 %	-25% *
C	4 %	-70% *	-53% *	-51% *	-44% *	-30% *	13 %	-20% *
D	0 %	-70% *	-18 %	-32 %	-21 %	-6 %	18 %	-32% *
<i>Raphanus sativus</i>								
A	0 %	-68% *	14 %	54% *	23 %	-24 %	-25% *	-33% *
B	-48 %	-77% *	2 %	35 %	8 %	-27% *	-23% *	-33% *
C	-18 %	-79% *	-14 %	5 %	7 %	-1 %	2 %	-31% *
D	-5 %	-70% *	15 %	18 %	16 %	3 %	-4 %	-28% *

Chez *Hordeum vulgare*, d'importants écarts sont observés entre les réponses physiologiques des végétaux cultivés sur les sols contaminés et ceux cultivés sur le sol HUMIN. Le mélange de polluants présent dans le sol B (caractérisé par de fortes teneurs en HAP notamment) semble considérablement affecter le taux de germination, de caroténoïdes et le ratio chlorophylles a/b. Le sol C s'est également avéré fortement toxique pour les végétaux, pour lesquels la biomasse et les teneurs en pigments photosynthétiques sont les plus impactées. Le sol A et D en revanche semblent être moins toxiques. Le ratio chlorophylle a/b évolue de manière inverse aux autres paramètres, mais il reste le plus faible pour le sol C, pourtant fortement toxique. De même, les teneurs en azote total ne semblent pas évoluer de la même manière que les autres paramètres. O'Neill *et al.* (1984) avaient pourtant observé une forte corrélation entre les concentrations en chlorophylles, en caroténoïdes et en azote chez l'orge.

Chez *Raphanus sativus*, les sols B et C se sont également avérés les plus toxiques concernant le taux de germination et la biomasse végétale, et les concentrations en chlorophylles a pour le sol C. Les concentrations en chlorophylles sont plus fortes chez les végétaux ayant été cultivés sur sol contaminé, notamment sur les sols A et D où la germination et la biomasse ont été les moins impactées. Le ratio chlorophylle a/b est cette fois comparable à celui de la condition HUMIN, ou plus faible pour les sols C et D, qui ont pourtant initié des réponses physiologiques assez contrastées. En résumé, les sols A et D semblent moins toxiques que les sols B et C pour les deux espèces, même si de légères différences sont notées entre les deux.

Afin de pouvoir synthétiser ces informations, il semble intéressant de réaliser des analyses en composantes principales, outil qui permet de construire un nouveau système de représentation et nous indiquer les relations plus spécifiques entre les paramètres.

Conclusions et perspectives

La mise en évidence d'une multi-contamination de surface présente sur le site d'Azur Chimie a soulevé la question du transfert de ces contaminants en profondeur, mais également la question de la toxicité des mélanges vis-à-vis des végétaux.

Dans un premier temps, l'analyse des deux carottages effectués sur le site a confirmé l'importante contamination de surface, avec des facteurs d'enrichissement supérieurs à 10 pour Pb, Cu, Zn, Cd, et Hg, dont la toxicité est avérée. Plusieurs horizons ont révélé la présence de nombreux artefacts anthropiques, jusqu'à 2,4 m de profondeur pour la carotte F1-2, révélant notamment l'utilisation du site d'Azur Chimie en tant que décharge avant l'installation de l'activité industrielle. Cela explique l'observation de pics de concentrations des ETMM dans ces horizons répartis de façon hétérogènes, qui sont le reflet de ces contaminations « ponctuelles » (matériaux ferreux, béton, plastique...). La seconde carotte plus proche du ruisseau, a également montré de fortes teneurs en ETMM, entre 1 m et 1,5 m de profondeur, jusqu'à 20 fois plus élevées qu'en surface. Ceci serait également le reflet de la présente de la décharge. L'existence d'une deuxième zone d'accumulation dans cette carotte à environ 50 cm semble indiquer l'existence d'un horizon d'accumulation.

De plus, la saturation en eau des horizons profonds de cette carotte (après 150 cm de profondeur) peut laisser penser que le battement de la nappe d'eau souterraine (présumée à 4 m de profondeur environ en période de basses eaux) atteint ces profondeurs. Il y aurait un risque de contamination de la nappe d'eau, accru par la forte mobilité des métaux, mais également un risque de contamination du milieu marin, car le site se trouve en bordure du Canal de Caronte.

La problématique des cocktails de polluants est un enjeu gagnant en ampleur depuis quelques années, car des effets synergiques peuvent exister, augmentant plus encore les risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Le constat de la multi-contamination du site d'Azur Chimie nous a poussé à investiguer ces effets potentiels.

Afin d'étudier l'écotoxicité des mélanges de polluants présents sur le site d'Azur Chimie, quatre sols ont été sélectionnés pour réaliser la mise en culture de deux espèces végétales, *Hordeum vulgare* (orge, monocotylédone) et *Raphanus sativus* (radis, dicotylédone). Leurs réponses physiologiques face à ces contaminations ont été suivies et comparées. Les végétaux cultivés sur les 4 sols d'essais ont montré une réduction de leurs activités physiologiques. Chez l'orge, le sol B, caractérisé par de fortes concentrations en HAP a montré une toxicité particulièrement élevée. On a ainsi observé un taux de germination et des teneurs en caroténoïdes plus faibles de 33 % par rapport au témoin positif HUMIN, et une biomasse plus faible de 70 %. Le sol C, contaminé principalement au PCB, a également montré une forte toxicité. Celle-ci s'est exprimée à travers une diminution de

la biomasse de 70 % et des teneurs en chlorophylles de 40 % en moyenne. Chez le radis, les sols B et C se sont également révélés être les plus phytotoxiques vis-à-vis du taux de germination, de la biomasse et des teneurs en caroténoïdes. Cependant les teneurs foliaires en chlorophylles *a* et *b* se sont montrées plus élevées pour les sols contaminés. Ainsi, ces premiers résultats concernant l'écotoxicité des cocktails de polluants mesurés dans le sol d'Azur Chimie semblent mettre en évidence une plus forte toxicité des HAP et PCB, polluants majoritaires respectivement des sols B et C, sur la physiologie des végétaux.

L'ensemble des résultats ayant été obtenus seulement fin mai, le traitement statistique des données est en cours de réalisation et permettra une meilleure interprétation des phénomènes observés que ce soit pour la caractérisation de la contamination et de l'historique du site à travers l'analyse des carottes de sol que pour l'interprétation des réponses physiologiques des végétaux aux cocktails de polluants. De plus, la terre végétale utilisée comme sol de référence ayant montré des signes de toxicité sur la physiologie des végétaux cultivés, de nouveaux essais ont été lancés avec la réalisation de dilutions de sol (0 – 25 % – 50 % – 100 %) pour les différentes conditions qui permettront une meilleure compréhension des interactions entre polluants et des conséquences sur la toxicité des mélanges. Enfin, les données de bioaccumulation dans les feuilles d'orge et de radis sont en cours d'acquisition. Celles-ci permettront notamment d'apporter des précisions sur la phytodisponibilité des polluants et sur leur mécanisme d'action et de transfert.

Références Bibliographiques

Abbes K., Bizzozero L., Jacqueline-Boutros K., Jean K., 2010. « Les Polychlorobiphényles. Un problème nouveau pour une pollution ancienne ». École des Hautes Études en Santé Publique. 68p.

ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie), 2013. « La reconversion des sites et des friches urbaines polluées ». 6p. ISBN 978-2-35838-275-5.

ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie), 2014. « Biodiversité et reconversion des friches urbaines polluées ». Guide technique. ISBN : 9782358385275.

Adriano D.C., 2001. « Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals ». 2nd Springer-Verlag, New-York, Berlin, Heidelberg.

AGAM (Agence d'Urbanisme de L'agglomération Marseillaise), 2017. « Aix-Marseille-Provence, un capital nature et littoral à partager ». Atlas de l'environnement. Tome 1.

Aira E.A. Päivöke, Liisa K. Simola., 2001. « Arsenate Toxicity to *Pisum sativum*: Mineral Nutrients, Chlorophyll Content, and Phytase Activity”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(2): 111-121.

Ait Ali N., Ater M., Sunahara G.I., Robidoux, P.Y., 2004. « Phytotoxicity and bioaccumulation of copper and chromium using barley (*Hordeum vulgare* L.) in spiked artificial and natural forest soils”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57 (3), 363-374.

Amari T., Ghnaya T., Debez A., Taamali M., Ben Youssef N., Lucchini G., Scchi G.A., Abdelly C., 2014. “Comparative Ni tolerance and accumulation potentials between *Mesembryanthemum crystallinum* (halophyte) and *Brassica juncea*: Metal accumulation, nutrient status and photosynthetic activity”. *Journal of Plant Physiology*, 171 (17), 1634-1644.

Antoni V., Perrin J.-L., Pautard E., Joassard I., Eglin T., Bispo A., 2019. « Sites et sols pollués ou potentiellement pollués ». Résumé pour candidature aux Quatrième Rencontres nationales de la Recherche sur les sites et sols pollués - Le Beffroi de Montrouge (Portes de Paris). ADEME.

Artaud D., Domens J., Ettouati S., Planque G., Pasquier M.-H., Favre M., 2016. « Le cluster industrialo-portuaire de Marseille-Fos : Ancrage territorial et ouverture internationale ». Insee Provence-Alpes-Côte d'Azur. 30p. ISSN 2426-329X.

Austruy A., Wanat N., Moussard C., Vernay P., Joussein E., Ledoigt G., Hitmi A., 2013. “Physiological impacts of soil pollution and arsenic uptake in three plant species: *Agrostis capillaris*, *Solanum nigrum* and *Vicia faba*”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 90, 28–34.

Austruy A., Dron J., Charbonnier E., Babaguela N., Miche H., Keller C., Chamaret P., 2016. « Teneurs naturelles et apports anthropiques en éléments traces dans les sols à l'ouest de l'étang de Berre ». *Etude et gestion des Sols*, 22:125-141.

Austruy A., Ciarlo J., Mathé P.E., Keller C., Ambrosi J.P., Angeletti B., Chamaret P., 2018. « Characterization and decision support for the management of industrial wastelands in urban periphery ». Colloque INTERSOL, Paris, 27 mars 2018.

- Badot P.-M.**, 2012. « Imprévisibles interactions entre contaminants. Les modèles d'additivités sont loin d'être toujours valides ». Anses, bulletin de veille scientifique n°17.
- Baize T., Paquereau H.**, 1997. « Teneurs totales en éléments traces dans les sols agricoles de Seine-et-Marne ». *Étude et Gestion des Sols*, 2 :77-93.
- Baker A.**, 1981. « Accumulators and Excluders Strategies in Response of Plants to Heavy Metals ». *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4):643-654.
- Barriuso E., Calvet R., Schiavon M., Soulas G.**, 1996. « Les pesticides et les polluants organiques des sols - Transformations et dissipation ». Forum *Le sol, un patrimoine menacé ?* Paris. 18p.
- Beumier F.**, 2014. « Evaluation des risques écotoxicologiques des polybromodiphényléthers ». Maîtrise en environnement. Université de Sherbrooke. 104p.
- Benzarti S., Mohri S., Ono Y.**, 2008. Plant response to heavy metal toxicity: Comparative study between the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (ecotype Ganges) and nonaccumulator plants: Lettuce, radish, and alfalfa. *Environmental toxicology*, 23 (5), 607-616.
- Blondel A.**, 2014. « Développement des méthodes géophysiques électriques pour la caractérisation des sites et sols pollués aux hydrocarbures ». Thèse mention Sciences de la Terre. Université Michel de Montaigne – Bordeaux III.
- Bonnard M.**, 2010. « Relations « Biodisponibilité-génotoxicité-écotoxicité » des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols de friches industrielles ». Thèse mention Ecotoxicité, Biodiversité, Écosystèmes, Université de Metz.
- Brignon J.M., Malherbe L., Soleille S.**, 2004. « Les substances dangereuses prioritaires de la directive cadre sur l'eau. Fiches de données technico-économiques ». Rapport INERIS. Ministère de l'Écologie et du Développement Durable. Unité MECO, Direction des Risques Chroniques. 106p.
- Brunet J.F.**, 2007. « État des lieux sur la pollution des fleuves par les PCB dans le monde. Actions des pouvoirs publics. Exemples de décontamination ». BRGM/RP-55835-FR. 171p.
- Buckenmeier N., Dereumeaux C., Rouy P., Vigneron M.**, 2010. « Projet d'Évaluation des Risques Sanitaires - Les PolyBromo Diphenyl Ethers ». Projet PERSAN. École des Hautes Etudes en Santé Publique. 47p.
- Cadet E.**, 2008. « Détection et discrimination des carences en N, P et K par la fluorescence induite par UV chez le tournesol nain (*Helianthus annuus*, « Sunspot ») ». Mémoire d'étude. Université du Québec à Trois-Rivières.
- CE (Commission Européenne)**, 2014. « Recommandation de la Commission du 3 mars 2014 sur la surveillance des traces de retardateurs de flammes bromés dans les denrées alimentaires ». *Journal officiel de l'Union européenne*. 2014/118/UE.
- Chahal H.**, 2013. « Etude du comportement hydromécanique des sédiments pollués par les PCB en interaction avec les géomatériaux pour un stockage hors site ». Chapitre II. Thèse Mécanique, Énergétique, Génie Civil et Acoustique de Lyon spécialité Génie Civil. INSA de Lyon.
- Chapman P.M.**, 2008. « Environmental risks of inorganic metals and metalloids: A continuing, evolving scientific odyssey ». *Human and Ecological Risk Assessment*. 14(1):5-40.
- Chaignon V.**, 2001. Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées – Cas des sols viticoles contaminés par les fongicides ; Thèse de l'Université d'Aix-Marseille. 165 p.

- Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J.**, 1997. « Phytotoxicity and plant uptakes of fuel oil hydrocarbons ». *Journal of environmental Quality*. 4:858-867.
- Cheng S.**, 2003. « Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms ». Review article. *Environmental Science and Pollution Research*. 10(4):256-264.
- Ciarlo J.**, 2017. « Caractérisation et diagnostic de la pollution du sol d'une ancienne friche industrielle située en périphérie urbaine - AZURSOL- ». Rapport de stage Master 2 Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement. Université de Bordeaux. 49p.
- Delaunois A., Ferrie Y., Bouche M., Colin C., Rionde C.**, 2006. Guide simplifié pour la description des sols. Chambre d'agriculture du Tarn, 37 p.
- De Zwart D., Sloof W.**, 1987. « Toxicity of mixtures of heavy metals and petrochemicals to *Xenopus laevis* ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 38:345-351.
- DGPR (Direction générale de la Prévention des Risques)**, 2017. « Méthodologie nationale de gestion des sites et sols pollués ». Ministère de l'Environnement, de l'Energie et de la Mer. 128p.
- Dupuy J.**, 2014. « Interactions entre les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les plantes supérieures : prélèvement et réponses toxiques ». Thèse en Sciences Agronomiques. Université de Lorraine. 252p.
- FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)**, 2000. « Fiches techniques sur les composés chimiques » dans *Evaluation de la contamination des sols - Manuel de référence*. ISBN : 2848757310. 218p.
- Farmer J.G., Cross J.D.**, 1978. "Bromine in soil – an indicator or automobile exhaust lead pollution? " *Water, Air and Soil Pollution*, 9 :193-198.
- Flora, S.J.S.**, 2011. Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. *Free Radical Bio. Med.*, 51, 257–281.
- Fritsch C.**, 2010. « Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres ». Thèse en Sciences de la Vie et de l'Environnement. Université de Franche-Comté.
- Gerzabek M.H., Muramatsu Y., Strebl F., Yoshida S.**, 1999. « Iodine and bromine contents of some Austrian soils and relations to soil characteristics." *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 162, 415-419.
- Hamrouni L., Hanana M., Amri I., Romane A.E., Gargouri S., Jamoussi B.**, 2015. « Allelopathic effects of essential oils of *Pinus halepensis* Miller: chemical composition and study of their antifungal and herbicidal activities ». *Archives of Phytopathology and Plant Protection*.(48):145-158.
- Hanano A., Almously I., Shaban M.**, 2014. « Phytotoxicity effects and biological responses of *Arabidopsis thaliana* to 2,3,7,8-tetrachlorinated dibenzo-p-dioxinexposure ». *Chemosphere*, 104:78-84.
- Hanano A., Almously I., Shaban M., Murphy D.J.**, 2018. « *Arabidopsis* plants exposed to dioxin result in a wrinkled seed phenotype due to 20S proteasomal degradation of WRI1 ». *Journal of Experimental Botany*, 69(7):1781-1794.
- Henner P., Schiavon M., Druelle M., Lichtfouse E.**, 1999. « Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination ». *Organic Geochemistry*, 30:963-969.

- Hess M., Barralis G., Bleiholder H., Buhr L., Eggers T.H., Hack H., Stauss R.**, 1997. "Use of the extended BBCH scale—general for the descriptions of the growth stages of mono; and dicotyledonous weed species". *Weed Research*. Wiley Online Library.
- Hubalek T., Vosahlova S., Mateju V., Kavacova N., Novotny C.**, 2007. "Ecotoxicity monitoring of hydrocarbon-contaminated soil during bioremediation: a case study". *Archive Environment Contamination Toxicology*, 52 (1), 1-7.
- INERIS**, 2005. « Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques - Guide méthodologique. Acquisition des données d'entrée des modèles analytiques ou numériques de transferts dans les sols et les eaux souterraines ». Rapport d'étude n°66244.
- INERIS**, 2014. « Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques – Méthodologie ». Version numéro 4. DRC-14-142371-00773A. 68p.
- Jiang W., Liu D., Li A.**, 2000. « Effects of Cu²⁺ on root growth; Cell Division and Nucleous of *Helianthus annuus* ». *Science of the Total Environment*, 256:59.
- Juknys R., Racaite M., Vitkauskaitė G., Vencloviene J.**, 2009. « The effect of heavy metals on spring barley (*Hordeum vulgare* L.) ». *Zemdirbyste-Agriculture*, 96(2):111-124.
- Juste C.**, 1988. « Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol ». *In: Trace Elements in Soil*. Edited by Iskandar I.K., Kirkham M.B. 22p.
- Kastori R., Petrovic M., Petrovic N.**, 1992. « Effects of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower ». *Journal of Plant Nutrition*, 15:2427-2439.
- Kitajima, K. and Hogan, K.** 2003. "Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light". *Plant, Cell & Environment*, 26: 857-865.
- Kouril, R., Ilík, P., Naus, J., Benoit Schoefs.**, 1999. « On the limits of applicability of spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for the determination of chlorophylla/b ratio ». *Photosynthesis Research*, 62:107.
- Lafuente A.L., González C., Quintana J.R., Vázquez A., Romero A.**, "Mobility of heavy metals in poorly developed carbonate soils in the Mediterranean region". *Geoderma*, 145, 238-244.
- Laurette J.**, 2011. « Rôle de la spéciation de l'Uranium sur sa bioaccumulation, son transport et sa toxicité dans les plantes. Application à la phytoremédiation ». Thèse en Biologie Végétale. AgroParisTech. 298p.
- Le Bihanic F.**, 2013. « Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur les stades précoces de poissons modèles : développement de bioessais et étude comparée de mélanges ». *Sciences agricoles*. Université Sciences et Technologies – Bordeaux I.
- Lemière B., Seguin J.J., Le Guern C., Guyonnet D., Baranger P., Saada A.**, 2008. « Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes ». Document du BRGM 300 – Nouvelle édition 2008.
- Li C.X., Feng S.L., Shao Y., Jiang L.N., Lu X.Y., Hou X.L.**, 2007. « Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings ». *Journal of Environmental Science*, 19, 725–732.
- Malleret L., et al.**, 2019. « Contribution des activités industrielles littorales passées et récentes aux apports en contaminants bromés émergents vers les eaux côtières du Golfe de Fos et de l'Étang de Berre ». Séminaire annuel OHM Littoral Méditerranéen, Marseille, 27 mars 2019.
- Massenet J.Y.**, 2013. « Cours de pédologie Forestière - Chapitre V : Chimie du sol ». Professeur à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 42p.

- Maxwell, K., Johnson, G.N.**, 2000. "Chlorophyll fluorescence a practical guide". *Journal of Experimental Botany*, 51, 659–668.
- Morel P., Poncet L., Rivière L.M.**, 2000. « Les supports de culture horticoles ». INRA Editions.
- Muller S.L., Huggett D.B., Rodgers Jr J.H.**, 2001. « Effects of sulfate on *Typha latifolia* seed germination and early seedling growth in aqueous and sediment exposures ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40:192-197.
- Nàtr L., Apel P., Flalovà S.**, 1983. « The effect of Phosphorus and Nitrogen Deficiency on Growth of Seedlings of Spring Barley in Dependence of Irradiance: Content of Chlorophyll, Nitrogene and Phosphorus ». *Biologia Plantarum*, 25(6):433-439.
- Nektarios P., Economou G., Avgoulas C.**, 2005. « Allelopathic Effects of *Pinus halepensis* Needles on Turfgrasses and Biosensor Plants ». *American Society for Horticultural Science*, 40(1):246-250.
- Norwood WP, Borgmann U., Dixon DG., Wallace A.**, 2003. « Effects of metal mixtures on aquatic biota: A review of observations and methods ». *Human and Ecological Risk Assessment*, 9(4):795-811.
- O'Neill E.J., Batey T., Cresser M.S.**, 1983. « Effects of nitrogen supply on barley pigment concentrations ». *Plant and Soil*, 77:315-326.
- Parvez S., Venkataraman C., Mukherji S.**, 2009. «Nature and prevalence of non-additive toxic effects in industrially relevant mixtures of organic chemicals ». *Chemosphere*, 75(11):1429-1439.
- Panayiotis A., Economou G., Avgoulas C.**, 2005. « Allelopathic Effects of *Pinus halepensis* Needles on Turfgrasses and Biosensor Plants". *American Society for Horticultural Science*, 40(1) : 246-250.
- Porra R.J.**, 2001. « The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b ». *Discoveries in Photosynthesis*. pp. 633-640.
- Portet F.**, 2004. « Monitoring continu de site pollué. Mise au point d'une méthodologie de contrôle en continu d'un site pollué en phase de surveillance ou de dépollution ». Thèse de Chimie, spécialité Sciences et Techniques du Déchet. INSA Lyon et ENSM-SE.
- Priac A.**, 2014. « *Latuca sativa* L.: Evaluation écotoxicologique de rejets industriels complexes et de solutions synthétiques ». Thèse en Écologie et Environnement. Université de Franche-Comté. 249p.
- Qasim B.H.**, 2015. « Détermination, spéciation et biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les sols contaminés et technosols ». Thèse en Sciences de la Terre. Université d'Orléans.
- Ramade F.**, 1977. « Écotoxicologie ». Édition Masson, Paris, 1977. 205 pp.
- Ramade F.**, 2007. « Introduction à l'écotoxicologie : Fondements et applications ». Éditions Lavoisier, Paris. 518p.
- RECORD**, 2012. « Biodisponibilité et Bioaccessibilité des polluants dans le cas des sols pollués. État des connaissances et pistes de recherche ». n°10-0671/1A. 259p.
- Reilley K.A., Banks M.K., Schwab A.P.**, 1996. « Dissipation of polycycli aromatic hydrocarbons in the rhizosphere ». *Journal of Environmental Quality*, 25:103-112.
- Reisinger S., Schiavon M., Terry N., Pilon-Smits E.A.H.**, 2008. Heavy Metal Tolerance and Accumulation in Indian Mustard (*Brassica Juncea L.*) Expressing Bacterial γ -Glutamylcysteine Synthetase or Glutathione Synthetase. *International Journal of Phytoremediation*, 10 (5), 440-454.

- Remon E.**, 2006. « Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution ». Thèse de doctorat en Biologie végétale. Université Jean Monnet – Saint-Etienne.
- Ribera D., Taberly J.**, 2011. « Mélange de polluants, toxicité, toxicité et évaluation des risques » état des connaissances sur leur toxicité et écotoxicités ». Étude Record n° 08-0668/1A.
- Roulier M.**, 2015. « Étude du transfert sol-plante-atmosphère des polluants organiques et métalliques sur le territoire du SAN Ouest-Provence ». Rapport de stage M2 Pollutions Chimiques et Gestion Environnementale. Université Paris-Sud. 84p.
- Serra A.A.**, 2015. « Réponses écophysiological et moléculaires des plantes aux stress xénobiotiques complexes de faible intensité : implications dans les capacités de protection environnementale des bandes enherbées ». Thèse en Biologie Végétale. Université Rennes 1. 304 p.
- Smith M.J., Flowers T.H., Duncan H.J., Alder J.**, 2006. « Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues ». *Environmental Pollution*, 141:519-525.
- Sigg L., Bahra P., Stumm W.**, 2014. « Chimie des milieux aquatiques ». 5ème édition, Dunod. 510p.
- Sinha S., Sinam G., Mishra R.K., Mallick S.**, 2010. Metal accumulation, growth, antioxidants and oil yield of Brassica juncea L. exposed to different metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (6), 1352-1361.
- Souguir D.**, 2009. « Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez Vicia faba ». Thèse en Sciences Biologiques. Universités du 7 novembre à Carthage et d’Auvergne. 283p.
- Subramanian S., Schnoor J.L., Van Aken B.**, 2017. « Effects of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) on Arabidopsis thaliana ». *Environmental Science & Technology*, 52(12):7263-7270.
- Sumanta N., Haque C.I., Nishika J., Suprakash R.**, 2017. « Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents ». *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(9):63-69.
- Sutherland R.A.**, 2000. « Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii ». *Environmental Geology*, vol 39(6):611-627.
- Takeda A., Yamasaki S.I., Tsukada H., Takaku Y., Hisamatsu S., Tsuchiya N.**, 2011. Determination of total contents of bromine, iodine and several trace elements in soil by polarizing energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57, 19-28.
- Tripathi A.K., Gautam M.**, 2007. « Biochemical parameters of plants as indicators of air Pollution ». *Journal of Environmental Biology*, 28:127-132.
- ULSOP (University of London)**, 2009. « State of the Art Report on Mixture Toxicity ». Part 1: The state of the art of mixture toxicology – a critical appraisal of published scientific literature. Chapitre 5, The ecotoxicology of chemical mixtures.
- Vasseur P., Ferard J.F.**, 1984. « Comparaison des Tests Microtox et Daphnie pour l’Evaluation de la Toxicité Aigue d’Effluents Industriels ». *Environmental Pollution (Series A)*, 34:225-235.

- Villatoro-Pulido M., Font Maria R., De Haro-Bravo I., Romero-Jiménez M., Anter J., De Haro A., Alonso-Moraga A.A., Del Río-Celestino M.,** 2008. Modulation of genotoxicity and cytotoxicity by radish grown in metal-contaminated soils. *Mutagenesis*, 24, (1), 51–57.
- Weber J., Mrozek E.,** 1979. « Polychlorinated biphenyls - phytotoxicity, absorption and translocation by plants, and inactivation by activated carbon ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 23:412-417.
- Wyrwicka A., Urbaniak M., Przybylski M.,** 2019. « The response of cucumber plants (*Cucumis sativus L.*) to the application of PCB-contaminated sewage sludge and urban sediment ». *PeerJ*, 7:e6743.
- Xu X., Huang H., Wen B., Wang S., Zhang S.,** 2015. « Phytotoxicity of Brominated Diphenyl Ether-47 (BDE-47) and Its Hydroxylated and Methoxylated Analogues (6-OH-BDE-47 and 6 MeO-BDE-47) to Maize (*Zea mays L.*) ». *Chemical Research in Toxicology*, 28(3):510-517.
- Zagury G.J., Neculita, C.M., Bastien, C., Deschênes L.,** 2009. Mercury fractionation, bioavailability, and ecotoxicity in highly contaminated soils from chloroalkali plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 (4), 1138-1147.
- Zhang Y.,** 1997. « The toxicity of heavy metals to barley (*Hordeum vulgare*) ». *Acta Scientiae Circumstantiae*, 17:199-204.
- Zhao F.J., Ma J.F., Meharg A.A., McGrath S.P.,** 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*, 181, 777–794.

Annexe 1

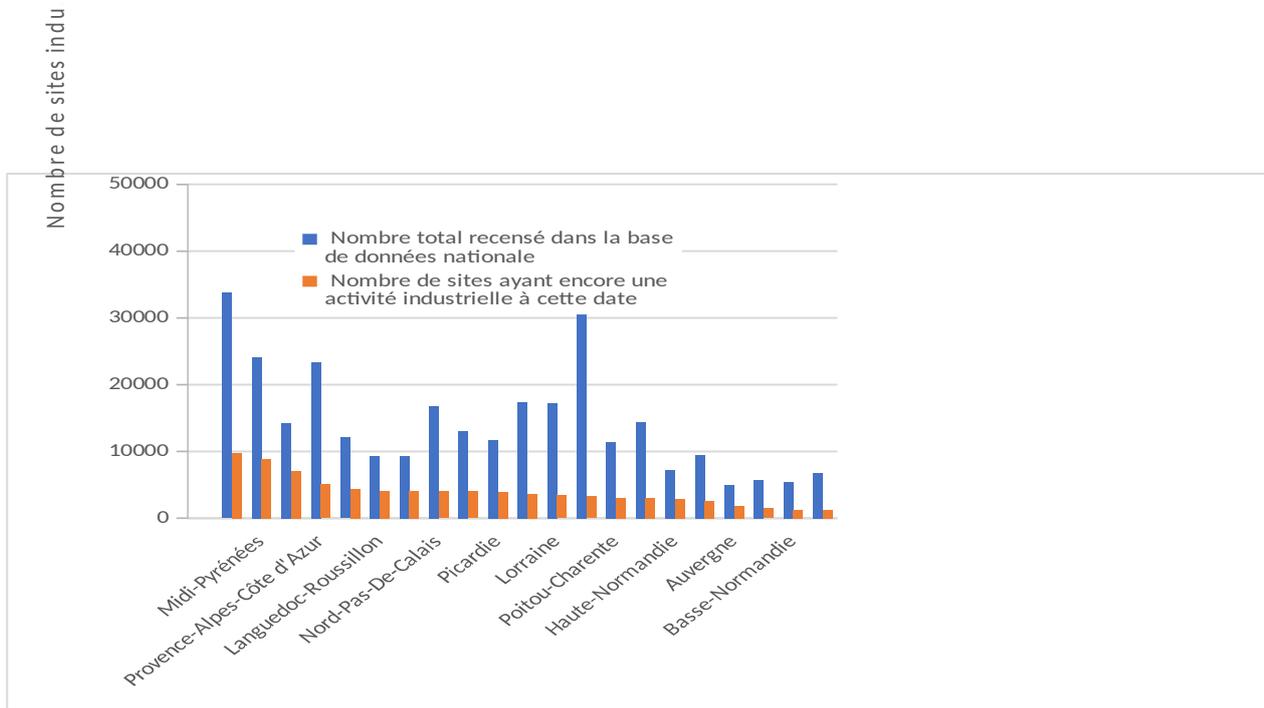


Figure 27 – Localisation des sites industriels et activités de service (BASIAS) – Mai 2019

Annexe 2

Tableau 11 : Liste des 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA

Nom	Nombre de cycles	Formule chimique
Naphtalène	2	C ₁₀ H ₈
Acénaphthylène	3	C ₁₂ H ₈
Acénaphthène		C ₁₂ H ₁₀
Fluorène		C ₁₃ H ₁₀
Anthracène		C ₁₄ H ₁₀
Phénanthrène		C ₁₄ H ₁₀
Fluoranthène	4	C ₁₆ H ₁₀
Pyrène		C ₁₆ H ₁₀
Benzo(a)anthracène		C ₁₈ H ₁₂
Chrysène		C ₁₈ H ₁₂
Benzo(a)pyrène	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo(b)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Dibenzo(ah)anthracène		C ₂₂ H ₁₄
Benzo(k)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(ghi)pérylène	6	C ₂₀ H ₁₂
Indeno(1,2,3-cd)pyrène		C ₂₂ H ₁₂

Annexe 3

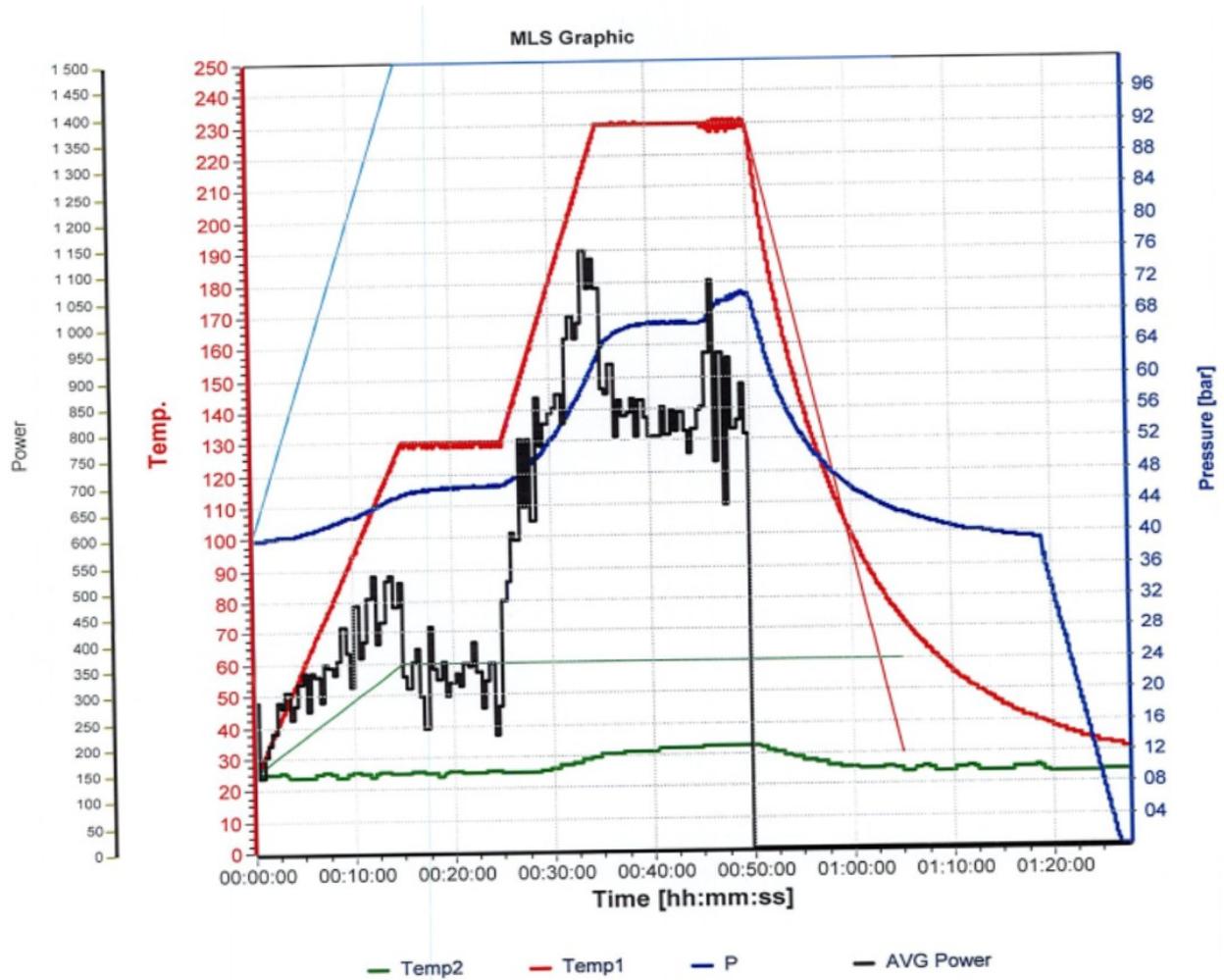


Figure 28: Cycle de température et de pression appliqué aux échantillons pendant la phase de minéralisation.

Annexe 4 - Principe de l'ICP-AES et de l'ICP-MS

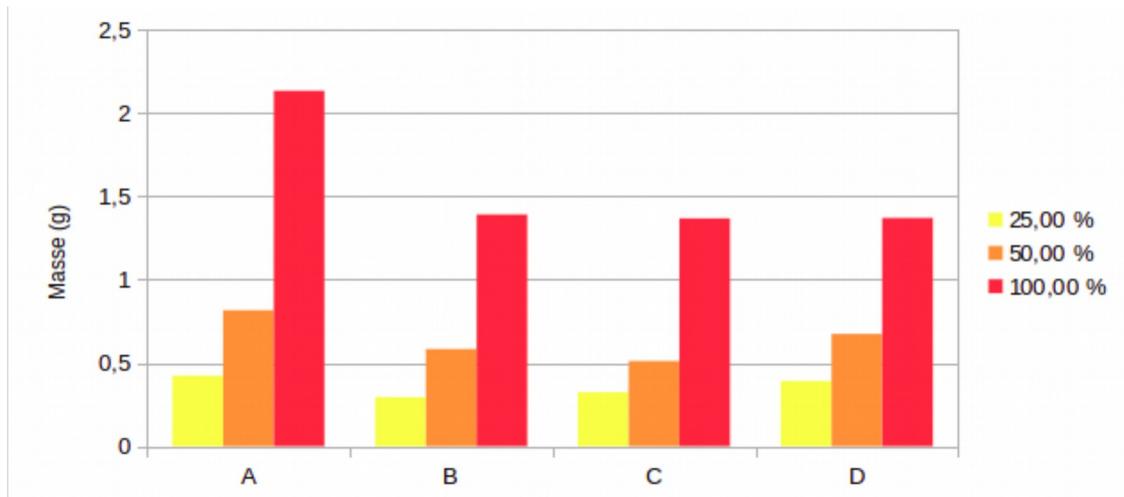
C'est une méthode d'analyse qui permet de doser la plupart des éléments en même temps. L'échantillon est vaporisé grâce à un plasma d'argon, qui peut atteindre les 8000°C, qui permet d'atomiser puis d'ioniser la matière à analyser. Les ions peuvent alors être détectés et quantifiés :

- avec un spectromètre à émission optique (ICP-AES). On analyse ici la lumière émise par les ions excités. Chaque élément émet des longueurs d'onde caractéristiques, qui sont séparées puis dont l'intensité est mesurée, ce qui permet d'obtenir la concentration recherchée ;
- avec un spectromètre de masse (ICP-MS). Les ions sont séparés en fonction de leur masse atomique, de leur charge et de leur vitesse. On peut ainsi les identifier et les comptabiliser pour obtenir leur concentration.

La sensibilité de l'ICP-MS est très élevée, c'est pourquoi cette technique est souvent utilisée dans un second temps, pour doser des ETMM faiblement concentrés.

Annexe 5

A.



B.

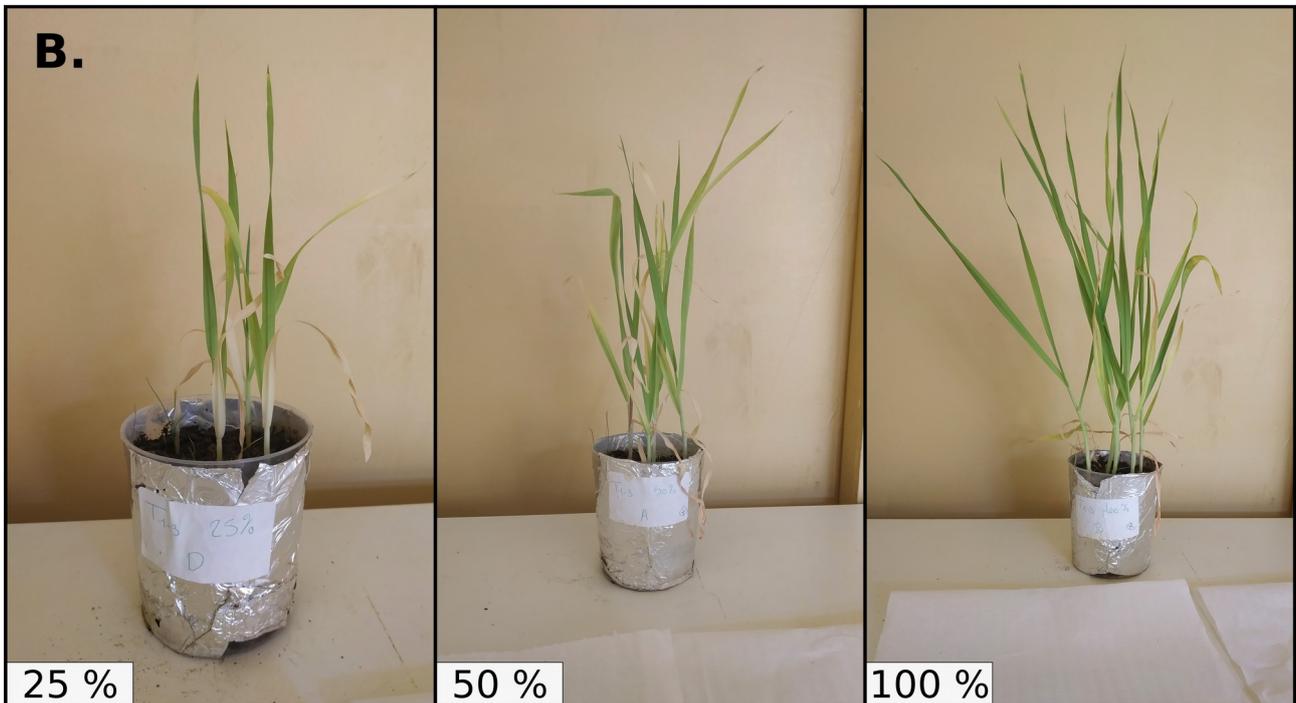


Figure 29: Réponse physiologique de l'orge cultivée dans les sols dilués avec TV (A) taux de germination (B) croissance des feuilles.