

Mémoire scientifique

Pour l'obtention de l'
Habilitation à Diriger les Recherches

Présentée et soutenue publiquement le 3 décembre 2013

**Recherche et étude de modèles végétaux d'aide à l'évaluation
de la toxicité des éléments traces métalliques dans les sols
- *Approche intégrative du gène à l'écosystème* -**

Annabelle DERAM

Garant de l'habilitation

M. D. CUNY Professeur des Universités

Rapporteurs

M. Alain LEPRÊTRE, Professeur des Universités

M. Michel MENCH, Directeur de recherches INRA

M. Daniel GILBERT, Professeur des Universités

Membres

M. Franck VANDENBULCKE, Professeur des Universités

M. Régis COURTECUISSÉ, Professeur des Universités

M. Alain DUROCHER, Professeur des Universités

Université Lille 2 Droit et Santé

EA 4483 – Impacts des contaminants chimiques sur la santé humaine

Faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS)

Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques (LSVF)



SOMMAIRE

CURRICULUM VITAE	5
I. <i>État civil</i>	5
II. <i>Titres et Diplômes Universitaires</i>	5
III. <i>Expérience professionnelle</i>	7
IV. <i>Fonctions universitaires</i>	7
V. <i>Responsabilités administratives</i>	9
VI. <i>Activités d'enseignements</i>	9
ACTIVITÉS DE RECHERCHE.....	11
SYNTHÈSE ET ARTICULATION DES TRAVAUX DE RECHERCHE	12
PRÉSENTATION DÉTAILLÉE ET ANALYSE CRITIQUE DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE	15
A) <i>Biosurveillance de la qualité des sols</i>	15
1) <i>La bioaccumulation des éléments traces métalliques (ETM) chez Arrhenatherum elatius</i>	17
2) <i>Les biomarqueurs d'effets systémiques et génotoxiques chez T.repens</i>	29
B) <i>Évaluation et gestion des risques des sites et sols pollués</i>	55
1) <i>L'évaluation des risques pour les écosystèmes</i>	57
2) <i>Phytoremediation</i>	77
C) <i>Caractérisation du lien environnement-santé</i>	89
ACTIVITÉS D'ENCADREMENT DE STAGES EN RECHERCHE.....	101
CO-ENCADREMENT DE THÈSES	103
PROSPECTIVES DE RECHERCHE	104
VALORISATIONS SCIENTIFIQUES	112

CURRICULUM VITAE

I. ÉTAT CIVIL

Nom patronymique **DERAM**
Prénom **ANNABELLE**
Date et lieu de naissance 13 août 1973 à Rosendaël (59)
Nationalité Française
Situation de famille Célibataire, sans enfant
Adresse personnelle 258, rue Faidherbe
 59120 Loos
Adresse professionnelle Faculté Ingénierie et Management de la Santé
 Bureau 107
 42, rue Ambroise Paré
 59120 Loos
N° de téléphone 03.20.62.37.34
Adresse électronique annabelle.deram@univ-lille2.fr

Fonction et établissement actuel : **Maître de conférences** (section CNU 87)

Université Lille 2 Droit et Santé
Faculté Ingénierie et de Management de la Santé (ILIS)
42, rue Ambroise Paré - 59120 Loos

Spécialités : qualité de l'environnement et effets sur la santé, qualité et sécurité alimentaires

EA 4483, Laboratoire de sciences végétales et fongiques (Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, Université Lille 2 Droit et Santé)

Thématiques : biosurveillance végétale de la qualité des sols,
 évaluations des risques pour les écosystèmes,
 caractérisation du lien environnement-santé.

II. TITRES ET DIPLÔMES UNIVERSITAIRES

Juin 1991	Baccalauréat série C	Académie de Lille
Juin 1993	DEUG Sciences de la Nature et de la Vie	Université Lille 1
Juin 1994	Licence de Biologie des Organismes et des Populations	Université Lille 1
Juin 1995	Maîtrise de Biologie des Organismes et des Populations	Université Lille 1
Juin 1996	DEA Toxicologie de l'Environnement (Mention Bien, 2 ^e /36)	
	<i>Titre du rapport</i> : Contribution à l'étude écologique de la bioaccumulation des métaux lourds chez <i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) Beauv. ex J. & C. Presl.	Université de Metz

Mai 2003

Doctorat

Spécialité : Sciences de l'environnement

Soutenu à la Faculté des sciences biologiques et pharmaceutiques de Lille, Université Lille 2 Droit et Santé, le 5 mai 2003

Laboratoires d'accueil :

- Laboratoire de botanique, Faculté de Pharmacie, Université Lille 2 Droit et Santé
- Laboratoire de génétique et évolution des populations végétales, UPRESA 8016, Université Lille 1 Sciences et Technologies

Titre : Bioaccumulation des métaux lourds chez *Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. ex J. & C. Presl – Implications à la phytoextraction.

Directeurs de thèse : Pr. C. Van Haluwyn et Pr. D. Petit

Mention : Très Honorable avec les félicitations du Jury

Prix de thèse : Charles Dehay, le 24 juin 2004

III. EXPÉRIENCE PROFESSIONNELLE

Avril 2000 à janvier 2003, *parallèlement à la préparation de la thèse de Doctorat*

Ingénieur écologue, Société Tauw Environnement (France) – Agence Nord, filiale du groupe international Tauw.

- évaluation de la valeur écologique de sites industriels et de zones naturelles ;
- évaluation Détaillée des Risques (EDR) pour la santé humaine ;
- participation à la « Recherche et Développement » dans les domaines de l'Évaluation des Risques pour les Écosystèmes (ERE) et de la phytoremédiation ;
- **partenaire professionnel du projet de recherche** : mise au point d'un outil diagnostic basé sur l'utilisation de la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* Hedw. en culture pour l'estimation de la qualité des cours d'eau. (Ah-Peng, 2003).

Collaborations : Muséum d'Histoire Naturelle de Paris ; Institut Lillois de l'Ingénierie de la Santé ; Laboratoire de botanique de la Faculté de Pharmacie de l'université Lille 2 Droit et Santé.

Financements : Agence de l'Eau Artois Picardie, Fonds ANVAR et Fonds FEDER.

IV. FONCTIONS UNIVERSITAIRES

DE FÉVRIER À AVRIL 2000 *Attachée Temporaire à l'Enseignement et la Recherche (67^e)*

A.T.E.R. temps plein

Laboratoire de Génétique et Évolution des Populations Végétales
UPRESA 8016

Université Lille 1 Sciences et Technologies

DE FÉVRIER 2003 À JUIN 2004 *Attachée Temporaire à l'Enseignement et la Recherche (41^e)*

A.T.E.R. temps plein

Faculté de Pharmacie de Lille (février à août 2003)

Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé (septembre 2003 à juin 2004)

Université Lille 2 Droit et Santé

DE JUIN 2004 À JUIN 2008 *Ingénieur de Recherche (41^e)*
Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé
Université Lille 2 Droit et Santé

DEPUIS JUIN 2008 *Maître de Conférences des Universités (87^e)*
Titularisée en juin 2009
Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé
Université Lille 2 Droit et Santé

V. RESPONSABILITÉS ADMINISTRATIVES

DE FÉVRIER 2003 À SEPTEMBRE 2004 *Co-coordinatrice Licence professionnelle « Diagnostic et suivi Agri-Environnementaux », avec le Professeur Van Haluwyn, Faculté de Pharmacie de Lille, Université Lille 2 Droit et Santé*

DE SEPTEMBRE 2004 À SEPTEMBRE 2012 *Responsable pédagogique de la première année de Licence d'ingénierie de la santé (création), Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé*

DE SEPTEMBRE 2009 À SEPTEMBRE 2012 *Responsable pédagogique de la Licence d'ingénierie de la santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé*

DEPUIS 2006 *Responsable pédagogique du Master Régional Agroalimentaire - Site Nord – Pas-de-Calais spécialité Qualité et Sécurité Alimentaires (création) Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé*

VI. ACTIVITÉS D'ENSEIGNEMENTS

Mes activités d'enseignements ont débuté lors de l'année universitaire 1997-1998 dans le cadre de vacances par des travaux pratiques de biologie végétale. Mes domaines d'enseignement principaux, en lien direct avec mes activités de recherche, sont :

- la biologie végétale, la physiologie végétale, la botanique ;
- l'écologie générale et appliquée ;
- l'écotoxicologie ;
- le diagnostic de la qualité des milieux ;
- les techniques biologiques de traitements des sols contaminés (phytomanagement) ;
- l'évaluation et la gestion des risques environnementaux et sanitaires des sites et sols pollués.

Le volume d'heures d'enseignements est, *a minima*, un statut complet depuis 2004 (Ex : 215 heures équivalent enseignements dirigés pour 2012- 2013).

ACTIVITÉS DE RECHERCHE

Équipe de recherche

EA 4483, Impact de l'environnement chimique sur la santé humaine,
Sous la direction du Dr. Lo-Guidice
IFR114 IMPRT - Institut de Médecine Prédictive et de Recherche Thérapeutique
Groupe biosurveillance végétale et fongique,
Sous la direction scientifique du Pr Cuny

Thématiques et objectifs généraux de recherche

Biosurveillance végétale de la qualité des sols
Évaluation des risques pour les écosystèmes
Caractérisation du lien environnement - santé

Objectif général de recherche

Recherche et mise au point de modèles biologiques végétaux d'aide à l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires induits par la contamination des sols en éléments traces métalliques.

SYNTHÈSE ET ARTICULATION DES TRAVAUX DE RECHERCHE

Mes premières études à démarche scientifique ont porté sur une espèce végétale à distribution mondiale, commune et ubiquiste, connue pour ses qualités fourragères : *Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. Ex J. & C. Presl (Avoine élevée), appartenant à la famille des *Poaceae*. Le caractère **bioaccumulateur** vis-à-vis du cadmium, du plomb et du zinc a été étudié aux niveaux *spécifique* et *populationnel*. Ces travaux constituent les prémices des études visant à évaluer l'entrée des éléments traces métalliques (ETM) dans les chaînes alimentaires et, *a fortiori*, les risques pour l'écosystème.

Pour parfaire ces études, il s'est avéré nécessaire de prendre en compte la complexité du modèle végétal dans le sens où *A. elatius* présente une forte colonisation racinaire fongique. Ainsi, les symbioses mycorrhiziennes ont été étudiées, nous conduisant à prendre en compte un *niveau d'organisation supra-spécifique*. En lien avec des travaux menés au laboratoire visant à caractériser ces symbioses (Languereau–Leman, 1999), notre démarche scientifique a plus particulièrement porté sur l'influence des ETM sur ces symbioses. Réciproquement, le rôle des organismes fongiques (mycorrhiziens ou non) dans les mécanismes d'entrée des ETM dans les racines et dans la translocation dans les parties aériennes d'*A. elatius* a été étudié.

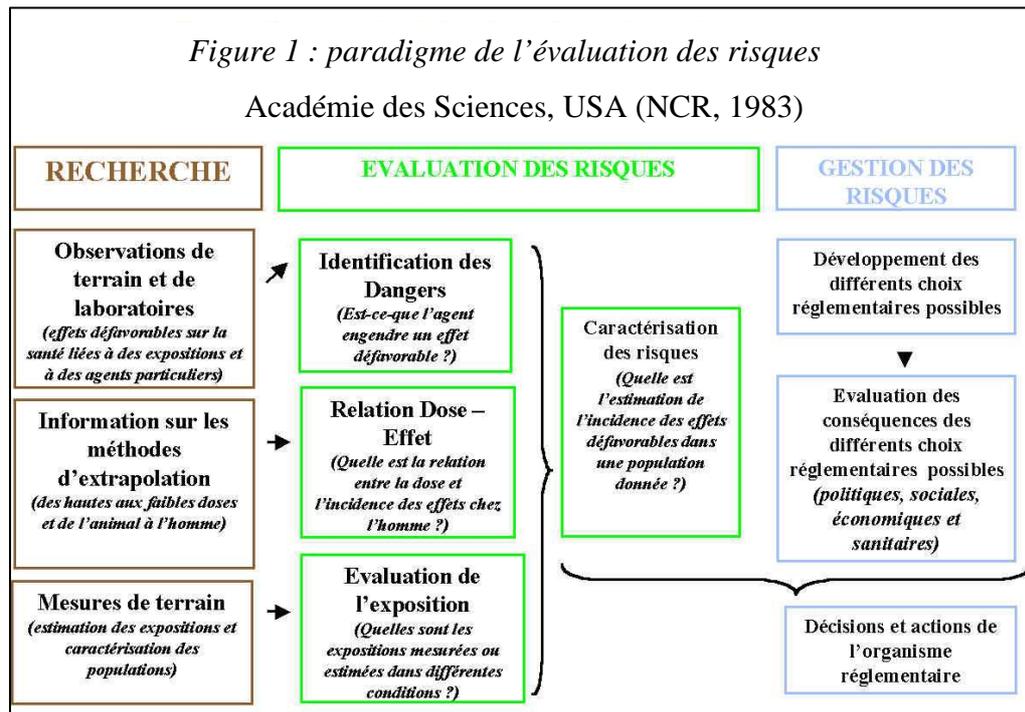
Cette étude, montrant l'importance de prendre en considération les symbioses et les interactions avec la rhizosphère, nous a permis d'évoluer vers un nouveau modèle symbiotique : *Trifolium repens* (L.), (Trèfle blanc). En effet, *T. repens* possède la spécificité de former une association symbiotique avec des bactéries présentes au niveau de la rhizosphère (*Rhizobium leguminosarum* var. *trifolii*). Cette association symbiotique entraîne la formation de nodules capables de réduire l'azote atmosphérique (N₂) en ammoniacque directement assimilable par la plante. C'est cette spécificité qui donne toute sa sensibilité à notre espèce. Ainsi, nous avons étudié l'influence des ETM sur la nodulation et nous nous sommes attachés à traduire ces effets en un indice de nodulation. En conséquence, les potentialités de cette espèce à être un **bioindicateur** de la qualité des sols ont été évaluées.

Parallèlement, l'étude des effets des ETM au *niveau cellulaire* est également menée sur cette espèce modèle. Plus précisément, nos travaux ont pour but d'évaluer la perturbation des mécanismes du stress oxydant chez *T. repens* par le développement de **biomarqueurs d'effets systémiques** (dosage de l'ascorbate peroxydase et de la gâiacol peroxydase, notamment). Au niveau *nucléaire*, l'étude des effets génotoxiques des ETM, à travers la mise en évidence du potentiel clastogène et aneugène des sols étudiés, permet la mise au point de **biomarqueurs d'effets génotoxiques** chez ce modèle végétal sauvage (test des comètes et test des micronoyaux, notamment).

Le développement de l'ensemble de ces outils biologiques (bioaccumulateurs, bioindicateurs, biomarqueurs) nous permet de caractériser l'action de polluants comme les ETM au niveau cellulaire, spécifique et/ou populationnel. De manière complémentaire, les niveaux d'organisation tels que le peuplement ou les communautés d'espèces doivent, malgré leur complexité, être également pris en considération pour établir un diagnostic de la qualité environnementale. Ainsi, nous avons abordé un nouveau niveau d'organisation : *l'écosystème*.

L'évaluation des risques pour les écosystèmes (ERE) est actuellement la démarche scientifique mise en place pour répondre à ces attentes. L'ERE se définit comme étant un procédé scientifique flexible et général qui organise et analyse les données toxicologiques et écologiques, les hypothèses et les incertitudes. L'ERE a pour but d'évaluer la probabilité d'apparitions d'effets écologiques néfastes au niveau des populations, des communautés d'espèces ou des écosystèmes (Noss, 2000 ; Solomon, 2002 ; Suter *et al.* 2003 ; Munns, 2006 ; Hope, 2006) L'ERE est basée sur le paradigme

de l'Académie des Sciences des USA (Figure 1) qui souligne les besoins de recherche et qui définit la place des démarches scientifiques dans ce domaine.



Ainsi les besoins de recherches en ERE portent sur les « observations de terrain et de laboratoire » ce qui confirme l'intérêt des travaux de recherches menés jusqu'alors en écotoxicologie et le développement d'outils biologiques dans le cadre de l'axe « biosurveillance de la qualité des sols ». Ils portent également sur les « mesures de terrain ». De fait, nos travaux de recherche portant sur les ERE ont particulièrement été focalisés sur la réduction des incertitudes et l'augmentation de la fiabilité des indices de risques, grâce à la contribution de l'**écologie de terrain**. Ces études ont permis notamment de développer des **indices de biodiversité** mais aussi de caractériser la qualité des écosystèmes sur la base d'inventaires écologiques de terrain.

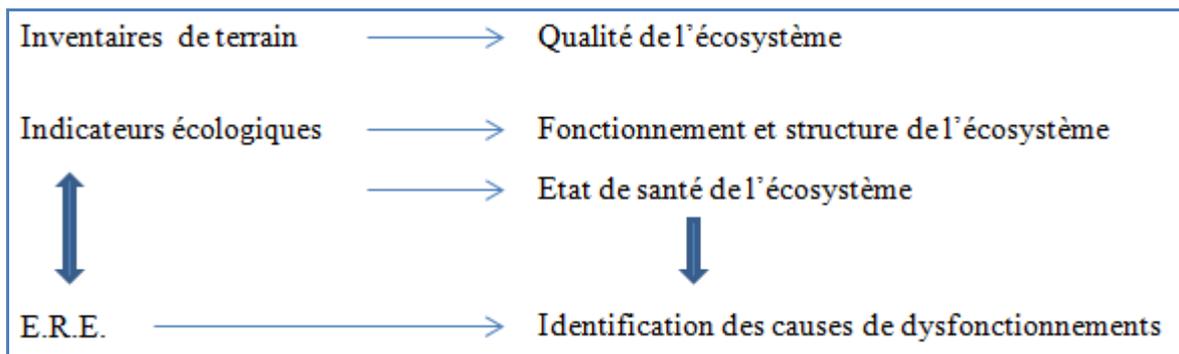


Illustration 1 : objectif de l'ERE et articulation avec l'écologie de terrain

L'évaluation des risques pour les écosystèmes est un préalable scientifique orientant les décisions de gestion des risques des sites et sols pollués. Parmi les solutions de gestion existantes, le phytomanagement présente de nombreux avantages comme l'utilisation de techniques végétales maîtrisées ou comme un coût restreint. S'appuyant sur les travaux de recherche menés en ERE et sur le caractère bioaccumulateur des espèces végétales supérieures, les paragraphes suivants décrivent nos travaux de recherche en **phytomanagement**.

Le phytomanagement est décrit comme un ensemble de technologies comprenant le **phytominer** (Nicks and Chambers, 1994) et la phytoremédiation qui peut être divisée en **phytoextraction** et

phytostabilisation (Salt *et al.*, 1995). La phytoremédiation peut avoir pour objectif d'immobiliser les ETM de manière à ce qu'ils ne soient ni lessivés ni n'entrent dans les racines (phytostabilisation). Il est également possible d'utiliser le système sol/plante pour que le végétal extraie les ETM et les transfère dans ses parties aériennes pour qu'ils soient volatilisés (phytovolatilisation) ou exportés (phytoextraction). Le phytomining est la phytoextraction de métaux de valeur provenant de minerais ou d'environnement contaminés.

Dans ce contexte, nos travaux de recherches ont porté sur :

- la revégétalisation du crassier acide de la mine de Tui (cuivre et plomb), Te Aroha, Nouvelle-Zélande ;
- la phytoextraction aidée du zinc, du plomb et du cadmium avec *Arrhenatherum elatius* ;
- le phytomining et l'hyperaccumulation du thallium chez *Iberis intermedia* ;
- l'étude de l'impact du *Miscanthus gigantea* utilisé en phytostabilisation sur la biodiversité végétale de sols contaminés par des éléments traces métalliques.

L'ensemble des thématiques présentées jusqu'alors s'inscrit dans un objectif global (celui du groupe biosurveillance) d'aider au diagnostic de la qualité des milieux. De part leur évolution, nos recherches visent aujourd'hui à répondre à la question : **les personnes à la santé dégradée vivent-elles dans un milieu de qualité dégradé** (en cohérence avec les travaux de l'EA 4483 - impact de l'environnement chimique sur la santé humaine). Ce questionnement tend à établir le **lien environnement - santé**. Ce lien, aujourd'hui reconnu, est toutefois difficilement caractérisé (qualitativement et/ou quantitativement). En conséquence, nos recherches portent sur la traduction de la qualité environnementale des milieux dans un système d'informations géographiques (SIG) afin d'en étudier le rapprochement cartographique mais aussi statistique avec des indicateurs sociaux et sanitaires (Figure 2).

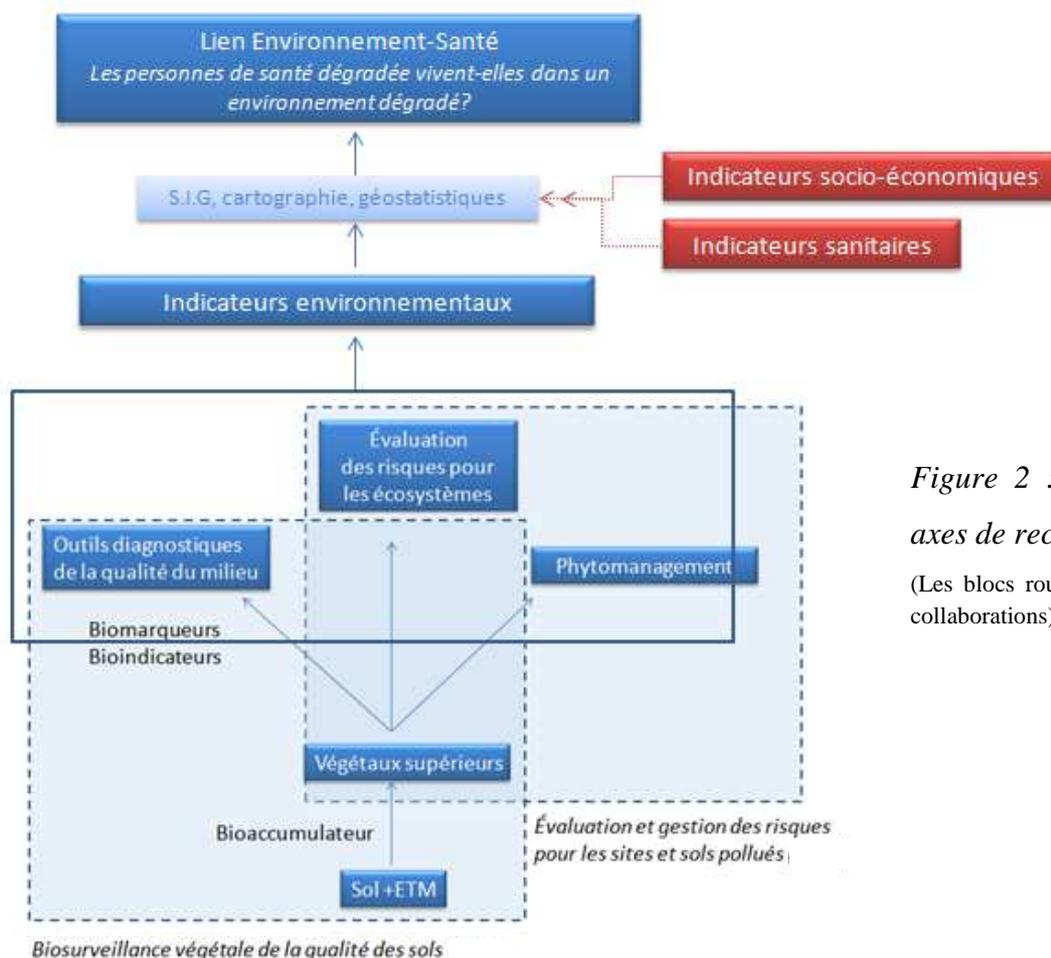


Figure 2 : articulation des axes de recherche

(Les blocs rouges s'appuient sur des collaborations)

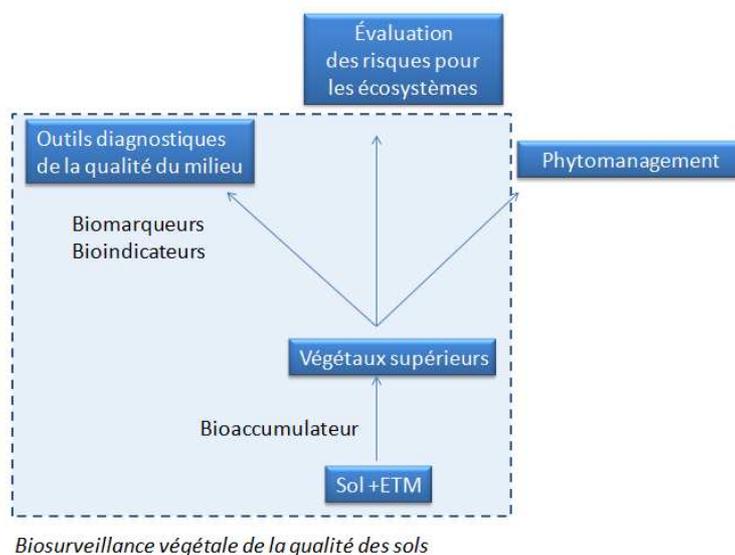
PRÉSENTATION DÉTAILLÉE ET ANALYSE CRITIQUE DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE

A) BIOSURVEILLANCE DE LA QUALITÉ DES SOLS

La biosurveillance :

« Utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre son évolution. »

Garrec & Van Haluwyn, 2002



Cette partie est composée de 2 thématiques portant sur :

- 1) la bioaccumulation des éléments traces métalliques (ETM) chez *Arrhenatherum elatius* au niveau individuel (basée sur les travaux de thèse de A. Deram, 2003), spécifique (Deram *et al.*, 2006), populationnelle (Deram *et al.*, 2007) et en fonction de la mycorhization d'*A. elatius* (Deram *et al.*, 2008 ; 2011) ;
- 2) les biomarqueurs d'effets systémiques et génotoxiques (basée sur les travaux de thèse de N. Manier, 2009). Cette thématique aborde :
 - la bioindication par l'indice nodulaire de *T. repens* (Manier *et al.*, 2009a) ;
 - la génotoxicité des ETM : tests des micronoyaux (Manier *et al.*, 2009b) et test des comètes (Manier *et al.*, 2012) ;
 - l'étude des mécanismes de fractionnement de l'ADN
 - génotoxicité et activités enzymatiques (Lanier *et al.*, soumise) ;
 - dommages à l'ADN et mesure de son oxydation (Deram *et al.*, soumise)
 - variabilité du profil d'expression génique, basé sur les travaux de thèse de F. Bernard (Bernard *et al.*, revue et 1 publication soumises).

1) LA BIOACCUMULATION DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES (ETM) CHEZ *ARRHENATHERUM ELATIUS*

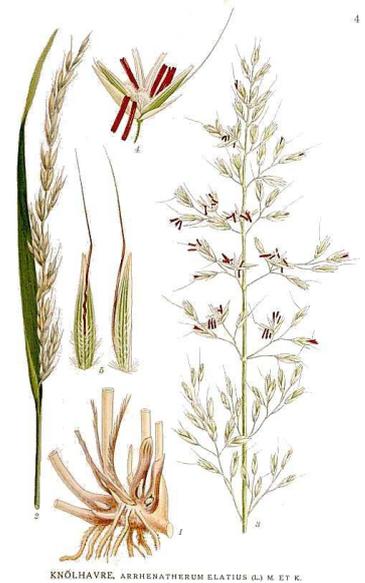
Ces recherches ont été effectuées dans le cadre d'un Programme de Recherches Concertées (PRC), inscrit dans le Contrat de Plan Etat-Région 1994-1999.

Elles ont pris place au Laboratoire de génétique et évolution des populations végétales, UPRESA-CNRS 8016, Bât SN2, Université des Sciences et Techniques de Lille et au Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, EA 4483, Université Lille 2 Droit et Santé.

Le modèle végétal : *Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. J&C Presl

Arrhenatherum elatius, en français avoine élevée ou fromental, appartient à la famille des poacées. Cousine de l'Avoine cultivée, cette espèce a une valeur fourragère. Son appareil racinaire forme un important réseau. En sol non ou peu pollué, il s'enfonce jusqu'à 80 cm (Languereau-Leman, 1999). En sol pollué, les racines se développent principalement dans la couche humique superficielle la plus polluée et y forment un feutrage très dense (Ducouso, 1985). La tige florale d'*A. elatius* a une hauteur de 60 à 180 cm en conditions normales. Sa productivité à l'hectare en sol non ou peu pollué est estimée à 10 t.ha⁻¹ et par fauche (Deram et Petit, 1997). Même si la taille des individus est plus faible en sol pollué, *A. elatius* y demeure une espèce productive (Ducouso, 1985).

Cette graminée, essentiellement allogame, présente un rythme de végétation estival avec parfois un regain en automne. Cette espèce est tétraploïde sur l'essentiel de son aire de répartition.



Arrhenatherum elatius est une graminée hémicryptophyte à large amplitude écologique. Elle se développe dans les prairies et les friches sur sols fertiles ou amendés, frais à secs, acides à calcaires, les digues et les bords de chemins (Fitter et Cuisin, 1988 ; Lambinon *et al.*, 1992).

Dans le nord de la France, *A. elatius* colonise aussi des terrils et des friches industrielles contaminées, notamment par de très fortes concentrations en métaux lourds (Petit, 1980 ; Ducouso *et al.*, 1990). C'est donc une espèce pseudométallophyte selon la définition de Lambinon et Auquier (1964). Elle forme de vigoureuses populations, adaptées aux conditions de vie difficiles de ce type de sol : fortes teneurs en métaux, faible capacité de rétention d'eau, pauvreté en éléments nutritifs.

Arrhenatherum elatius (L.) est une espèce à large biomasse, non-hyperaccumulatrice. Elle a été choisie car c'est une espèce :

- à large répartition géographique (de l'Afrique du nord à la Scandinavie, de l'Europe occidentale au sud-ouest de l'Asie),
- pseudométallophyte,
- que l'on peut facilement faucher,
- qui croît rapidement,
- qui peut facilement être cultivée en champs et en laboratoire,
- et qui tolère les métaux étudiés, zinc, plomb et cadmium, à de très fortes concentrations (se développe sur des sites calaminaires).

La capacité accumulative de cadmium, de plomb et de zinc a été étudiée chez *Arrhenatherum elatius*, espèce à forte biomasse (Deram *et al.*, 2000). Une étude détaillée du caractère bioaccumulateur de l'espèce a été menée à différents niveaux d'organisation de cette espèce.

Variations intra-individuelles des concentrations de zinc et cadmium dans les parties aériennes d'*A. elatius*

La **variabilité intra-individuelle** dans les parties aériennes d'*Arrhenatherum elatius* a été mesurée. Pour ce faire, la répartition du zinc et du cadmium dans les talles a été suivie. 15 graines provenant de la population du site calaminaire du bois des Asturies (Auby, France) ont été semées dans des sols artificiellement à 1000 mg/kg de zinc (ajout d'acétate de zinc) et 100 mg/kg de cadmium (ajout de nitrate de cadmium). Chaque jour, les talles nouvellement apparues ont été identifiées. Après 30 jours, les talles ont été récoltées et analysées. Les résultats sont exprimés dans la figure 3.

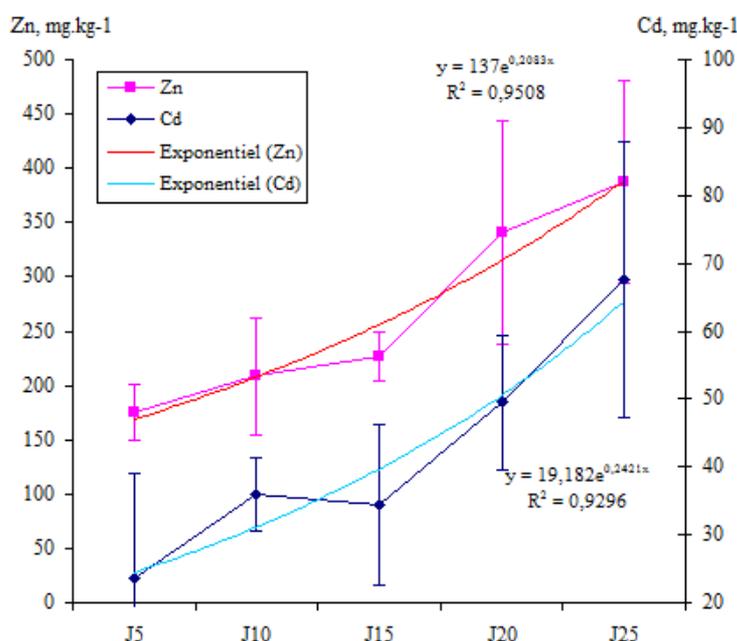


Figure 3 : évolution de la concentration moyenne ($n=5$) de Zn et de Cd dans les talles d'*A. elatius*, en fonction de leurs âges (J5 = 5^e jour)

Pour les deux métaux étudiés, l'accumulation varie significativement en fonction de l'âge des talles ($p < 0,001$ pour le zinc et $p < 0,002$ pour le cadmium). La concentration métallique des feuilles est plus importante pour les talles les plus anciennes, situées à la périphérie de l'individu ce qui traduit une accumulation et/ou un transport vers ces talles anciennes plus conséquents. Cette augmentation est même suffisamment importante pour compenser la dilution des concentrations métalliques dans les talles, engendrée par la croissance du végétal (Rains, 1971), les talles les plus anciennes étant également les plus grandes. Cela traduit également une augmentation du stockage des métaux dans les feuilles qui seront éliminées les plus rapidement par abscission. Ce mécanisme est signalé comme étant un mécanisme de tolérance (Bargagli, 1998). Les teneurs métalliques mesurées en fonction de l'âge des talles suivent, dans nos conditions d'expérience, une loi exponentielle pour les deux métaux, dont les équations semblent indiquer que la **cinétique d'accumulation du cadmium est plus rapide que celle du zinc**.

Cette étude a également mis en évidence l'importance de l'échantillonnage qui doit faire l'objet de précaution de manière à traduire correctement la représentativité de l'individu.

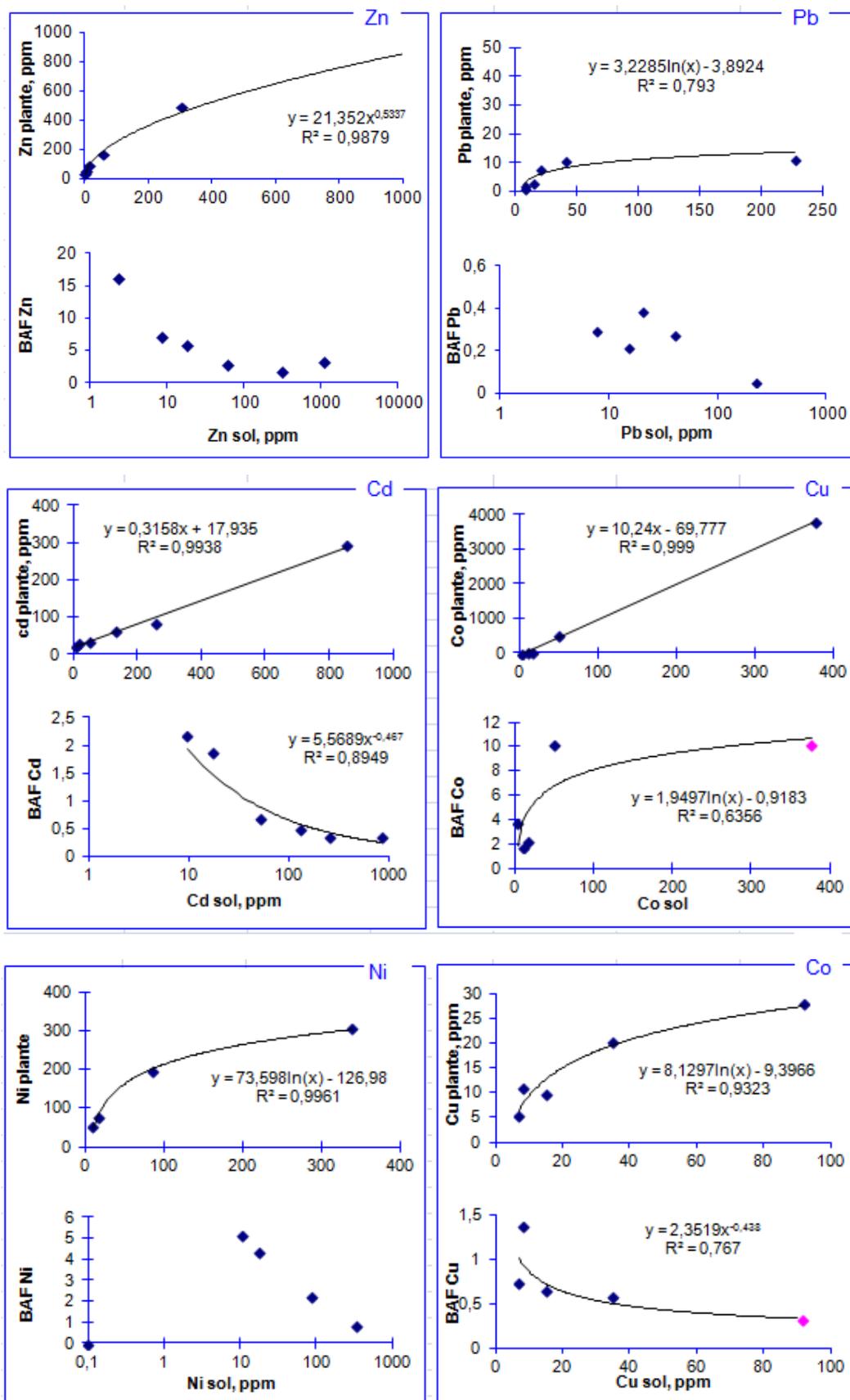


Figure 4 : bioaccumulation (haut) et facteur de bioaccumulation (bas) en fonction de la teneur en métaux dans le substrat (n=5). Les points roses indiquent la concentration à laquelle les plantules sont chlorotiques et nécrosées

Caractérisation de la bioaccumulation du zinc, plomb, cadmium, cuivre, cobalt, nickel et thallium chez *A. elatius* au niveau individuel

L'accumulation de zinc, plomb, cadmium, cuivre, nickel, cobalt et thallium chez *Arrhenatherum elatius* a également été étudiée au **niveau spécifique**. La bioaccumulation de cette espèce a été testée sur substrat artificiellement enrichi par les métaux précités constituant pour chacun des gammes de pollution monométallique.

La phytotoxicité des métaux vis-à-vis de la germination de notre espèce peut être classée comme suit, de la plus importante à la plus faible :

nickel > zinc > plomb > cuivre = cadmium = cobalt

A la suite du développement des graines, pendant la phase de croissance de la plantule, *A. elatius* a exprimé des signes de phytotoxicité vis-à-vis du cuivre et du cobalt.

Après 4 semaines d'exposition, les concentrations maximales décelées dans les plantes (en matière sèche) sont de l'ordre de 92 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le cuivre, 20 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le plomb, 300 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le cadmium, et le nickel, 3 000 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le zinc et près de 3800 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le cobalt (Figure 4).

La stratégie d'accumulation d'*A. elatius* diffère en fonction du métal étudié. Ainsi, il semble qu'*A. elatius* tolère de fortes concentrations de plomb, grâce à une stratégie de résistance. A l'opposé, cette espèce peut être considérée comme étant une accumulatrice de zinc sans que les concentrations atteintes soient importantes. Par contre, il semble qu'*A. elatius* (6 g.plant^{-1}) accumule d'importantes quantités de cadmium, particulièrement vis-à-vis de l'accumulation de ce métal étudiées chez d'autres graminées (Tableau 1).

Tableau 1 : accumulation de cadmium généralement observée dans les graminées en culture hydroponique (Ebbs & Kochian, 1997)

Espèce	Accumulation de cadmium (g.plant^{-1})
<i>Agropyron elongatum</i>	11,2
<i>Agrostis alba</i>	0,6
<i>Agrostis tenuis</i>	0,5
<i>Avena sativa</i>	38,2
<i>Elymus junceus</i>	10,2
<i>Festuca rubra</i>	0,7
<i>Hordeum vulgare</i>	25,3
<i>Phalaris arundinacea</i>	4,5
<i>Poa compressa</i>	0,1
<i>Puccinelia distans</i>	1,3

Obtenues en conditions simplificatrices (conditions optimales de culture et gammes de pollution monométallique), ces données nous ont conduits à nous interroger sur le maintien des stratégies adoptées, en conditions naturelles. D'autre part, l'étude de terrain nous a permis de mettre en place un plan expérimental sur le plus long terme. Ainsi, nous avons envisagé l'étude de la **variabilité du caractère de bioaccumulation en fonction des variations saisonnières**, paramètre primordial des modèles végétaux.

Variabilité de la bioaccumulation du zinc et du cadmium durant le cycle de végétation d'*A. elatius*

La bioaccumulation du cadmium et du zinc a été suivie de janvier à juillet dans 3 populations métallicoles (n=3) se développant sur sols calaminaires. Ces travaux de recherche ont donné lieu à une publication dans *Environmental Pollution* (Deram *et al.*, 2006). Les principaux résultats sont :

- la confirmation de la caractérisation de la bioaccumulation faite en laboratoire, dans la mesure où *A. elatius* possède une bonne capacité accumulatrice pour le cadmium et une capacité accumulatrice moyenne pour le zinc ;
- l'existence des variations de la concentration accumulée en fonction du cycle végétal. Ceci est dû d'une part à un phénomène de dilution (lors de la croissance et du développement de l'individu) et d'autre part à la variation de la quantité de zinc et de cadmium extraite par la plante. De fait, la quantité de métal extrait n'est pas directement en lien avec la biomasse. Dans nos conditions d'expérience, c'est en mars et non lorsque la biomasse est la plus importante (juin) que l'espèce extrait le plus (Figure 5).

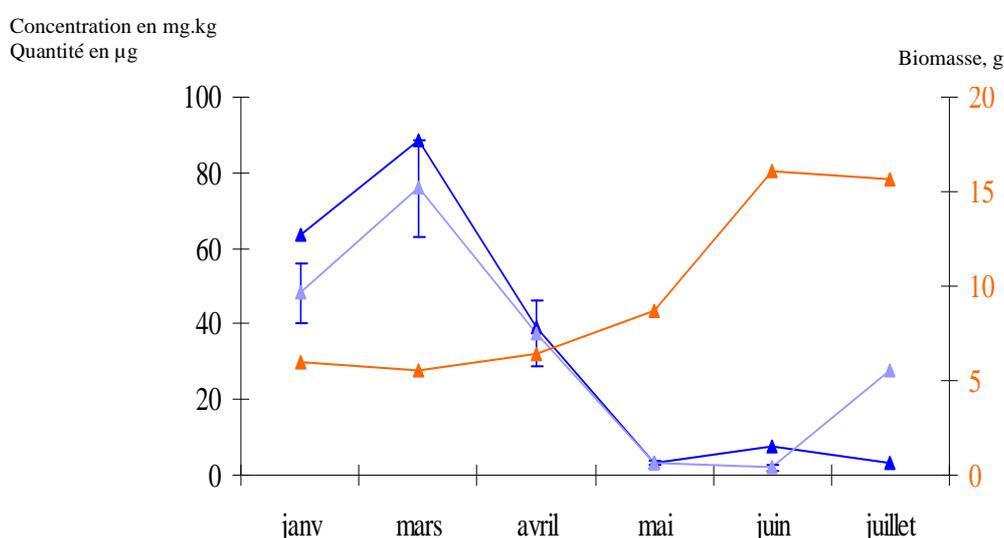


Figure 5 : concentration (bleu ciel), biomasse (orange) et quantité de cadmium (bleu foncé) dans les parties aériennes d'*A. elatius* se développant à Courcelles-les-Lens

Les facteurs influençant l'accumulation ont été identifiés grâce à une AFCM et une régression pas à pas et sont dans leur ordre d'importance : le pH du sol et la phénologie de la plante. Ces travaux de recherche ont également mis en évidence une variabilité de la bioaccumulation en fonction de la population étudiée.

Influence de la fauche sur la bioaccumulation du zinc et du cadmium dans les parties aériennes d'*Arrhenatherum elatius*

Les résultats précédemment décrits indiquent que la période de fauche influe sur les concentrations accumulées. Celles-ci sont plus importantes quand la fauche est effectuée en mars. Or, le fait de faucher à cette période entraîne le regain d'*A. elatius* ce qui permet d'envisager plusieurs fauches par année. En conséquence, nous avons testé l'effet de ces fauches sur l'accumulation de zinc et de cadmium de populations métallicoles et non-métallicoles.

Ces travaux de recherche donnent lieu à une publication en préparation (Deram *et al.* soumise).

Pour ce faire, 120 graines de 3 populations métallicoles provenant de sites calaminaires et 3 populations d'origine saine d'*Arrhenatherum elatius* ont été récoltées dans chaque population. Elles ont été semées dans un terreau artificiellement contaminé en cadmium (nitrate de cadmium) à raison de 0 ; 3 ; 100 et 225 mg.kg⁻¹ de cadmium. Les concentrations de zinc et de cadmium ont été mesurées 2 fois dans les feuilles des mêmes individus adultes pour évaluer l'effet de la fauche. La première fauche a été effectuée 6 semaines après le semis des graines d'*A. elatius* (T1) et la seconde fauche a été pratiquée 6 semaines après la première soit 12 semaines après le semis (T2).

Les principaux résultats sont représentés figure 6.

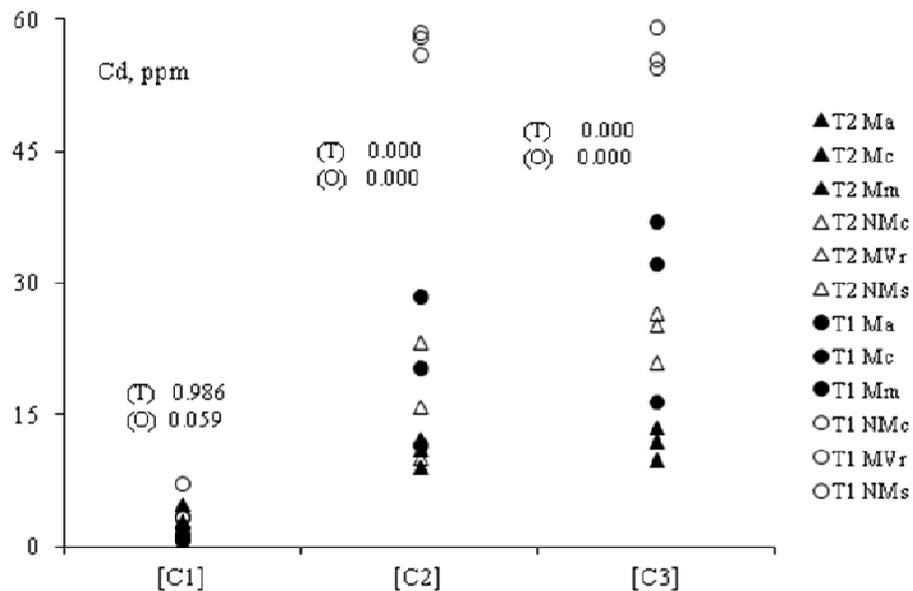


Figure 6 : bioaccumulation du cadmium ($n=3$) (mg.kg⁻¹) dans les parties aériennes d'*A. elatius* provenant de populations après 6 semaines (T1) et 12 semaines (T2)

Ma: métallicole du site d'Auby; Mm: métallicole du site de Mortagne-du-Nord; Mc: métallicole du site de Courcelles-Lens; NMc: non-métallicole du campus; NMs: non-métallicole de Sainghin-en-Mélantois; NMr: non-métallicole de Rouvroy. Pour chaque concentration, une ANOVA à 2 facteurs a été conduite : le facteur fauche (T) et le facteur origine de la population (O)

Les concentrations en cadmium dans les parties aériennes d'*A. elatius* sont importantes, de l'ordre de 60 mg/kg pour des populations non-métallicoles, 6 semaines après le semis. Les concentrations mesurées sont statistiquement inférieures après T2 par rapport à T1 pour les concentrations en cadmium ajoutées dans les sols les plus importantes. Des différences statistiquement significatives sont aussi observées en fonction de l'origine métallicoles ou non-métallicoles des populations.

Sur la base de ces résultats, l'étude de la **variabilité inter- et intra-populations** a été développée afin d'évaluer les possibilités d'amélioration des performances de l'espèce, en termes de bioaccumulation, par sélection des populations ou des individus accumulant le plus.

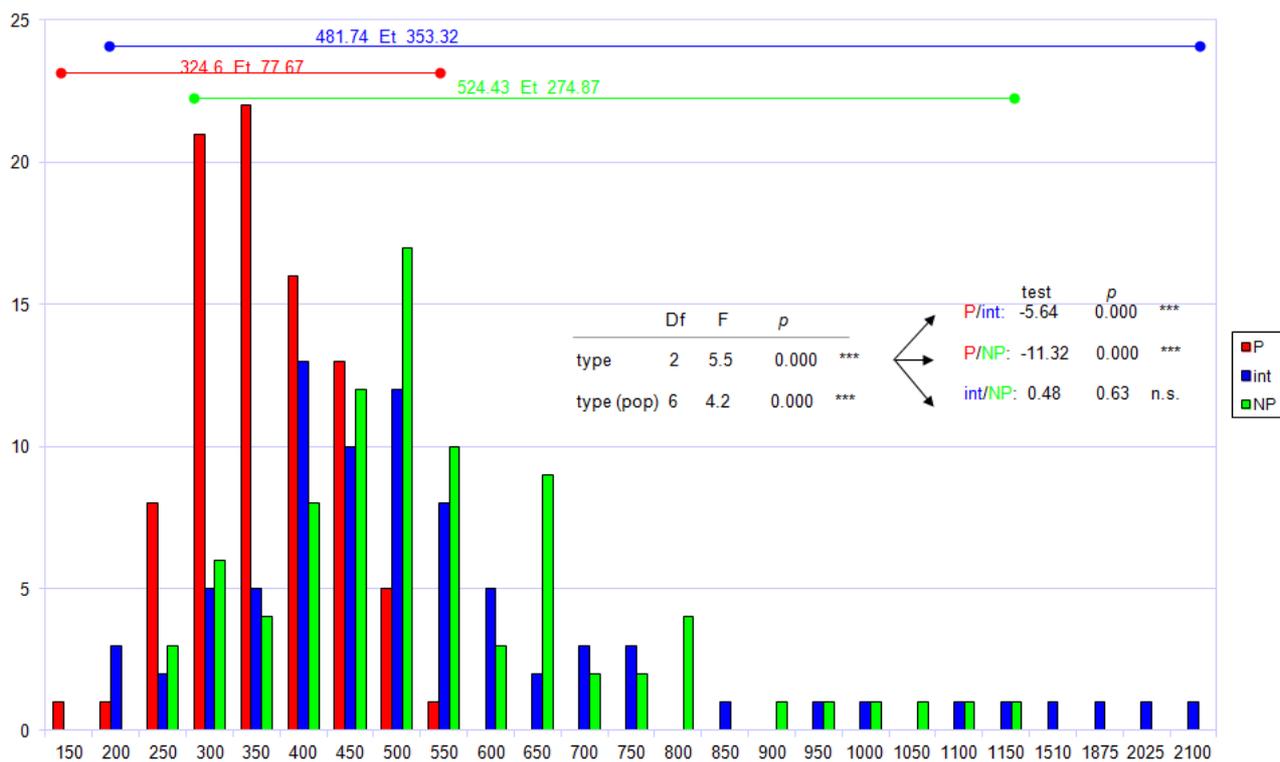


Figure 7 : distribution des origines, en fonction de l'accumulation de zinc dans les parties aériennes. L'axe des abscisses représente les concentrations dans les parties aériennes. Cet axe devient irrégulier à partir de 1200 mg.kg⁻¹. L'axe des ordonnées représente l'effectif

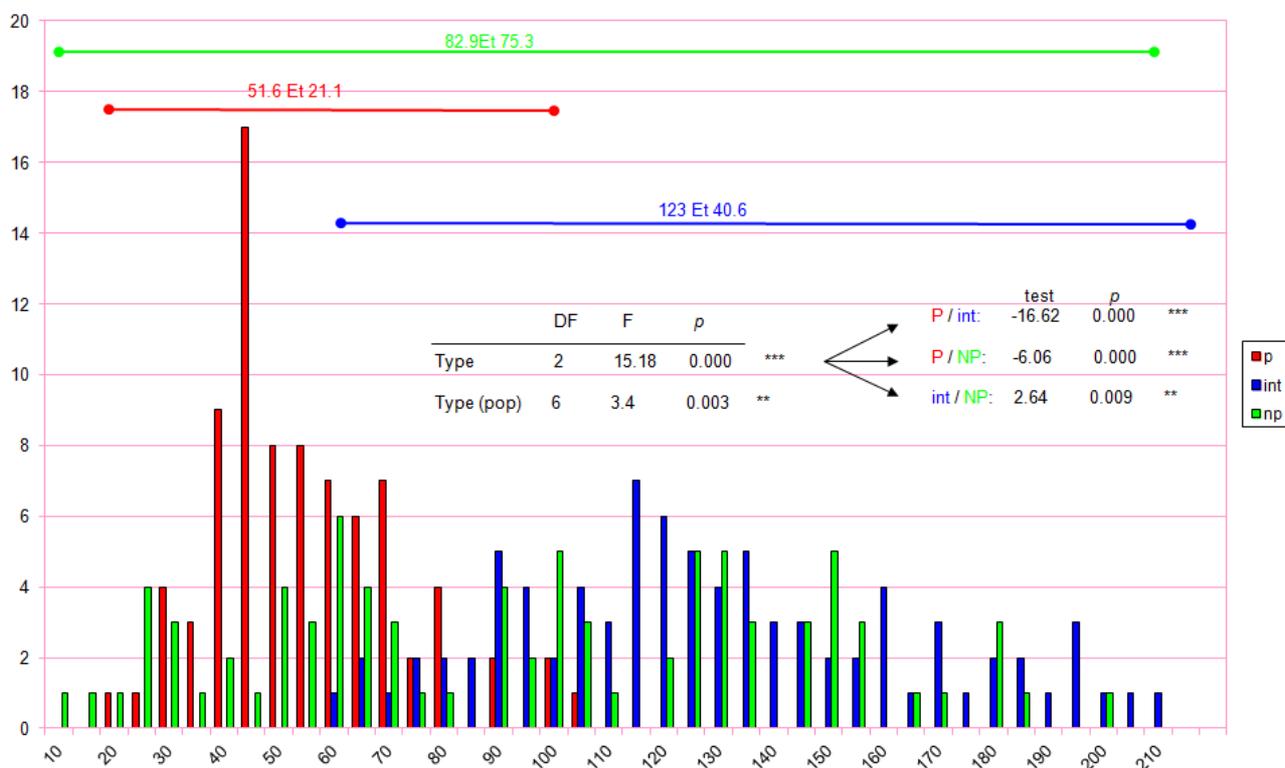


Figure 8 : distribution des origines, en fonction de l'accumulation de cadmium dans les parties aériennes. L'axe des abscisses représente les concentrations dans les parties aériennes (mg.kg⁻¹ partie aérienne sèche). L'axe des ordonnées représente l'effectif

Étude de l'accumulation différentielle de zinc et de cadmium des populations pseudométallophytiques d'*A. elatius*

Ces travaux de recherche ont donné lieu à une publication dans *Science of the Total Environment* (Deram *et al.*, 2007).

L'objectif principal de l'expérience est de comparer l'accumulation de zinc et de cadmium dans les parties aériennes de populations de trois origines :

- 3 populations métallicoles provenant de sites calaminaires (**pop P** comme polluées) ;
- 3 populations provenant de sites moyennement contaminés (**pop Int** comme intermédiaires) ;
- 3 populations d'origines saines d'*Arrhenatherum elatius* (**pop NP** comme non polluées).

Sur chaque site, les graines provenant de 30 individus d'*A. elatius* ont été collectées. Trois graines de chaque individu ont été semées dans un terreau artificiellement contaminé par 1000 mg kg⁻¹ de zinc et 300 mg kg⁻¹ de cadmium (nitrates). Cela a été réalisé en triplicat (3 x 3 graines). Douze semaines après le semis, les parties aériennes de chaque pot ont été récoltées et analysées (considérées comme 1 échantillon).

Ces résultats ont confirmé l'importante capacité accumulatrice de cadmium d'*A. elatius*. De plus, nous avons démontré que la bioaccumulation de ces populations diffère et que les **pop NP** accumulent significativement plus de zinc ($p < 0.0001$) et de cadmium ($p < 0.0001$) que les **pop P** (Figures 7 et 8, respectivement). Les **pop Int** ont accumulé autant de zinc et plus de cadmium que les **pop NP** et révèlent une forte variabilité vis-à-vis du caractère accumulateur pour le zinc et le cadmium dans leurs parties aériennes. Sous réserve que cette variabilité soit génétiquement contrôlée, ces résultats ont suggéré la possibilité d'améliorer l'accumulation du zinc et du cadmium pour le biais de la sélection des individus des **pop Int** présentant les meilleures capacités accumulatrices.

Accompagnant ces chapitres caractérisant le comportement de l'espèce vis-à-vis de la bioaccumulation des ETM, l'influence de la fertilisation du milieu et l'utilisation d'hormone de croissance sur les concentrations de zinc et de cadmium dans les parties aériennes d'*A. elatius* ont été testées. A l'issue de ces tests, il semblerait que les engrais de nature azotée puissent, sur sol moyennement contaminé, augmenter la bioaccumulation du plomb et du zinc (pas d'effet significatif pour le cadmium) et par conséquent accroître la pénétration de ces polluants dans la chaîne alimentaire. Aucun résultat significatif n'a été observé suite à l'utilisation des hormones.

In fine, l'interaction de l'espèce avec ses symbiotes a été étudiée.

Colonisation fongique chez *Arrhenatherum elatius* (L.) et son influence de la sur l'accumulation du cadmium

Le premier objectif de ces études était de caractériser la colonisation des mycorhizes à arbuscules (MA) et des champignons non mycorhiziens bruns septés (DSF) dans 8 populations d'*A. elatius* se développant le long d'un gradient de sols contaminés par les métaux lourds. Ces études avaient pour but de déterminer les contributions effectives de chaque type d'endophytes en relation avec la bioaccumulation et la tolérance. Ces travaux de recherche concernant *A. elatius* et ses symbiotes fongiques ont donné lieu à une publication dans *Soil and sediment contamination* (Deram *et al.*, 2011).

Ainsi, ces études mettent en évidence pour la première fois la présence concomitante de MA et de DSF dans *A. elatius*. De plus, la colonisation racinaire par les MA, les DSF ainsi que par la densité de spores ont été estimés et mis en relation avec les paramètres de caractérisation des sols (ETM et

agronomiques). Cela nous a permis de conclure que la pollution des sols affecte l'infestation mycorrhizienne (hyphe, arbuscules et vésicules) jusqu'à en entrainer la disparition. A l'opposé, l'intensité de la colonisation par les DSF, basée en présence des MA sur des sols non-contaminés, est plus importante sur des sols pollués.

En conséquence, l'influence des mycorhizes à arbuscules (MA) et des champignons non mycorrhiziens bruns septés (CBS) sur l'accumulation du cadmium chez *A. elatius* provenant de sites contaminés par les éléments traces métalliques a été étudiée en fonction du cycle saisonnier.

Ces travaux de recherche concernant *A. elatius* et ses symbiotes fongiques ont donné lieu à une publication dans *Soil Biology and Biochemistry* (Deram *et al.*, 2008).

Les principaux résultats démontrent que l'infection par les CBS est faible mais reste constante quelle que soit la saison ou la concentration en cadmium du sol. De manière opposée, la colonisation par les MA varie en fonction de la saison au cours du cycle de développement d'*A. elatius*. La colonisation varie également en fonction de la concentration en cadmium du sol : la présence de MA étant moindre lorsque que la concentration en cadmium du sol est importante. Ceci indique que ce métal semble être toxique pour les MA.

Parallèlement, la concentration de cadmium dans les parties aériennes d'*A. elatius* est plus importante lorsque la colonisation par les MA est forte, démontrant que la présence de ces symbiotes fongiques peut avoir une influence sur l'accumulation de cadmium. L'ensemble de cette expérimentation soulève l'hypothèse que les variations saisonnières de la colonisation d'*A. elatius* par les MA peuvent jouer un rôle dans les mécanismes de protection de la graine vis-à-vis du cadmium. En effet, ces structures mycorrhiziennes tendent à disparaître parallèlement à une réduction des concentrations de cadmium dans les parties aériennes d'*A. elatius*, lors du stade phénologique de maturation de la graine. Ces résultats innovants se révèlent d'intérêt quant à leur application en phytoextraction pour la dépollution des sols contaminés par les ETM.

Ces études montrant l'importance de prendre en considération les symbioses et les interactions avec la rhizosphère, nous ont permis d'évoluer vers un nouveau modèle symbiotique : *Trifolium repens* L. (Trèfle blanc).

2) LES BIOMARQUEURS D'EFFETS SYSTÉMIQUES ET GÉNOTOXIQUES CHEZ *T.REPENS*

Ces recherches ont été soutenues par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) et les fonds FEDER.

Elles ont pris place au Laboratoire TESERIS de la Faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS) et Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques (LSVF) de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, EA 4483, Université Lille 2 Droit et Santé.

Le modèle végétal : *Trifolium repens* (L.)

Trifolium repens est l'une des Légumineuses du genre *Trifolium* les plus importantes sur le plan agronomique. Il existe un très grand nombre de cultivars ayant chacun ses propres traits d'adaptation (Voisey *et al.*, 1994). Sur le plan génétique, *Trifolium repens* est une espèce allotétraploïde obligatoire, possédant un nombre de $2n = 4x = 32$ chromosomes, et pouvant avoir une forte hétérogénéité génétique (Williams, 1987; Ansari *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2003) qui permet à *Trifolium repens* de s'adapter facilement à des micro-environnements compétitifs.

De fait, il s'agit d'une espèce sauvage commune et ubiquiste, capable de se développer sur une multitude de matrices environnementales (y compris polluées), ce qui permet l'étude de matrices réelles et offre la possibilité de réaliser par la suite des études *in situ*.

T. repens possède également la spécificité de former des nodules (Illustration 2). En effet, les racines de *Trifolium repens* ont la capacité de former une association symbiotique avec une bactérie du genre *Rhizobium* qui lui est spécifique : *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii*. Cette association symbiotique permet au végétal de fixer l'azote atmosphérique sous forme N₂. Elle contribue fortement à la fertilisation des sols et peut apporter de 100 à 200 kg d'azote par hectare (Ledgard *et al.*, 2001). Cette particularité confère à cette espèce une grande importance écologique de par sa contribution à la fertilisation des sols. En conséquence, *T. repens*, espèce encore peu étudiée en écotoxicologie mais maîtrisée dans notre laboratoire, s'avère par ses caractéristiques, complémentaire des modèles étudiés jusqu'alors.

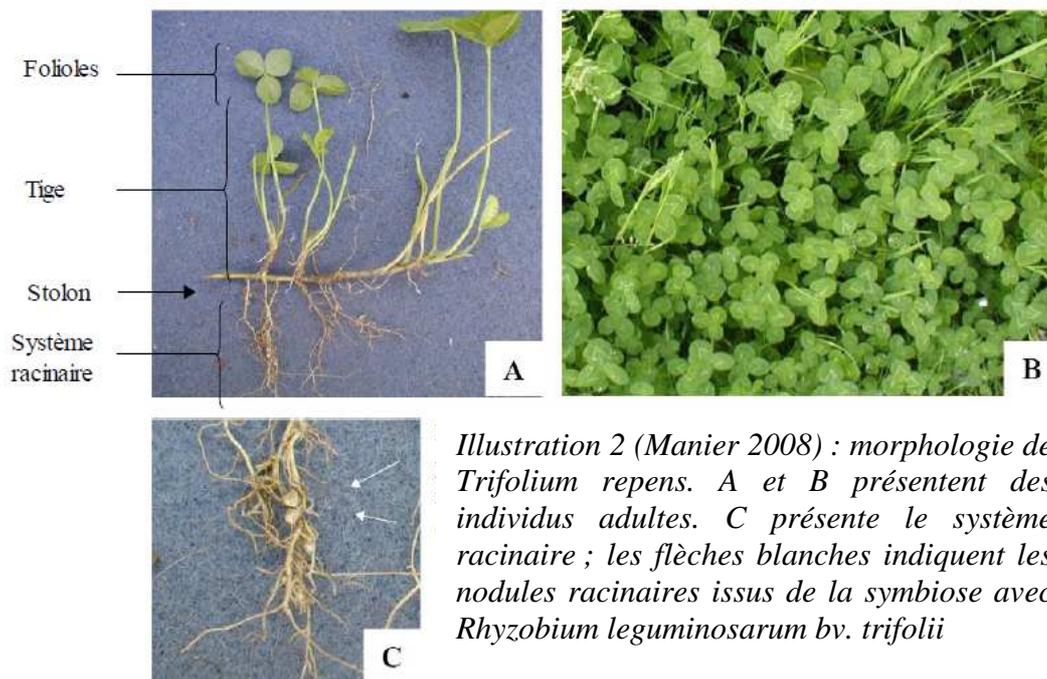


Illustration 2 (Manier 2008) : morphologie de *Trifolium repens*. A et B présentent des individus adultes. C présente le système racinaire ; les flèches blanches indiquent les nodules racinaires issus de la symbiose avec *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

La variété végétale utilisée au cours de nos travaux est *Trifolium repens* bv. Haifa (Australie), provenant du commerce. Toutes les expérimentations ont été menées avec le même stock de graines, homogènes en taille et stockées en chambre froide à 4°C dans un conditionnement opaque, afin de conserver leur pouvoir germinatif.

Étude de la nodulation chez *Trifolium repens* (L.) se développant sur des sols contaminés par les éléments traces métalliques

Ces travaux expérimentaux font suite à une première étude menée *in situ* qui a permis de montrer que la nodulation (nombre de nodules par gramme de biomasse fraîche) de *T. repens* semble être moins importante chez les individus prélevés dans les sols contaminés par rapport à ceux prélevés dans les sols situés hors zone de contamination. Cependant, dans les conditions d'expériences de cette première étude, cette tendance n'est pas statistiquement significative. Cela s'explique par la grande variabilité observée, due aux nombreux facteurs environnementaux et intra-individuels pouvant influencer le développement des nodules racinaires (âge de la plante, caractéristiques physico-chimiques des sols notamment). En conséquence, une étude en conditions contrôlées a été conduite au laboratoire afin d'étudier les effets sur la nodulation de *T. repens* d'une exposition directe à des sols anthropisés. En effet, la littérature présente essentiellement des résultats après exposition à des solutions mono-contaminées artificiellement par des sels métalliques.

A terme, la caractérisation du développement de la nodulation racinaire de cette légumineuse avait pour finalité d'évaluer la possibilité d'utiliser la sensibilité de cette symbiose en tant que bioindicateur de la qualité des sols.

Ainsi, 14 sols du secteur de METALEUROP (Douaisis, France) ont été prélevés en tenant compte de la concentration des éléments traces métalliques (ETM) dans les sols, de la distance à l'usine métallurgique, ainsi que de la typologie du terrain. Ces sols ont été placés dans des rhizotrons, préalablement au semis de graines de *T. repens*. Ce système de culture permet de suivre le développement racinaire sans déterrer la plantule. L'organisme n'est donc ni stressé, ni cassé ou blessé au cours de la mesure. Deux paramètres sont particulièrement suivis durant toute la durée de l'expérimentation :

- l'évolution de l'élongation racinaire : paramètre dont la mesure permet d'estimer la tolérance des végétaux supérieurs vis-à-vis de la contamination des sols (Bradshaw, 1952) ;
- l'apparition de la nodulation.

Les premiers nodules sont apparus au cours de la sixième semaine de culture et la majorité des autres nodules s'est développée au cours des neuvième et dixième semaines de culture. C'est à cette période que la discrimination du nombre de nodules en fonction de la contamination des sols est apparue. Ainsi une période de 10 semaines au minimum est nécessaire pour envisager l'utilisation d'un indice de nodulation comme bioindicateur.

Dans cette étude, les caractéristiques agronomiques et granulométriques des différents sols ont été analysées afin de considérer leurs influences sur le développement des nodules racinaires. Les résultats obtenus dans nos conditions d'expériences semblent indiquer que les teneurs en sable, en argile et le pH des sols ont peu d'effet sur le développement de la nodulation racinaire de *T. repens*.

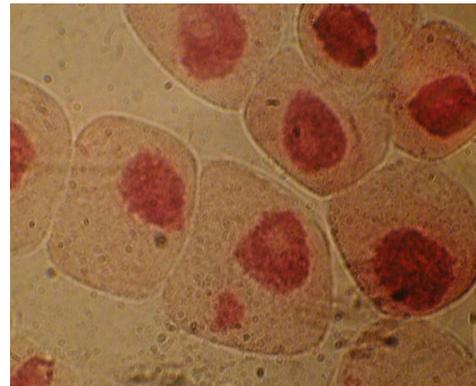
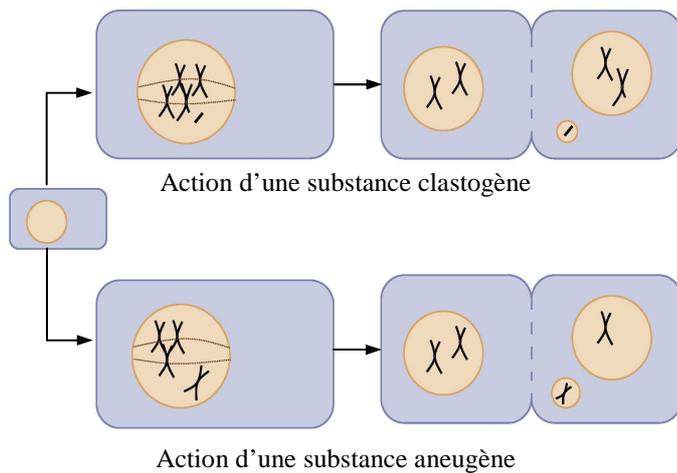
Concernant l'impact des ETM, quelques auteurs ont mis en évidence le rôle de sels métalliques en solution sur le développement de la nodulation des légumineuses d'une manière générale. Néanmoins, la majorité des expérimentations sont réalisées en cultures hydroponiques et ne permettent donc pas de prendre en compte la complexité liée aux caractéristiques intrinsèques des sols (Van-Rossum *et al.*, 1994 ; Ibekwe *et al.*, 1995 ; Rebah *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Kopittke *et al.*, 2007). Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude montrent que *T. repens* est capable de développer des nodules racinaires dans une large gamme de sols anthropiques contenant des teneurs variables en éléments traces métalliques. Si l'on considère le nombre de nodules développés, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Chen *et al.* (2003), indiquant une diminution du nombre de nodules racinaires avec l'augmentation des teneurs en éléments traces métalliques. Broos *et al.* (2005) et Chaudri *et al.* (1993), ont démontré que la bactérie symbiotique, *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, était sensible aux fortes teneurs en zinc, ce qui permet d'expliquer en partie la forte diminution de notre indice de nodulation dans les sols les plus fortement contaminés.

Enfin, dans le but d'utiliser la nodulation comme un bioindicateur de la qualité des sols, nous nous sommes intéressés à la sensibilité et à la robustesse de cet éventuel indice. En effet, un bioindicateur doit à la fois être sensible aux polluants présents mais également robuste vis-à-vis des autres caractéristiques intrinsèques des sols. Les résultats de cette expérience indiquent clairement que l'indice de nodulation est plus sensible que les paramètres liés à l'élongation racinaire, à la taille des parties aériennes, à la couleur ou la taille du nodule, mesurés chez *T. repens*. Parallèlement, l'indice de nodulation apparaît comme étant moins robuste que les autres paramètres. Toutefois, il possède une robustesse considérée comme acceptable (sur la base du calcul de robustesse défini par Broos *et al.*, 2005).

Cette étude a fait l'objet d'une publication affichée au 16^{ème} congrès international SETAC (2006), ainsi que d'une publication dans *Journal of Environmental Quality* (Manier *et al.*, 2009).

Étude de la génotoxicité des sols contaminés par les éléments traces métalliques : adaptation du test micronoyaux à un nouveau modèle biologique, *Trifolium repens*

Une partie des aberrations chromosomiques est constituée de fragments de chromosomes non rattachés au fuseau mitotique (action de substances clastogènes). Ces fragments sont appelés « fragments acentriques ». Lorsque la cellule se divise, certains de ces fragments sont exclus du noyau principal de la cellule fille et forment de petites structures extra-nucléaires, semblables à de petits noyaux, appelées micronoyaux. De la même façon, des chromosomes entiers, qui n'ont pas migré à l'un des deux pôles du fuseau, à cause d'anomalies fusoriales, peuvent aboutir à la formation de ces micronoyaux (action de substances aneugènes).



Micronoyaux dans les cellules d'une racine de *Vicia faba* exposée à l'hydrazine maléique [10^{-5}]

Illustration 3 : mécanisme d'action des substances aneugènes et clastogènes et formation de micronoyaux (Manier, 2008)

Développé dans un premier temps chez *Tradescantia* (clone 4430) afin d'appréhender les pollutions atmosphériques, le test micronoyaux a été adapté aux solutions contaminées chez *Vicia faba* L. (NF T 90-327, Mars 2004). L'adaptation de ce test aux matrices terreuses (approche directe) en vue de sa normalisation est en cours.

Dans le cadre de ces recherches, nous avons adapté le test micronoyaux au modèle végétal : *T. repens*, puis avons mis en place ce test sur matrices terreuses contaminées en ETM. *V. faba* est également testée afin de constituer un témoin d'interprétation vis-à-vis des résultats obtenus chez *T. repens*. Les tests ont été réalisés à la fois en solution contaminée par un sel métallique (CdCl_2), ainsi que sur une gamme de sols contaminés en ETM provenant du secteur de METALEUROP (Douaisis, France).

Dans une première expérimentation en solution, les racines de *T. repens* bv. Haifa et de *V. faba* bv. Maya ont été exposées à un gradient de trois concentrations de chlorure de cadmium (CdCl_2), reconnu comme étant un contaminant fortement clastogène. Les racines de *T. repens* sont exposées aux solutions contaminées pendant 30 heures. Les racines de *V. faba* sont mises à germer et exposées aux solutions suivant la norme en vigueur (AFNOR, 2004).

Les données obtenues après exposition aux solutions contaminées en CdCl_2 de *T. repens* ont permis dans un premier temps de mettre en évidence une diminution importante et significative de la division cellulaire. La toxicité induite par le CdCl_2 provoque une forte diminution de la croissance racinaire de *T. repens* dans nos conditions d'expérience. Ce résultat souligne le fait que l'effet principal observé ici est un effet cytotoxique, et met en évidence la forte sensibilité de ce modèle au

CdCl₂ en solution. Cependant, il est important de noter que cet effet cytotoxique ne semble pas être dose dépendant. La toxicité exprimée reste constante et proche de 50% d'inhibition de la division cellulaire. Ce modèle végétal n'exprime donc pas de sensibilité vis-à-vis de l'induction de micronoyaux en solution contaminée par du CdCl₂.

De plus, en raison de sa morphologie (racines fines, noyaux de petite taille), ce modèle semble, d'un point de vue technique, moins approprié que *V. faba* pour la détermination de la fréquence des micronoyaux.

En ce qui concerne *V. faba*, les résultats obtenus en solution sont en accord avec la littérature, montrant une augmentation significative ($p < 0,05$) du nombre de micronoyaux après exposition aux solutions contaminées. Une faible diminution (non significative) de l'indice mitotique est également mesurée chez les individus exposés à la solution la plus contaminée.

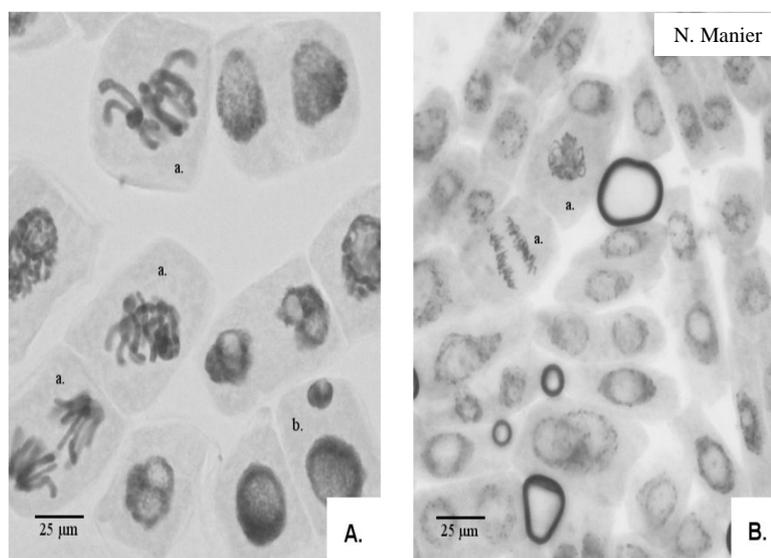


Illustration 4 : cellules racinaires de *Vicia faba* (A) et *T. repens* (B), a cellules en division, b cellules micronuclées

En ce qui concerne l'exposition

aux matrices terreuses, les sols utilisés pour l'étude proviennent du secteur de METALEUROP où des sols faiblement, moyennement et fortement contaminés ont été prélevés. Un quatrième sol provenant du secteur mais ne présentant pas de contamination a été utilisé en tant que référence. De plus, un sol de référence auquel a été ajouté de l'hydrazine maléique (1 mg.kg⁻¹) a été utilisé en tant que contrôle positif.

Les graines de *T. repens* ont été semées directement dans les premiers 0,5 cm du sol à tester. Les jeunes pousses de *T. repens* sont collectées après quatre jours d'exposition, fixées puis conservées jusqu'à la lecture.

Les graines de *V. faba* ont été préalablement mises à germer dans l'eau déminéralisée pendant quatre jours. A l'issue de ces quatre jours, les graines présentant une racine primaire de trois centimètres ont été transplantées dans les différents sols à tester pendant 72 heures (De Marco *et al.*, 1995). A l'issue de ces trois jours d'exposition, les racines de *V. faba* ont subi le même traitement que celles de *T. repens*.

Les résultats obtenus confirment la tolérance de *T. repens* vis-à-vis des sols contaminés en ETM. L'indice mitotique mesuré indique un bon développement de *T. repens* durant toute l'exposition. Aucune augmentation du nombre de micronoyaux n'a pu être observée dans nos conditions d'expérience. Les résultats obtenus pour *V. faba* montrent que ce modèle est plus sensible que *T. repens* pour la mise en évidence de l'induction de micronoyaux après une exposition directe aux sols. La fréquence des micronoyaux pour les sols moyennement et fortement contaminés est 8,8 et 9,6 fois plus importante que celle mesurée pour les individus se développant dans notre sol de référence. Les résultats montrent également que la concentration en matière organique et la capacité d'échange cationique (CEC) sont significativement corrélées à la fréquence des micronoyaux mesurée. Avec une telle approche, il semble nécessaire de prendre en considération les paramètres physiques et chimiques des sols afin de mieux évaluer leur potentiel génotoxique.

Cette étude a fait l'objet d'une publication affichée au 16^{ème} congrès international SETAC (2006), ainsi que d'une publication dans *Water, Air and Soil Pollution* (Manier *et al.*, 2009).

Adaptation du test des comètes à *Trifolium repens* en vue de l'étude de la génotoxicité des sols contaminés par les éléments traces métalliques

Ces recherches ont été effectuées dans le cadre d'un appel à projet de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) et ont été soutenues par l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME).

Elles ont pris place au Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques (LSVF) de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, EA 4483, Université Lille 2 Droit et Santé dans le cadre d'un projet intitulé « Marqueurs de Génotoxicité Environnementales pour l'évaluation des risques de matrices polycontaminées (MarGeEn) ».

Le test des comètes (aussi appelé Single Cell Gel Electrophoresis Assay) permet la détection et la quantification de la détérioration de l'ADN induite par certains agents dans des cellules individualisées. En utilisant la version alcaline du test, les cassures simples ou doubles peuvent être détectées ainsi que les sites de réparation incomplets alcali-labiles. C'est un test d'électrophorèse en gel d'agarose réalisé sur cellules isolées. Après électrophorèse, les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent une forme de comète et les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé restent ronds. Ces cassures de l'ADN sont soit directement induites par le génotoxique, soit consécutives au stress oxydatif induit par l'agent, ou encore la conséquence de la mise en œuvre de systèmes de réparation de l'ADN. Dans tous les cas, ce sont des lésions primaires à l'ADN qui sont quantifiées.

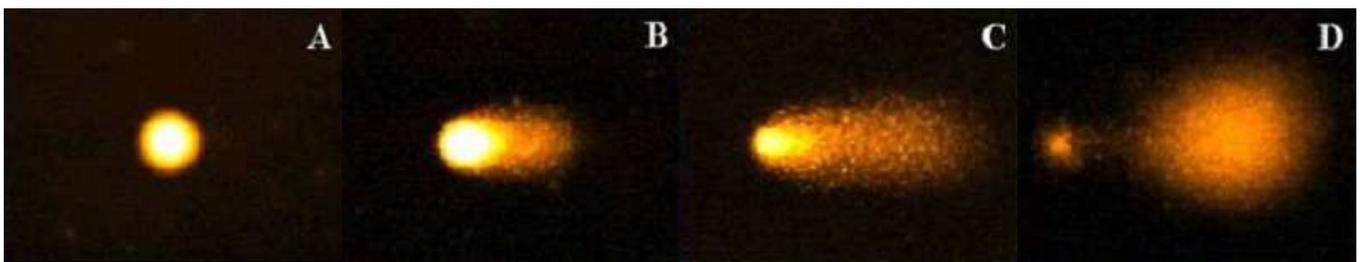


Illustration 5 : formation de comètes (Gishner, 2003) A : noyau intact, B et C : noyaux endommagés, D : noyau hautement dégradé, jusqu'à disparition de la tête de la comète

A partir des années 80, les plantes supérieures sont reconnues comme étant d'excellents indicateurs d'effets cytotoxiques et mutagènes induits par des contaminants environnementaux. De fait, leur utilisation en biosurveillance est promue (Grant, 1999). Dans ce domaine, le test du micronoyau chez *Tradescantia* est le plus utilisé suite à des expositions courtes (30 h). Le test de comètes permet de considérer des expositions plus longues. Il présente aussi les avantages d'être rapide, simple, visuel et sensible pour mesurer les dommages à l'ADN des cellules individualisées (McKelvey-Martin *et al.*, 1993). Ce test fut mis au point par Östing and Johanson en 1984 pour des cellules de mammifères. Pour les végétaux supérieurs, le test a été utilisé pour la première fois par Cerda *et al.* en 1993, afin d'identifier les aliments soumis à des traitements par irradiation. En 1999, Cotelle *et al.*, dans leur revue sur l'utilisation du test des comètes en écotoxicologie génétique, listent uniquement 2 articles mentionnant des plantes supérieures. Ce test sur cellules végétales est utilisé pour la première fois en biosurveillance de la qualité de l'air extérieur par Sriussadaporn *et al.*, en 2003. En ce qui concerne les sols contaminés, la première étude est publiée en 2004 par White and Claxton. Nous avons étudié, dans le cadre du master recherche de N. Manier, les sols industriels contaminés par les ETM, avec *T. repens* à partir de 2005. L'utilisation de cette espèce, choisie pour son caractère sauvage et ubiquiste, se développant spontanément sur les sites d'étude a nécessité des adaptations. En effet, bien que le test des comètes puisse être appliqué à toutes les espèces, 3 espèces végétales, *Vicia faba*, *Allium cepa* and *Nicotiana tabacum* var. *Xanthi.*, sont les plus couramment utilisées. (Revue bibliographiques comètes/végétaux, en préparation).

Nos travaux de recherche ont donc en premier lieu été consacrés à l'adaptation de ce test chez les végétaux supérieurs, notamment *T. repens*. Deux étapes importantes du protocole concernant l'isolement des cellules et la prise en compte de la paroi ont été maîtrisées en adaptant, étape par étape, le protocole de Gishner (2003) à notre espèce modèle. Cela nous a permis d'envisager des expérimentations concernant l'induction de comètes par des contaminants dans les parties aériennes de *T. repens*. A ce titre, une première publication sur la mise en évidence de la génotoxicité des lixiviats de décharge est parue en 2012 (Manier *et al.*, 2012).

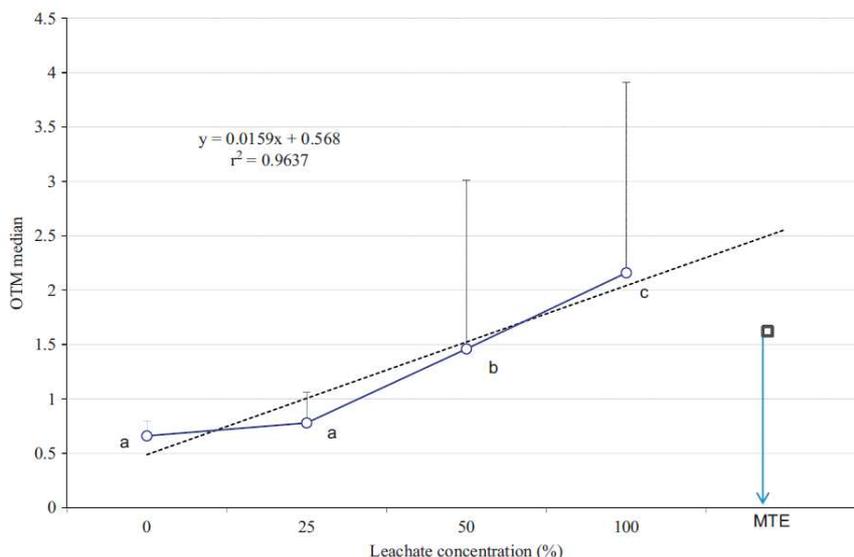


Figure 9 : dommages primaire à l'ADN (OTM) dans les parties aériennes de *T. repens* en fonction des concentrations de lixiviats de décharges ajoutés au sol de référence

Chaque valeur correspond à la médiane et à l'écart type de la médiane ($n=6$), calculé pour 50 noyaux. MTE : 1mg/kg Cd + 300 mg/kg Zn.

Cette publication est issue d'expérimentations menées en microcosmes suite à des co-expositions de *T. repens* et *Eisenia fetida*, le ver du fumier. Les résultats obtenus avec *T. repens* ont permis la mise en évidence d'une augmentation dose-dépendante de l'Olive Tail Moment (OTM). Ils ont surtout souligné la complémentarité des 2 espèces dans la biosurveillance de la qualité des sols en matière de représentativité de l'écosystème, de voie d'administration différentielle et surtout d'une diversité d'effets biologiques.

Génotoxicité des sols contaminés par les éléments traces métalliques : étude de la complémentarité des modèles

A la suite de cette étude, dans le cadre du programme MarGeEn, le test des comètes est réalisé après exposition aux mêmes matrices environnementales chez 4 organismes modèles de niveaux trophiques différents : *Trifolium repens* (le Trèfle blanc) et *Eisenia fetida* (le ver du fumier) qui vivent en contact intime avec le sol et sont reconnus pour leur utilisation en écotoxicologie, *Brassica oleracea* (modèle développé pour la biosurveillance de la qualité de l'air dans un contexte industriel complexe, Rzepka, 2008, Norme VDI 3557, 2000) et aussi chez le rat, représentant des mammifères (Figure 10).

L'étude concomitante de ces organismes est d'intérêt pour l'appréhension de la sensibilité des réponses obtenues par les espèces test en matière de détection du caractère génotoxique d'un site (L'ensemble des organismes révèlent-ils un effet génotoxique dans les sites étudiés ? La réponse donnée est-elle la même ou est-il opportun d'envisager pour diagnostiquer un milieu de considérer

une batterie de test de génotoxicité ?). Des tests sur lignées de cellules humaines intestinales (Caco-2 et T-84) sont également en cours. Les résultats attendus nous autoriseront à formuler des hypothèses sur l'expression d'une réponse de même nature par des organismes très différents et sur l'entrée en jeu des mécanismes de détoxication et/ou de réparation qui pourraient induire une réponse différentielle vis-à-vis de la génotoxicité suite à l'exposition contrôlée. Le programme MarGeEn doit être finalisé pour la fin de l'année. La valorisation de ces résultats fait partie des perspectives à court terme.

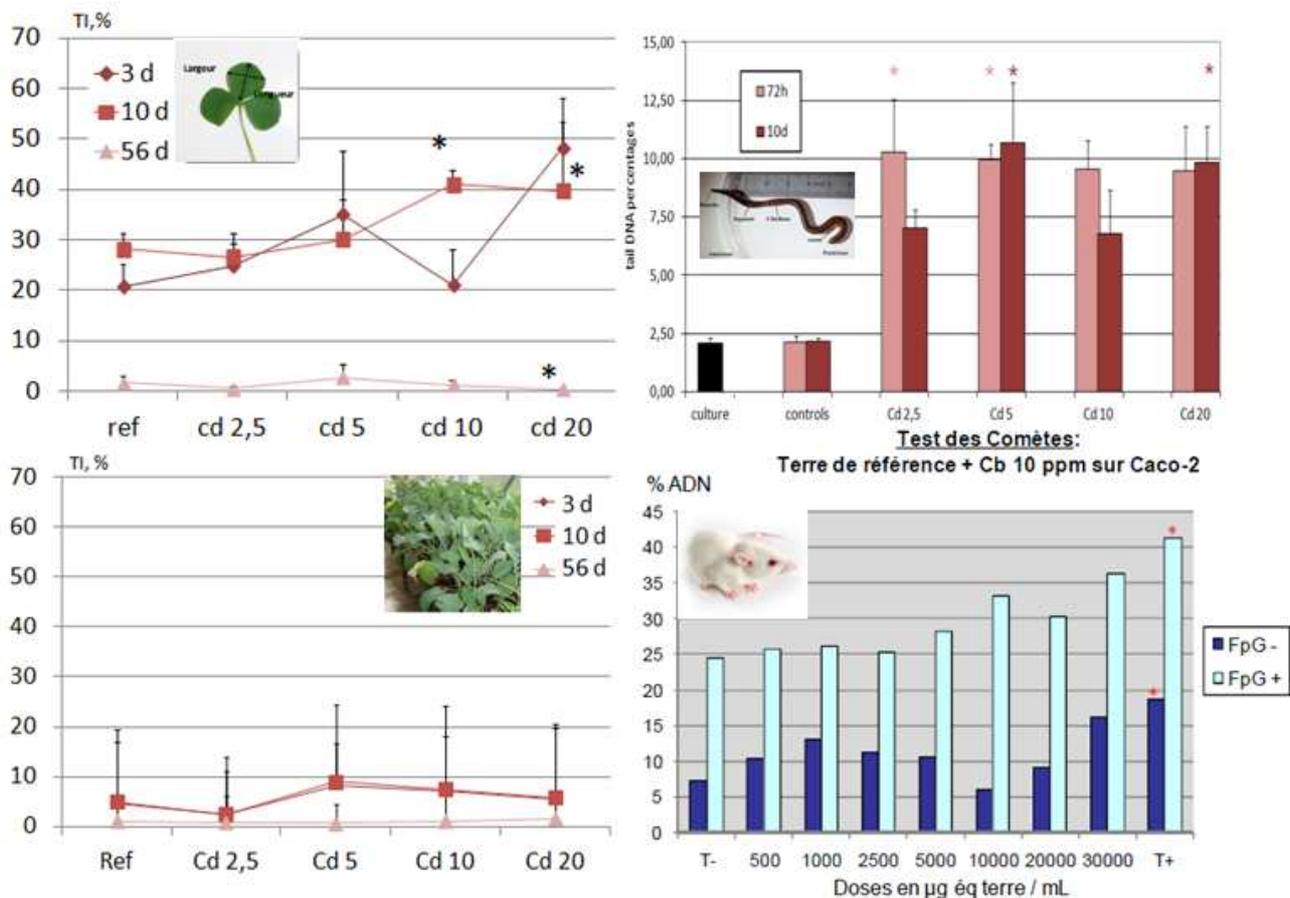


Figure 10 : résultats préliminaires du test des comètes suite à une exposition des espèces étudiées à un sol péri-urbain dopé avec du chlorure de cadmium en différentes concentrations

Étude des mécanismes de fractionnement de l'ADN : contexte

En plus de la capacité des espèces étudiées à caractériser la génotoxicité d'un sol par le biais du test des comètes, le programme MarGeEn permet également d'étudier les mécanismes de fractionnement de l'ADN. Or, les mécanismes responsables de la génotoxicité des métaux chez les végétaux supérieurs restent encore mal compris. Le cadmium pourrait avoir une action à la fois directe et indirecte au niveau de l'ADN (Valverde *et al.*, 2001). Sous sa forme cationique, il aurait la possibilité de se lier directement de façon covalente avec certains nucléotides, notamment l'adénine, la guanine, l'adenosine-5-monophosphate (AMP) et la desoxyguanosine-5-monophosphate (dGMP) (Hossain et Huq, 2002). Il formerait ainsi des adduits labiles. Indirectement, le cadmium induirait des effets génotoxiques en inhibant les systèmes anti-oxydants de la cellule, permettant ainsi l'accumulation d'espèces réactives à l'oxygène (ERO), ou en induisant la formation d'ERO (Gichner *et al.*, 2004 ; Waisberg *et al.*, 2003). La voie indirecte serait la voie privilégiée (Gichner *et al.*, 2004 ; Gichner *et al.*, 2007).

Cette voie indirecte permettrait la formation d'adduits à l'ADN. Parmi les nombreux adduits que l'on peut rencontrer au niveau de l'ADN, la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) est l'une des plus fréquemment rencontrées (Breen and Murphy, 1995; Wang *et al.*, 1995). Des études récentes mettent en évidence un certain nombre de lésions (adduits, cassures simple brin) suite à la production d'ERO chez les végétaux exposés au cadmium. Ainsi, Gichner *et al.* (2004) observent l'augmentation des lésions primaires à l'ADN chez *Nicotiana tabacum var. xanthi* exposé à différentes concentrations de cadmium en solution. Les ERO générées pourraient également être à l'origine des cassures double brin de l'ADN (Ewans *et al.*, 2004).

Sur la base de ces éléments, nos études ont porté sur :

- l'analyse d'activités enzymatiques (APOX – GPOX) en lien avec la gestion des ERO de la cellule et les cassures à l'ADN ;
- l'adaptation du protocole des comètes, par l'utilisation de glycosylases, en vue de mettre en évidence les sites oxydés ou portant des adduits de l'ADN mais n'ayant pas engendré de cassures ;
- le développement de protocoles en vue du suivi de la variation de l'expression de gènes codant pour des enzymes impliquées dans le stress oxydant.

Ascorbate et gâïacol peroxydases et dommages à l'ADN

Plusieurs études récentes chez les végétaux ont montré que l'exposition à des métaux lourds, et plus particulièrement au cadmium ou au zinc, pouvait provoquer la formation d'ERO au sein des cellules (Drazkiewicz *et al.*, 2007 ; Semane *et al.*, 2007 ; Romero-Puertas *et al.*, 2007 ; Lin *et al.*, 2007 ; Prasad *et al.*, 1999). De plus en plus d'études semblent indiquer que la toxicité du cadmium serait en partie liée à la formation d'ERO (Lin *et al.*, 2007 ; Radestski *et al.*, 2004 ; Piqueras *et al.*, 1999).

D'une manière générale, les peroxydases sont impliquées dans l'élimination de H₂O₂. Leur niveau de transcription augmente rapidement suite à un stress oxydant. L'importance de l'ascorbate peroxydase (APOX) dans la protection des cellules contre les effets néfastes d'excès de H₂O₂, est suggérée par l'augmentation d'activité d'APOX en réponse à plusieurs types de stress (Tanaka *et al.*, 1985; Gillhan et Dodge, 1986; Smimoff et Gressel, 1988), bien que le mécanisme par lequel l'activité d'APOX est induite n'est que partiellement connu. Dans les chloroplastes, l'ascorbate peroxydase réduit le H₂O₂ en H₂O en utilisant l'acide ascorbique comme donneur d'électrons selon la réaction suivante.

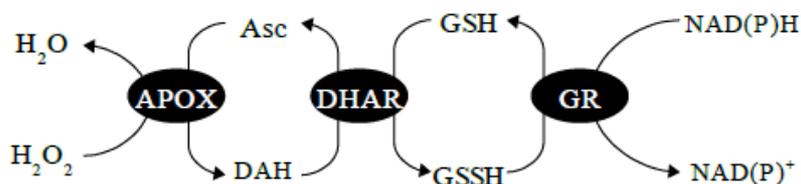


Figure 11 : cycle de Haliwell-Ashada. APOX : Ascorbate peroxydase, Asc: Ascorbate, DHA : dehydroascorbate, DHAR : dehydroascorbate reductase, GR : glutathion reductase, GSH/GSSH : glutathion (reduit/oxyde)

La gâïacol peroxydase (GPOX) participe à de nombreux processus physiologiques, comme la biosynthèse des lignines (Kay and Basile, 1987) ou le développement des plantes. La GPOX possède aussi une importante capacité potentielle pour éliminer les formes actives d'oxygène lors d'un stress oxydatif. La GPOX consomme le H₂O₂ en utilisant le gâïacol ou le pyrogallol comme donneur d'électrons.

Nos travaux de recherche ont mené à l'analyse de ces 2 enzymes sur des échantillons provenant des mêmes individus de *T. repens* que ceux analysés dans le cadre du test des comètes décrit ci-dessus. Le but est d'étudier l'existence de liens potentiels entre l'activité de ces enzymes impliqués dans la gestion des ERO et les cassures à l'ADN observées. Pour ce faire, *T. repens* a été exposé à un sol naturel artificiellement contaminé avec du plomb, du cadmium ou les deux. Les sols pollués par le cadmium l'ont été suivant les concentrations suivantes : 0 ; 2.5 [C1] ; 5[C2] ; 10 [C3] et 20 [C4] mg.kg⁻¹. La contamination par le plomb a été réalisée selon les concentrations suivantes : 0 ; 250 [C1] ; 500 [C2] ; 1000 [C3] and 2000 [C4] mg.kg⁻¹. Deux séries de sols contaminés ont été préparés en combinant des concentrations soit de 5 ou de 10 mg.kg⁻¹ de cadmium avec les concentrations de plomb suivantes : 250 ; 1000 and 2000 mg.kg⁻¹.

Après 10 semaines de croissance en terreau, *T. repens* a été transplanté dans 9 pots de chaque condition de sol (144 pots). Les échantillons ont été collectés dans 3 pots après 3, 10 et 56 jours d'exposition. A la fin de l'exposition, 2 x 50 mg de folioles fraîches ont été prélevés de chaque pot pour le test des comètes. Par ailleurs, 100 mg de folioles ont été collectés dans chaque pot, congelés dans l'azote liquide et stockés à -80°C jusqu'à l'analyse des enzymes anti-oxydantes étudiées.

La génotoxicité du cadmium vis-à-vis de *T. repens* est confirmée dans nos conditions en microcosme. Néanmoins, l'exposition aux sols contaminés en cadmium ne semble pas entraîner de variation de l'activité enzymatique.

L'exposition au plomb n'induit pas de cassures à l'ADN en nombre significativement différent du sol sans ajout de plomb mais semble augmenter la concentration en espèces réactives à l'oxygène dans les cellules de *T. repens*. En conséquence, dans ces conditions d'expérience, il ne semble pas exister de lien entre les cassures de l'ADN mesurées et les activités peroxydase testées. Des mesures plus directes et plus précoces des ERO sont envisagées.

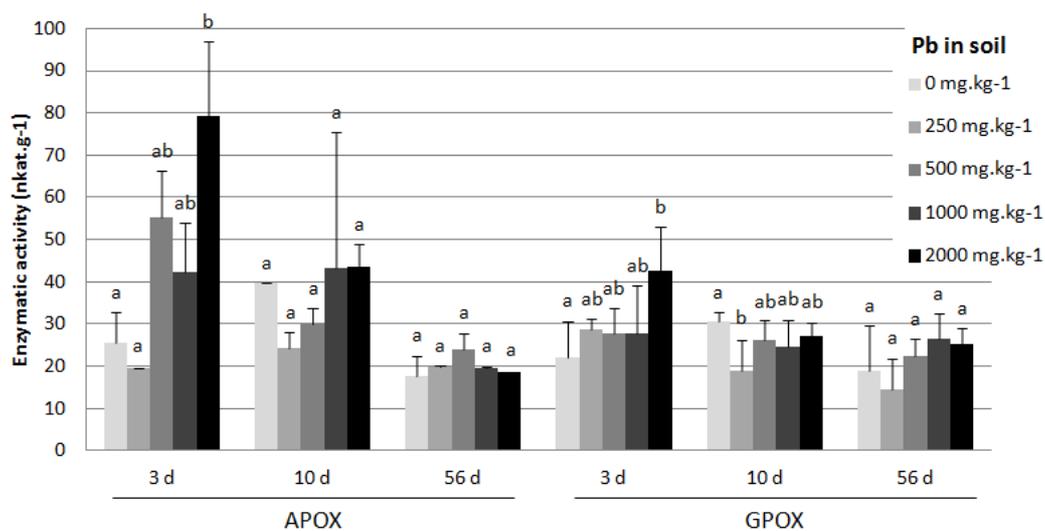


Figure 12 : activités APOX et GPOX (nkat.g⁻¹) de *T. repens* (n=3) exposé durant 3, 10 et 56 jours au sol de référence et aux sols contaminés artificiellement par le plomb

* : p-value vs sol de référence < 0.05

Quoiqu'il en soit, ces travaux ont conduit à la mise au point de nouveaux biomarqueurs d'effets systémiques complémentaires de ceux d'ores et déjà maîtrisés au laboratoire sur différents modèles (lichens, bryophytes et végétaux supérieurs) comme le malondialdéhyde (MDA) permettant de nous renseigner sur l'atteinte des membranes cellulaires (voie d'entrée des contaminants et toxiques) ou les Super Oxyde Dismutase (SOD), enzymes qui interviennent dans le processus de défense contre les radicaux libres induits par ces mêmes toxiques (Cuny, 1999 ; Denayer, 2000 ; Cuny *et al.*, 2004).

Cette étude fait l'objet d'une publication soumise à *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Lanier *et al.*, soumise).

Utilisation des ADN glycosylases pour augmenter la sensibilité du test des comètes

Il existe des dommages à l'ADN qui ne sont pas détectés par le test des comètes. En particulier, une grande variété de bases oxydées a été identifiée au niveau de l'ADN nucléaire. La 8-oxodihydroguanine (8-oxo-dG) est la plus abondante (Costa de Oliveira *et al.*, 1992). Dans les cellules, ces perturbations sont prises en compte par le système de réparation par excision de base (BER) (Collins, 2004). Le BER est initié par des ADN glycosylases comme la formamidopyrimidine glycosylase (FPG) et la 8-oxoguanine-DNA-glycosylase (OGG1) qui reconnaissent et suppriment les bases modifiées, formant ainsi des sites abasique (site AP). La réparation de ces sites AP se poursuit avec l'intervention d'autres enzymes comme des AP endonucléases, des ADN polymérase ou des ADN ligases. Sans ces enzymes, les sites AP subsistent. Or, étant alkali-labiles, ils peuvent être convertis en cassures à l'ADN. Cela conduit à une augmentation de la quantité d'ADN dans la queue lors de la réalisation du test des comètes (Le Bihan, 2009). En conséquence, la détection des bases oxydées avant leur réparation par le système BER a été envisagée par le biais d'une adaptation du test des comètes conventionnel. Bien qu'il y ait un nombre important de publications concernant la présence des ADN glycosylases dans les plantes (Duclos, 2012), à notre connaissance, cette adaptation du test des comètes n'a jamais été testée sur les végétaux, malgré le fait que cette technique soit couramment utilisée sur cellule animale (Reeves *et al.*, 2008). Ainsi, nos travaux ont porté sur l'adaptation du test des comètes conventionnel, par l'ajout d'une étape utilisant soit la FPG, soit la hOGG1, chez *T. repens* et *B. oleracea*.

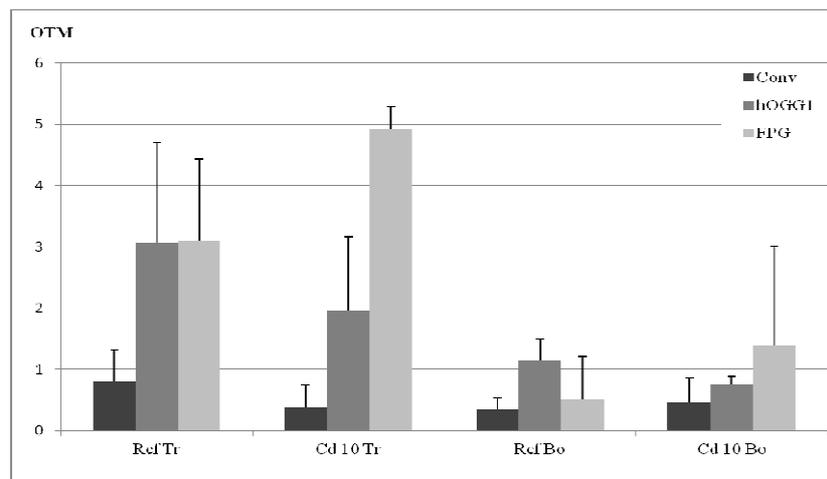


Figure 13 : OTM for conventional-, FPG-added or hOGG1-added comet assays in *T. repens* (Tr) and *B. oleracea* (Bo) exposed to the reference soil (Ref), or to the reference soil contaminated with 10 mg.kg⁻¹ of cadmium (Cd 10)

Les résultats obtenus (Figure 13) permettent d'avancer, qu'après optimisation des protocoles en vue de réduire les sources de variabilité, le test des comètes adapté à la détection des bases oxydées (c'est-à-dire avec une étape supplémentaire d'ajout d'une enzyme ADN glycosylase) peut tout à fait être envisagé chez les modèles végétaux.

Néanmoins, nos résultats indiquent également qu'un contrôle « technique » doit obligatoirement être inclus dans le protocole. En effet, nous ne pouvons pas exclure qu'une augmentation des cassures à l'ADN est induite par le protocole adapté lui-même (protocole adapté mais sans les enzymes). Bien que cela s'entende comme une évidence, peu de publications incluent ce contrôle.

Cette étude fait l'objet d'une publication soumise à *Mutation research* (Deram *et al.*, soumise).

Identification et établissement d'une stratégie permettant de cloner des effecteurs chez *T. repens*

Dans cette partie, nous souhaitons mesurer l'expression de gènes codant pour des protéines impliquées dans les mécanismes de stress oxydant chez *T. repens*. Lorsque nous démarrons ce travail, très peu de données moléculaires sont disponibles concernant les protéines impliquées dans le système oxydatif chez *T. repens*. Cela signifie que très peu de séquences sont disponibles dans les banques de données. Par conséquent, il n'est pas possible de mesurer le niveau d'expression génique de la plupart des effecteurs sélectionnés.

Le premier travail a donc consisté en l'identification et en l'établissement d'une stratégie permettant de cloner ces effecteurs chez *T. repens*. La stratégie mise en place pour le clonage des protéines impliquées dans le stress oxydant de *T. repens* a été la suivante :

1^o étape : extraction d'ARN et rétrotranscription (RT)

Le principe consiste à extraire les ARN totaux des tissus étudiés et de les rétrotranscrire *in vitro* en ADN complémentaire (ADNc), grâce à l'action de la transcriptase reverse. Les molécules d'ADN obtenues peuvent alors servir de matrice à une réaction de PCR cherchant à amplifier une séquence d'intérêt.

2^o étape : clonage et séquençage

Afin de cloner l'ensemble des effecteurs, des amorces oligonucléotidiques sont nécessaires. Pour cela, une recherche de séquences dans les banques de données moléculaires (ex: GenBank™, NCBI) des effecteurs cibles chez des espèces proches de *T. repens* (*Fabaceae*) est d'abord effectuée. Puis des alignements de séquences protéiques sont réalisés grâce à des logiciels d'alignement de séquences (Multalin, ClustalW) afin de mettre en évidence les zones les plus conservées. Enfin, les amorces oligonucléotidiques sont conçues et localisées sur les alignements grâce à un 3^o logiciel (CODEHOP). Les amorces, qui sont en partie dégénérées, sont sélectionnées dans les zones fortement conservées. Ce caractère « dégénéré » est nécessaire pour offrir une variabilité qui permet de trouver les séquences qui correspondent le mieux à nos effecteurs.

3^o étape : amplification et vérification

Les ADNc, obtenus par rétrotranscription de l'ARN de *T. repens*, ont été utilisés comme matrice pour amplifier par PCR les fragments d'ADN (amplicons) correspondant aux effecteurs sélectionnés. S'en suivent des étapes de i) récupération des produits de la PCR et migration sur un gel d'agarose, ii) validation de la taille attendue des amplicons à l'aide d'un marqueur de taille, iii) ligation des produits de PCR contenant les amplicons cibles dans des plasmides, clonage des plasmides à l'aide de cultures bactériennes et séquençage de l'ADN plasmidique par une firme privée. L'ensemble de ces étapes a conduit, *in fine*, à l'obtention de séquences des enzymes étudiées chez *T. repens*.

Tableau 2 : liste des amorces utilisées chez *T. repens* lors de la PCR en temps réel

Candidat ^a	Forward ^a	Reverse ^a
Elongation factor 1-alpha (<i>TrEF1a1</i>) ^a	5'-TGGAATTCGAGACCACCA-3' ^a	5'-ACCAGCTTCAAAACCACCA-3' ^a
TATA binding protein (<i>TrTBP2</i>) ^a	5'-ATCCCAAGCGTTTTGCTG-3' ^a	5'-GCCGTATGGGGAATTTGA-3' ^a
SAND-family protein (<i>TrSAND1</i>) ^a	5'-TGAAAACGGGGGTGATTCT-3' ^a	5'-TTCCGTGGAGCTAATGCAG-3' ^a
Métallothionéine (<i>TrMT1B</i>) ^a	5'-ATGTGCAAGCCGAAACCA-3' ^a	5'-TTGCAGCCACTGTCCTCA-3' ^a
Ascorbate peroxydase (<i>TrAPX1</i>) ^a	5'-CAGAGTTTCATCGCT-3' ^a	5'-TCGAATCCAGAACGCT-3' ^a
Catalase (<i>TrCAT5</i>) ^a	5'-AACACGTACTCCCTGAT-3' ^a	5'-GTCTGTGCCTCTGTGA-3' ^a
Glutathion peroxydase (<i>TrGPX7</i>) ^a	5'-AGATCACCAAAAAAGCCT-3' ^a	5'-ACTACACGGAECTCTCG-3' ^a

Une revue sur la stratégie adoptée est soumise (*Bernard et al.*).

Quantification de l'expression génique et variabilité des profils

T. repens est exposé selon les conditions décrites dans le cadre des mesures des activités enzymatiques APOX, GPOX (Cf. page 41). Brièvement, *T. repens* est exposé à des sols contaminés suivant un gradient de contamination en cadmium, suivant un gradient de contamination en plomb, et à deux séries de sols dopés en cadmium et en plomb en mélange selon des concentrations variables. L'exposition dure 3, 10 ou 56 jours.

A la suite de ces expositions, les mesures d'expression génique ont été réalisées sur l'ARN total extrait de feuilles provenant de groupes d'environ 10 individus par condition d'exposition. Le protocole mis en place est le suivant :

- 1) Les ARN totaux sont extraits de l'échantillon végétal puis sont dosés au spectrophotomètre (Nanodrop) avant de procéder à la retro-transcription pour l'obtention des ADNc mono-brin ;
- 2) Pour un candidat donné, les couples d'amorces obtenus (Tableau 2) sont ajoutés aux ADNc et à un mélange constitué d'un tampon, de MgCl₂ et d'une enzyme (SYBR™ Green) (l'ensemble est appelé master mix) en vue de réaliser une PCR en temps réel (qPCR). A ce stade, l'ajout des ADNc doit se faire dans des proportions strictement identiques entre les échantillons pour autoriser les comparaisons de profils à l'issue de la qPCR.

Le résultat attendu est une expression plus ou moins forte du gène cible. Pour cela, une normalisation des niveaux d'expression des gènes cibles à un ou plusieurs gènes de référence est primordiale.

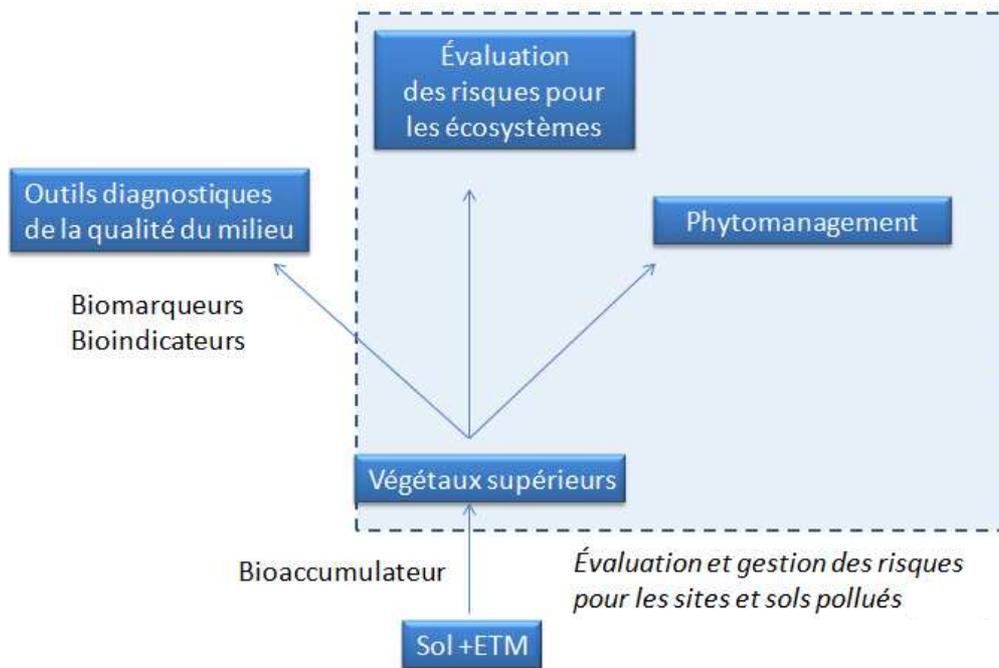
Tableau 3 : niveau de l'expression relative d'une métallothionéine (*TrMT1B*) mesuré chez *T. repens* (groupes d'environ 10 individus par condition)

	[métaux], mg.kg ⁻¹	Expression relative		
		72 h	10 j	56 j
Cd	Réf	⇒ 1,00	⇒ 1,00	⇒ 1,00
	2,5	⇒ 1,07	↘ 0,76	↗ 2,40
	5	↘ 0,84	↘ 0,69	↗ 3,38
	10	↗ 1,50	↘ 0,78	↗ 2,31
	20	↗ 2,98	↗ 1,95	↗ 5,68
Pb	Réf	⇒ 1,00	⇒ 1,00	⇒ 1,00
	250	↗ 1,34	↗ 1,38	↘ 0,58
	500	↗ 1,68	↗ 1,38	↘ 0,61
	1000	↘ 0,40	↗ 13,81	↘ 0,71
	2000	↘ 0,40	↗ 3,67	↘ 0,34
Cd-Pb	Réf	⇒ 1,00	⇒ 1,00	⇒ 1,00
	SoI OCDE	↗ 2,10	↗ 1,62	↘ 0,31
	Cd5-Pb250	↗ 1,90	↗ 1,27	↘ 0,19
	Cd5-Pb500	↗ 1,26	↗ 1,78	↘ 0,47
	Cd5-Pb1000	↘ 0,27	↘ 0,06	↘ 0,42
	Réf	⇒ 1,00	⇒ 1,00	↘ 0,31
	Cd10-Pb250	↗ 1,62	↗ 1,57	↘ 0,31
	Cd10-Pb500	↗ 1,23	↘ 0,54	↘ 0,31
Cd10-Pb1000	⇒ 1,02	⇒ 0,90	↘ 0,31	

Légende:
 ↗ Induction
 ↘ Légère induction
 ⇒ Stable
 ↘ Légère répression
 ↘ Répression

Une publication sur ces résultats est en préparation. Ces résultats seront notamment discutés sur la base des résultats obtenus en termes d'activités APOX et GPOX mais aussi en fonction des résultats des tests des comètes.

B) ÉVALUATION ET GESTION DES RISQUES DES SITES ET SOLS POLLUÉS



Cette partie est composée de 2 thématiques portant sur :

- 1) les évaluations des risques pour les écosystèmes (ERE) et notamment :
 - l'étude comparative des méthodologies internationales d'évaluation des risques pour les écosystèmes (rapport scientifique publié en ligne, 2006) ;
 - la proposition d'outils de standardisation de la définition du périmètre d'étude et des témoins à inclure dans les ERE (rapport scientifique publié en ligne, 2013) ;
 - l'apport de l'écologie de terrain en ERE (basée sur la thèse d'A. Hayet, 2010)
 - la variabilité méthodologique et ses conséquences sur le calculs et la caractérisation des risques pour les écosystèmes (Hayet, *et al.*, 2009).
- 2) le phytomanagement,
Les travaux de recherche menés concernent les phytotechnologies de revégétalisation (Deram *et al.*, 2000), phytoextraction aidée (Anderson *et al.*, 2001), phytomining (Leblanc *et al.*, 1999) et phytostabilisation dans le cadre de la production de bois-énergie (Evangelou *et al.*, 2012) ou de biomasse-énergie (Hayet *et al.*, acceptée 2013).

1) L'ÉVALUATION DES RISQUES POUR LES ÉCOSYSTÈMES

Ces études sont effectuées dans le cadre d'un financement de l'ADEME et de RECORD (REseau COopératif de Recherche sur les Déchets, association regroupant MEDDE, ADEME et industriels – Total, Renault, Solvay, UDS, Véolia et EDF, notamment).

Elles ont pris place au laboratoire TESERIS de la Faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS), EA 4483, Université de Lille 2.

Pour mémoire, l'E.R.E. se définit comme étant un procédé scientifique flexible et général qui organise et analyse les données toxicologiques et écologiques, les hypothèses et les incertitudes. L'ERE a pour but d'évaluer la probabilité d'apparitions d'effets écologiques néfastes au niveau des populations, des communautés d'espèces ou des écosystèmes (Noss, 2000; Solomon, 2002; Suter *et al.*, 2003; Munns, 2006; Hope, 2006).

Le calcul du risque est un calcul numérique de probabilité qui est fonction de la nature de la perturbation (appelée « danger »), des transferts et de la migration de ces dangers (appelés « vecteur ») et des organismes et/ou zones impactées (appelés « enjeux »). Dans le cadre des études présentées dans cette partie, les dangers sont principalement les **ETM** (quelques expérimentations ont été menées sur des hydrocarbures également), les transferts sont le plus souvent des **transferts sol/plantes** se basant sur les travaux de recherche concernant la **bioaccumulation** (une étude en milieu aquatique a également été conduite) et les cibles sont des **écosystèmes**, le plus souvent des plantations artificielles en milieux dégradés.

Étude comparative des méthodes d'évaluation des risques pour les écosystèmes - état de l'art et application au contexte français-

Depuis l'instauration de la politique de gestion des risques liés aux sites et sols pollués en France, les autorités préconisent la réalisation d'évaluation des risques. Néanmoins, en France, l'évaluation des risques pour les écosystèmes (ERE) souffre d'un manque méthodologique qui rend son application relativement difficile. Or, à l'échelle internationale, plusieurs méthodes existent.

Dans cette étude comparative, 9 méthodologies d'évaluation des risques pour les écosystèmes ont été analysées de manière à i) valider leur applicabilité au contexte européen ii) évaluer la possibilité d'appliquer ou de générer une méthode européenne harmonisée.

En premier lieu, les méthodologies étudiées ont pu être classées en fonction de leur domaine d'application. Trois grands domaines d'application ont été distingués et définis principalement selon la nature de la source de perturbation (chimique, physique et/ou biologique) et l'objectif de l'évaluation (mise en dépôt d'un déchet ou d'un sédiment, réhabilitation d'une friche industrielle, etc.).

Ainsi, lorsque la source est une substance telle qu'un produit chimique destiné à la commercialisation, l'approche développée est dite « **substance** », car seuls les effets de la substance considérée individuellement sont étudiés. Les méthodologies d'approche par substance sont :

- « Évaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques », Comité d'études de la toxicité de produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture (INRA, 2004) ;
- « Technical guidance document on risk assessment », European Chemicals Bureau.

Lorsque la source est une matrice telle qu'un sédiment ou un déchet, l'approche développée est dite « **matrice** », car ce sont les effets de la matrice sur l'entité cible qui sont intégrés pour l'estimation du risque écologique. Les méthodologies d'approche par matrice sont :

- « Évaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage » (CETMEF, 2001) ;
- « Évaluation de l'écocompatibilité de scénarios de stockage et de valorisation des déchets » (ADEME, 2002) ;
- « Caractérisation biologique des sédiments » (TRIADE, 2001).

Lorsque la source correspond à un milieu, comme par exemple une friche industrielle, l'approche développée est dite « **milieu** », car ce sont les effets de plusieurs agents de stress existant dans le milieu étudié qui sont intégrés pour l'estimation du risque.

Les méthodologies d'approche « milieu » sont :

- « Guidelines on ERA » (US EPA, 1998) ;
- « Guideline on ERA » (United-Kingdom, 2003) ;
- « Guideline on ERA » (National Environment Protection, Australia NEPC, 2003) ;
- « Procédure d'évaluation écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés » (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec - CEAEQ, 1998).

Leur objectif principal est d'évaluer le risque écologique d'un milieu dans lequel plusieurs agents de stress, plusieurs vecteurs et plusieurs cibles sont impliqués. Ces méthodologies, étant basées sur l'évaluation des risques écologiques *sensus stricto*, prenant en compte l'écosystème dans sa globalité, ont été testées préférentiellement dans les études suivantes.

Outre cette différence majeure en matière de domaine d'application, des différences dans la **structuration des méthodologies** ont été remarquées : méthodologie par étapes, méthodologie progressive et méthodologie semi-itérative. De la même façon, des sources de variabilités, notamment en lien avec un **manque de standardisation des outils** (comme par exemple, l'absence de bases de données de caractérisation des espèces sensibles d'une région donnée, le manque d'aide dans les décisions de définition du périmètre d'étude ou du témoin) ont été soulignées.

Les conclusions de ce travail ont également souligné quelques **points non résolus** nécessitant d'être renseignés par des travaux de recherche. Ces points émanent principalement de la difficulté à prendre en compte la complexité des écosystèmes (différents niveaux d'organisation en interaction entre eux et avec le biotope).

In fine, l'étude comparative conclut que, bien que l'établissement d'une méthodologie harmonisée semble possible, il ne peut être exclu que les différences et/variabilité des méthodologies étudiées **engendrent des calculs de risques différents**.

L'ensemble de cette étude a été publié et mis en ligne pour RECORD. (Deram, et al., 2006).



Figure 14 : sites étudiés et problématiques attenantes

Sur la base de cette analyse bibliographique, nos travaux de recherche (dans le cadre de la thèse d'Audrey Hayet) sont dirigés vers trois problématiques principales :

- la caractérisation du périmètre d'étude ;
- la définition d'une zone témoin pour ces études ;
- l'utilisation d'indices écologiques afin de caractériser l'écosystème faisant l'objet d'une ERE et ainsi d'augmenter la prise en considération de la cible (optimisation de la représentativité et de la spécificité) lors de ces études.

Ces études ont été menées sur la base d'expérimentation et d'investigations de terrain réalisée sur 3 sites (Figure 14) présentant les problématiques suivantes :

- un site en Région Nord-Pas de Calais (site A) présentant une contamination par les ETM ;
- un site en Région Nord-Pas de Calais (site B) présentant une pollution résiduelle aux ETM et aux hydrocarbures ;
- un site situé en Lorraine (Site C) présentant une contamination de l'écosystème aquatique.

Pour des raisons de confidentialité, la localisation des sites et leur description ne peuvent être décrites à ce jour.

Les résultats obtenus sont détaillés ci-après.

Définition du périmètre d'étude de l'évaluation des risques pour les écosystèmes

Dans les études d'évaluation des risques pour la santé, le périmètre d'étude correspond généralement à la zone d'influence (ZI) des polluants. ZI est déterminée sur la base des propriétés physico-chimiques des polluants et de leur comportement au sein des différents compartiments environnementaux (sol, eau, atmosphère) et dans la chaîne alimentaire.

En ERE, cela s'avère parfois inapproprié, notamment quand la pollution n'est pas diffuse et eu égard aux interactions entre espèces, intrinsèques aux écosystèmes. Il est donc nécessaire i) d'identifier les périmètres d'études en ERE et ii) dans un souci de standardisation, de proposer un outil d'aide à la définition de ce périmètre. Les principaux résultats de cette étude sont présentés ci-après.

Concrètement, les questions pouvant être posées sont : le périmètre doit-il correspondre (1) aux limites administratives du site étudié, (2) aux limites de l'écosystème étudié (s'il existe), (3) aux limites de l'écosystème étudié et des écosystèmes adjacents ou (4) à la zone d'influence définie par la zone contaminée ? En effet, les écosystèmes sont la base d'interactions entre les espèces et leurs milieux mais également entre les espèces elles-mêmes. Ainsi, la disparition d'une espèce peut influencer sur la survie des autres espèces de la communauté. De la même manière, les écosystèmes interagissent avec les écosystèmes adjacents. Par conséquent, l'influence des polluants sur l'écosystème étudié nécessite la prise en compte des interactions avec les écosystèmes adjacents.

En prenant en compte ces considérations, on remarque que le périmètre de l'ERE est un paramètre aussi difficile qu'essentiel à définir. C'est pourquoi un diagramme d'aide à la détermination du périmètre de l'ERE a été élaboré (Figure 15).

Trois variables influençant la détermination du périmètre d'étude ont été identifiées. Il s'agit de :

- la présence d'un écosystème sur le site (dans les limites administratives du site) ;
- les liens entre l'écosystème du site et les écosystèmes adjacents ;
- les transferts de polluants en dehors des limites administratives du site.

La relation entre ces trois critères permet d'identifier huit situations. Selon ces huit situations, le périmètre le mieux approprié a été déterminé.

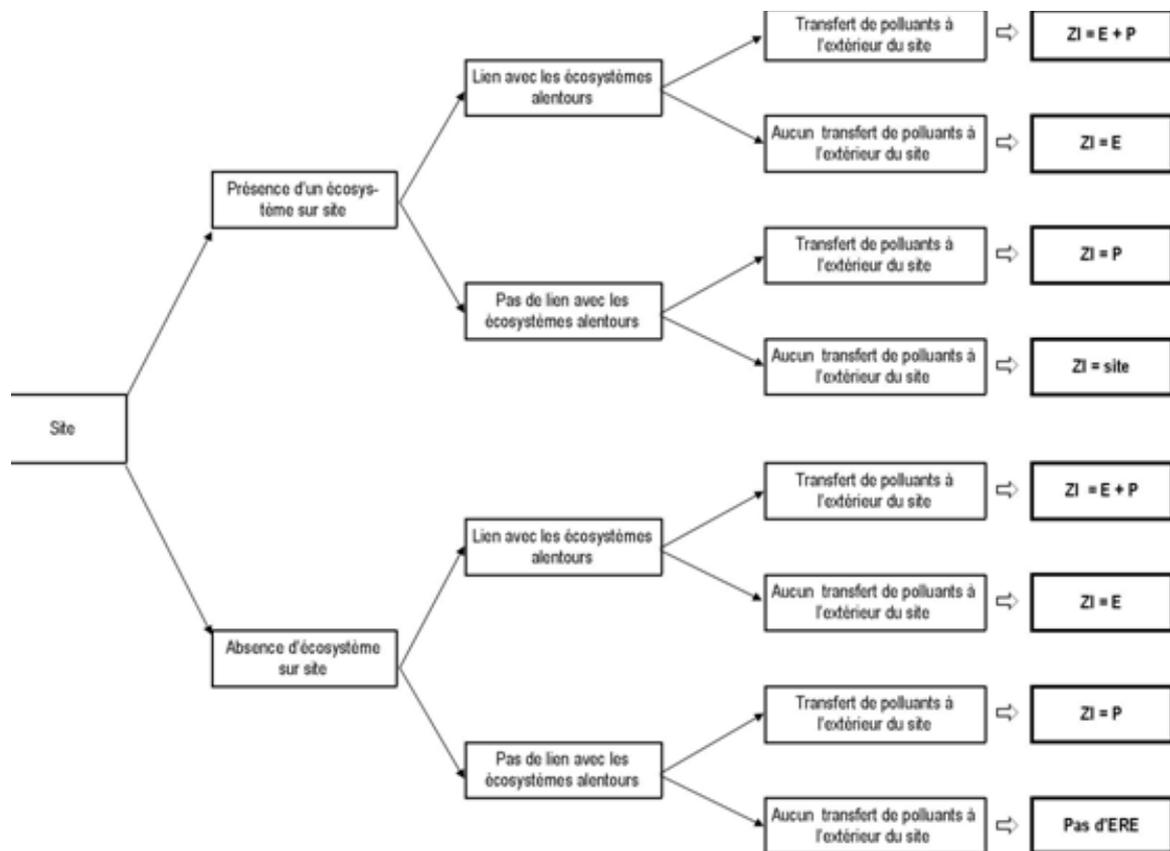


Figure 15 : diagramme d'aide à la détermination du périmètre de l'évaluation des risques pour les écosystèmes. ZI : zone d'influence ; E : écosystème ; P : zone de la pollution

Le périmètre correspond à la zone d'influence définie par l'écosystème ($ZI = E$) lorsque :

- l'écosystème sur le site est en relation avec les écosystèmes adjacents et lorsqu'il n'y a pas de transfert de polluants vers l'extérieur du site ;
- il existe un écosystème à proximité du site et lorsqu'il n'y a pas de transfert de polluants vers l'extérieur du site.

Le périmètre correspond à la zone d'influence définie par les polluants ($ZI = P$) lorsque :

- l'écosystème présent sur le site n'est pas en relation avec le(s) écosystème(s) localisé(s) à proximité et lorsqu'il y a un transfert de polluants vers l'extérieur du site ;
- aucun écosystème n'est observé ni sur le site ni à proximité et lorsqu'il y a un transfert de polluants vers l'extérieur du site.

Le périmètre correspond à la zone d'influence définie par les polluants et l'écosystème ($ZI = E + P$) lorsque :

- l'écosystème présent sur le site est en relation avec le(s) écosystème(s) localisé(s) à proximité et lorsqu'il y a un transfert de polluants vers l'extérieur du site ;
- il existe un écosystème à proximité du site et lorsqu'il y a un transfert de polluants vers l'extérieur du site.

Le périmètre de l'ERE correspond aux limites administratives du site lorsque l'écosystème présent sur le site n'est pas en relation avec les écosystèmes proches et lorsqu'il n'y a pas de transfert de polluants vers l'extérieur du site.

Lorsqu'aucun écosystème ne peut être identifié ni sur le site ni à proximité et lorsqu'il n'y a pas de transfert de pollution vers l'extérieur du site, alors il n'est pas nécessaire de réaliser une ERE.

Définition des témoins de l'évaluation des risques pour les écosystèmes

Parallèlement à la définition du périmètre d'étude, il s'avérera nécessaire i) de définir, ii) de juger des réponses apportées et iii) d'identifier les phases de l'ERE dans lesquelles les témoins doivent être intégrés.

Lorsqu'un site témoin non contaminé est intégré dans le dispositif expérimental, l'objectif est de mesurer le risque qu'encourt un écosystème à la suite d'une exposition ou d'une perturbation qu'il est nécessaire de qualifier et de quantifier. Dans ce cadre, le témoin est un **témoin négatif**, il sert à caractériser le bruit de fond et met en exergue, par comparaison, les influences de cette contamination (station amont/station aval pour un cours d'eau). Dans certains cas, il est néanmoins, difficile d'identifier ce témoin négatif sur site, c'est-à-dire, identique à tout point de vue au site contaminé, sans la présence des agents de stress. Pour pallier cela, la méthodologie ERA UK considère également :

- des témoins artificiels qui correspondent à un système créé, comportant plusieurs espèces et ayant pour but de représenter l'écosystème naturel. Dans les études écotoxicologiques, il s'agit de microcosme ou mésocosme selon la taille. Ils sont utilisés parallèlement pour (1) constituer une représentation de l'écosystème étudié sans contamination et pour (2) étudier, en conditions artificielles, les effets des contaminants sur les écosystèmes ;
- et des témoins potentiels déterminés à l'aide de données bibliographiques. Il est tout à fait possible de déterminer les espèces susceptibles de vivre dans les conditions définies par les données physiques du site telles que les données géologiques, phytosociologiques et climatiques.

La nature du témoin peut également être différente. En effet, un témoin en ERE n'est pas toujours un témoin non pollué. Il peut être un témoin contaminé, préférentiellement appelé **réfèrent**. Ce réfèrent permet de comparer les indices de risque induit par plusieurs situations (mode de gestion différent) ou écosystèmes ce qui n'est pas, par définition, possible avec un témoin non contaminé dont l'indice de risque serait le plus proche possible de zéro. Ce **réfèrent « indice de risque »** est donc préférentiellement un témoin utile pour la gestion de sites contaminés. S'il est unique, il peut être considéré comme un témoin positif. Plusieurs sites peuvent aussi être considérés de manière à former un gradient de contamination (témoin gradient).

Néanmoins, la plupart du temps, dans les ERE, un témoin non contaminé est considéré. Un **témoin temporel** aide à la compréhension de la dynamique évolutive de l'écosystème étudié. Ainsi, il intervient lors de la phase de caractérisation des écosystèmes (Figure 16), ce qui à terme contribue à mieux caractériser le risque.

Le **témoin spatial** (témoin non pollué au sens strict) n'est pas utile au calcul de risque mais à la caractérisation du risque.

- il permet de valider les hypothèses d'atteinte de l'écosystème par les agents de stress ;
- il exprime les potentialités du site contaminé ;
- et il traduit le calcul de risque en conséquence à court terme (UK : atteintes écologiques constatées) ou à plus long terme (US EPA & CEAQ : probabilité d'apparition d'effets néfastes).

En d'autres termes, il contribue à augmenter la significativité du calcul de risque. Cela sous-entend que ce témoin soit caractérisé par des inventaires de terrain en évitant le recours à un témoin potentiel. Aussi, l'importance de ce témoin dans la caractérisation des risques est corrélée à l'effort d'investigation qui permettra d'établir un faisceau de preuves concernant l'atteinte à l'écosystème par les agents de stress. Ce type de réfèrent peut être localisé à l'extérieur des limites administratives du site étudié et par conséquent nommé « le réfèrent extra-site ». Il peut également être localisé à l'intérieur des limites administratives du site étudié et par conséquent être nommé « le réfèrent intra-site ».

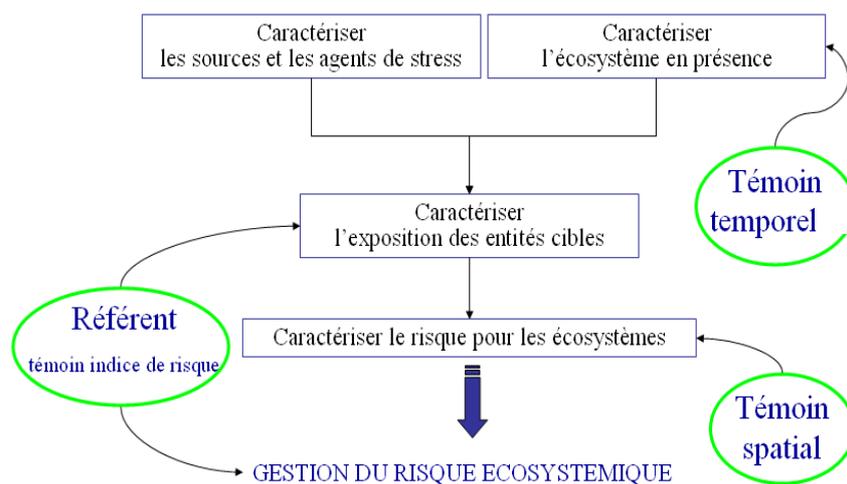


Figure 16 : intégration du témoin en fonction de sa nature dans l'ERE

L'ensemble de cette étude va être publié et mis en ligne pour RECORD (Hayet et Deram., 2013).

Tableau 4 : périodes et brèves descriptions des méthodes d'investigations appliquées dans l'étude

Surveys (periods)	Methodologies
Floristic April-May 2008 and September-October 2007 and 2008	Sampling strategy and description of the vascular plants based on the principle of analytical phytosociology. A coefficient of abundance-dominance, defined by Braun-Blanquet, is assigned to each species. This coefficient corresponds to the abundance of plant and its importance.
Bryophytes September-October 2007 and 2008	All supports that can accommodate the mosses and liverworts (soil, trees, mineral substrate) were inspected systematically.
Fungi June-July 2008 and September-October 2007 and 2008	These two seasons correspond to the period of fruiting fungi and are most suitable to their observation.
Lepidoptera Rhopalocera April-May 2007	Non Invasive method using a butterfly net.
Ladybugs April-May 2008	Hunt by turning over leaves, sifting through leaf litter and looking in crevices in bark and using a butterfly net provides semi-quantitative indications on the density of populations of ladybugs.
Odonata and Orthoptera June-July 2008	Non Invasive method (hunting with butterfly net)
Soil macrofauna April-May 2008	Collaborating with Dr. Ruiz-Camacho from IRD of Bondy (France) using the method TSBF (Tropical Soil Biology and Fertility) currently being standardized (ISO 23611-5)
Avifauna April-July 2007	The survey was conducted through a single point sampling (EPS) based on STOC protocol (temporal monitoring of common birds) develop by the Research Center on the Biology of Bird Populations (CRBPO, France)
Breeding avifauna April-July 2008	Method of punctual abundance index (IPA) that identifies precisely the "spot" occupied by a species in an ecosystem.
Mammal April-July 2008	Method of capture, mark, recapture called CMR inspired by Guedon <i>et al.</i> and Barrière and Nicolas. Traces and prints were also observed.

Apport de l'écologie à l'évaluation des risques pour les écosystèmes

L'étude comparative (RECORD, 2005) conclut à la nécessité d'intégrer une phase de caractérisation écologique à part entière dans les méthodologies d'ERE. Dans le cadre de la thèse d'A. Hayet (2010), l'intérêt de cette proposition a été testé.

Sur les 3 sites d'études, des inventaires de terrain ont été menés comme résumé dans le tableau 4 et l'illustration 6.

L'ensemble de ces inventaires constitue une base de données écologiques spécifique à chaque site étudié. Ces bases de données permettent de tester l'utilisation de 14 indices de biodiversité dont 4 indices de richesse spécifique (effectif, densité, indices de Margalef et de Menhinick), 6 indices d'abondance (indice de diversité de Shannon, indice de Simpson et sa réciproque, indice de Hill, indice de Berger-Parker, indice de McIntosh), 2 indices d'équitabilité (indice d'équitabilité de Shannon, indice d'équitabilité de Simpson) et 2 indices de similitudes (indice de Jacquard, indice de Sorenson).

Les principales conclusions de cette étude soulignent la **contribution des indicateurs biocénétiques à l'ERE**. En effet, notre étude démontre que les indicateurs écologiques en ERE permettent :

- d'intégrer le fonctionnement et la structuration de l'écosystème en lui-même dans l'analyse des résultats et ainsi de distinguer l'action des agents de stress de celle de l'évolution de l'écosystème (évolution temporelle naturelle) ;
- d'intégrer des données issues de la caractérisation de l'écosystème pour faciliter l'identification des principales interactions existantes au sein de l'écosystème (amélioration du schéma conceptuel) et ainsi compléter la caractérisation de l'exposition indirecte (chaîne alimentaire) ;
- d'augmenter la spécificité de l'évaluation des risques en l'adaptant au site d'étude ;
- de prendre en considération la tolérance des espèces vis-à-vis des agents de stress (dans une espèce donnée, des populations différentes peuvent tolérer différemment les polluants en présence) ;
- de sélectionner les espèces cibles des ERE :
 - en fonction des objectifs de gestion (projet immobilier, réhabilitation écologique, etc.) ;
 - afin de tester les espèces les plus représentatives des conditions de terrain ;
 - et de servir à la compréhension et à la validation de certains résultats de l'ERE, notamment ceux des tests biologiques et écotoxicologiques.
- d'estimer les potentialités de la biocénose et de permettre l'identification des espèces ayant éventuellement disparues et/ou n'ayant pas pu s'implanter au niveau du site étudié (ex. : apport de la phytosociologie). Cette démarche peut également orienter le choix de mesures de gestion en faveur d'une amélioration du potentiel écologique du site d'étude ;
- de prendre en considération différents niveaux d'organisation de l'écosystème (ordre, classe, communauté) alors que l'ERE évalue essentiellement le risque à l'échelle de l'espèce.

La complémentarité des études écologiques de terrain et de l'ERE se justifie également par le fait que les inventaires écologiques effectués permettent de constituer un référent temporel dans l'histoire d'un site contaminé.

A contrario, l'emploi de données écologiques de terrain peut, dans certains cas, présenter certaines limites d'application en ERE. En effet, dans le cadre d'une ERE menée sur un site en fin d'activité, il est possible que les espèces les plus sensibles ne soient déjà plus présentes dans l'écosystème (évitement ou mortalité). Dans ce cas, le choix d'entités cibles basées sur les inventaires de terrain peut écarter de l'ERE des espèces atteintes par la contamination. Cette observation souligne l'importance d'un site de référence en ERE.

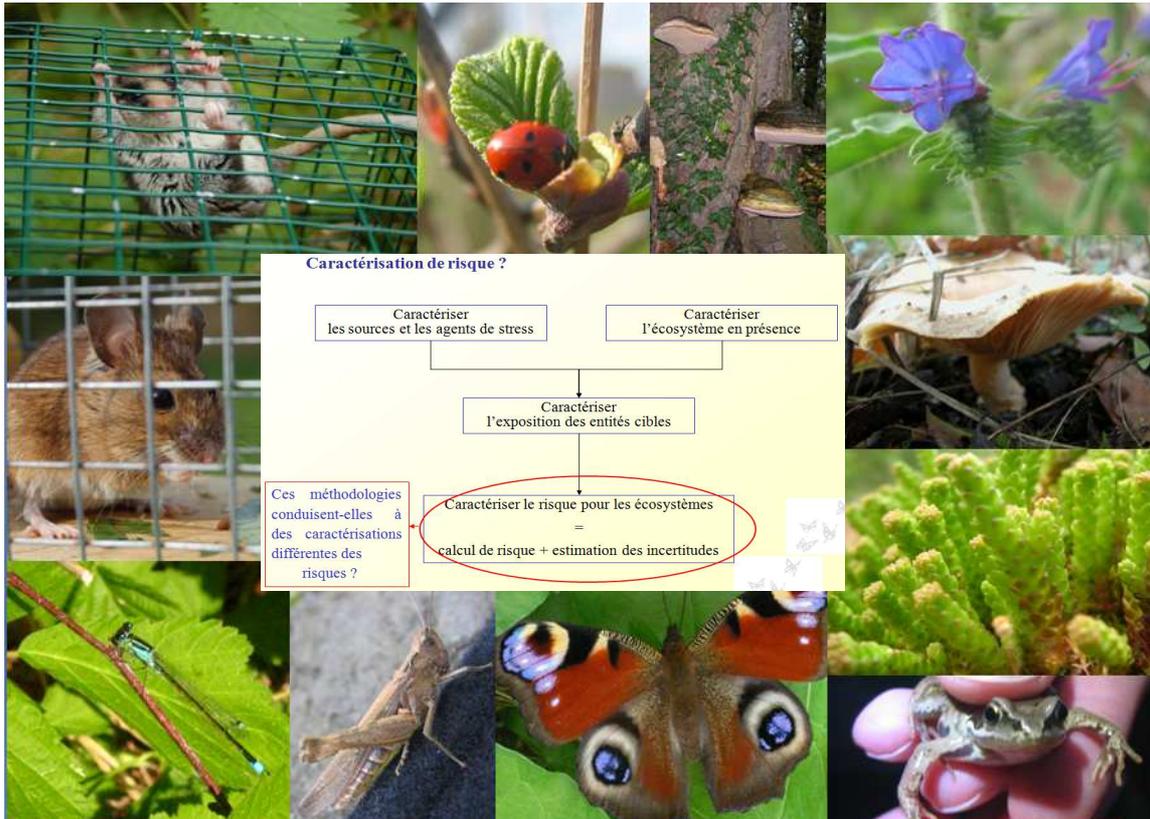


Illustration 6 : illustration des inventaires de terrain réalisés et schématisation simplifiée du phasage de l'ERE

Cette mise en application des méthodologies d'ERE type « milieu » sur des mêmes sites a permis de valider le fait que les variabilités méthodologiques révélées théoriquement lors de l'étude comparative conduisent à des variabilités méthodologiques, numériques (différences de calcul de risques) et aussi en termes d'entités à risque de l'écosystème (résultats de l'ERE).

Variabilité méthodologique de l'évaluation des risques en fonction de la méthodologie suivie

Sont résumés ci-après, de manière à mettre en évidence les principales sources de variabilités méthodologiques, les caractéristiques des méthodologies d'évaluations des risques pour les écosystèmes de l'approche milieu.

Les grandes lignes résumant les spécificités de la méthodologie du Royaume-Uni (A)

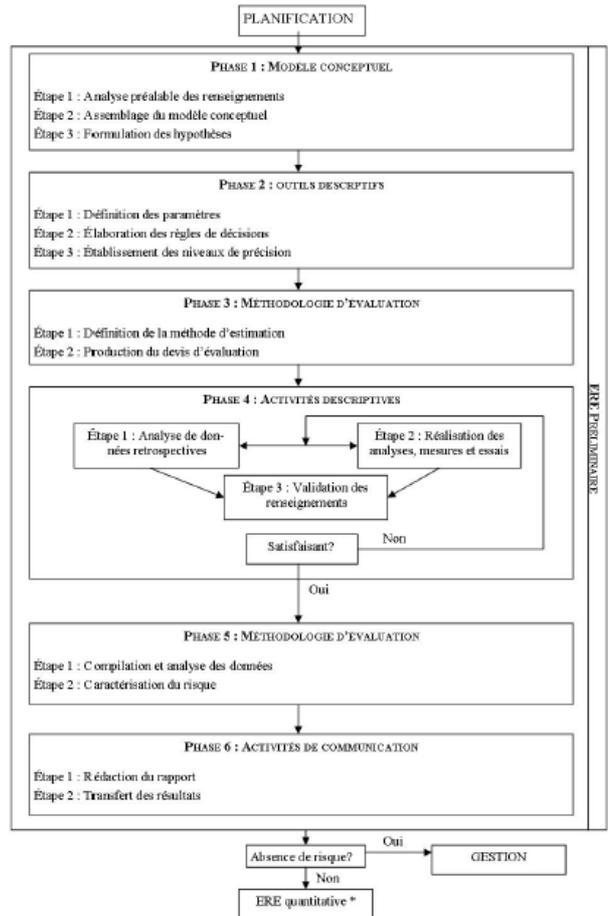
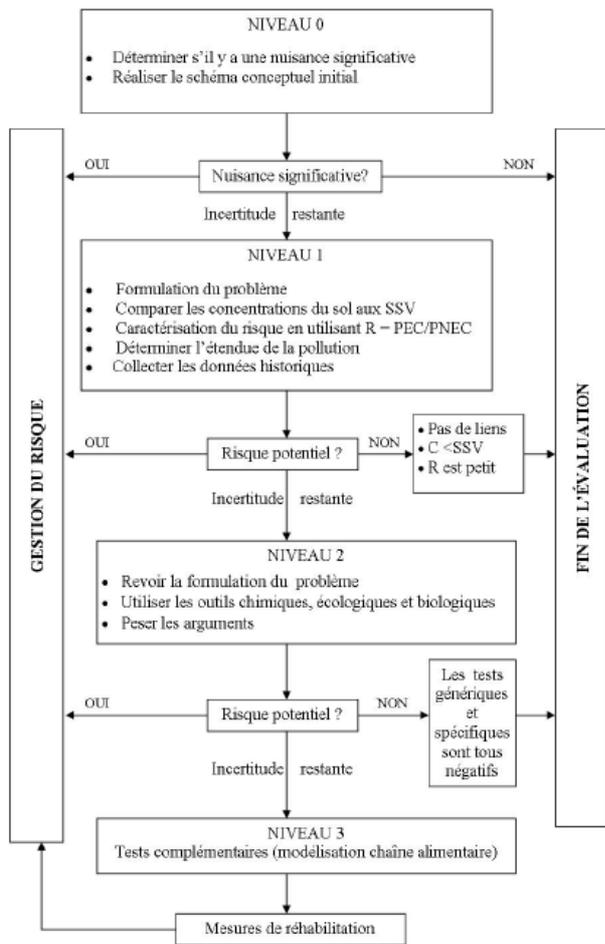
- méthode efficace et accessible ;
- peut être très mal utilisée, le poids de l'évaluateur est primordial et les résultats obtenus sont très corrélés à l'effort de recherche ;
- approche par niveau, qui permet une sortie d'étude si nécessaire ;
- domaine d'application très restreint ;
- calcul de risque sans prise en compte de l'exposition ;
- calcul de risque dès les premiers niveaux de l'ERE ;
- deux étapes servent à caractériser le risque en liant les calculs de risque avec les impacts attendus ou observés ;
- utilisation d'un témoin non contaminé nécessaire et pas d'utilisation d'un référent possible ;
- la décision finale est prise sur la base des indices de risque mais aussi des inventaires de terrain et des tests écotoxicologiques (ces résultats sont mieux exploités que dans les autres méthodologies).

Les grandes lignes résumant les spécificités de la méthodologie du CEAEQ (B)

- guide pour une première utilisation car assez directif et rassurant. *A contrario*, assez contraignant et redondant pour un évaluateur plus aguerri ;
- structure permettant une ERE quantitative (avec intégration des expositions dans le calcul de risque), après une ERE préliminaire de screening ;
- méthodologie qui s'attache à résoudre la problématique actuelle la plus importante de l'ERE : sa fiabilité (méthode de poids des évidences et les outils mis en place y compris le guide en voie de rédaction sur les VTR), en conduisant à la réduction des incertitudes ;
- de nombreux outils sont proposés et permettent d'obtenir un minimum de résultats :
 - aide aux choix des espèces ;
 - fiches espèces ;
 - tableau des erreurs ;
 - tableau qualité ;
 - tableau des sources documentaires.

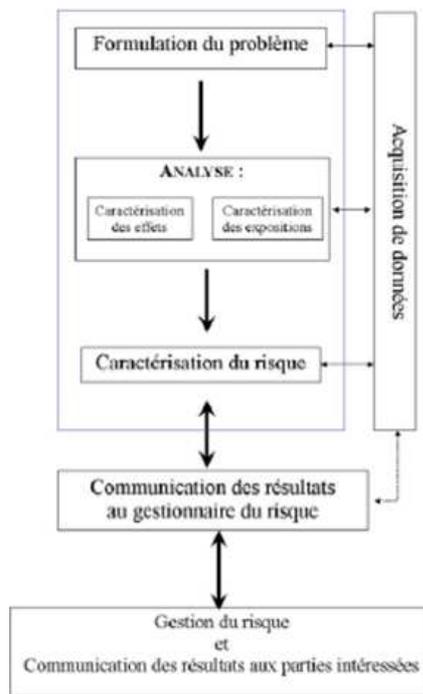
Les grandes lignes résumant les spécificités de la méthodologie de l'US EPA (C)

- vaste domaine d'application, facilement adaptable à différentes situations ;
- méthode itérative, à mener de part en part ;
- phase de caractérisation des expositions et des entités cibles très complète ;
- calcul de risque intégrant les variations d'exposition, notamment la variabilité spatio-temporelle ;
- la finalité de la méthodologie est le calcul de risque.



A

B



C

Figure 17 : schématisation des méthodologies du Royaume-Uni (A), du CEAEQ (B) et de l'US EPA (C)

La figure 17 regroupe la schématisation des méthodologies étudiées. Cette figure illustre les différences méthodologiques et souligne les éléments suivants :

la **méthodologie du Royaume-Uni** propose un calcul de risque très rapidement après le début de l'étude. Il permet de statuer sur l'arrêt possible ou non de l'étude et sur les agents de stress à conserver. La phase suivante caractérise les écosystèmes des sites étudiés (sites pollués et témoin). Connaissant les agents de stress avérés, l'évaluateur cherche à mettre leurs effets en évidence par le biais des études écologiques. La dernière phase, constituée d'expérimentations (tests écotoxicologiques, notamment), de démonstration statistiques et d'argumentaires bibliographiques, sert à établir et à valider le lien entre les atteintes à l'écosystème observées et les agents de stress identifiés. Dans cette phase, le rôle du témoin est essentiel ;

la **méthodologie du CEAEQ** est un hybride des deux autres méthodologies avec une phase préliminaire basée sur un calcul de risque de « screening », la possibilité d'un arrêt de l'ERE si les indices de risques sont inférieurs à 1 comme pour la méthodologie du Royaume-Uni. Dans le cas contraire, une ERE quantitative est menée sur le modèle de l'US EPA. Notons toutefois, l'importance spécifique que donne cette méthode à la considération des incertitudes ;

la **méthodologie US EPA** est divisée en 4 phases consécutives se nourrissant tout au long de l'étude ce qui ne permet pas d'arrêter l'ERE après le début de la démarche. Ces 4 phases sont très similaires à celles réalisées lors des évaluations des risques sanitaires.

In fine, les différences principales entre les méthodologies étudiées sont :

- les domaines d'application (Tableau 5) ;
- la structure de la méthode : itérative (US EPA), progressive (CEAEQ), de screening (UK) ;
- l'intégration ou non de l'exposition dans le calcul de risque ;
- la caractérisation de l'écosystème *a priori* ou *a posteriori* du calcul de risque ;
- la prise en compte des incertitudes ;
- les liens entre évaluateurs et gestionnaires.

Tableau 5 : domaine d'application de l'ERE en fonction de la méthodologie suivie (Hayet et al., 2009)

Méthode	Situations justifiant la réalisation d'une ERE
NEPC Australie	<ul style="list-style-type: none"> → Identification de zones significativement polluées → Impacts néfastes potentiels sur l'environnement supposés par l'usage ou l'historique du site → Espèces ou habitats rares ou en danger pouvant être touchés → Manque de données inacceptable, conditions d'exposition incertaines, haut niveau d'incertitudes concernant certaines données toxicologiques, manque significatif d'information sur les récepteurs écologiques
US EPA	<ul style="list-style-type: none"> → Entrée dans l'environnement de stressors potentiels ou avérés → Observation d'effets néfastes ou d'un changement des conditions écologiques → Volonté de mieux gérer les entités ou valeurs écologiques
EA UK	<ul style="list-style-type: none"> → Le site investigué répond aux critères réglementaires fixés par la partie II de l'acte de protection de l'environnement^a
CEAEQ	<ul style="list-style-type: none"> → Protection de la diversité biologique^b → Alternative aux critères génériques^c → Application des critères génériques impossible^d → Besoin de comparer ou d'établir des priorités

Ces travaux de recherches ont fait l'objet d'une publication dans *Environnement, Risques et Santé* (Hayet, 2009).

A la suite de cette étude, nous avons testé si ces variabilités méthodologiques se traduisaient au niveau du calcul de risque et *in fine* sur la caractérisation du risque pour les écosystèmes.

Variabilité numérique ?

UK									CEAEQ & US EPA						
Station	Pb	Zn	Cd	As	Cu	Cr	Hg	Ni	Pb	Zn	Cd	Hg	Cu	As	Ni
Herbivores															
<i>Perdix perdix</i>	1,89	1,12	2,70					0,20	0,047	0,022					
<i>Phasianus colchicus</i>	1,67	1,00	2,42					0,15	0,041	0,016					
<i>Columba palumbus</i>	5,21	3,14	7,54					0,48	0,127	0,050					
<i>Microtus agrestis</i>	11,21	11,70	55,75					1,57	14,000	2,998					
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	0,11	0,09	0,37					0,02	0,199	0,041					
Omnivores															
<i>Turdus phomelos</i>	0,25	0,07	0,09					0,02	1,05E ⁻⁰³	3,68E ⁻⁰⁴					
<i>Erithacus rubecula</i>	0,91	0,26	0,34					0,06	3,82E ⁻⁰³	1,35E ⁻⁰³					
<i>Troglodytes troglodytes</i>	4,63	1,3	1,71					0,29	1,93E ⁻⁰²	6,74E ⁻⁰³					
<i>Anthus trivialis</i>	3,68	1,03	1,36					0,23	1,53E ⁻⁰²	5,35E ⁻⁰³					
<i>Cuculus canorus</i>	1,83	0,51	0,68					0,11	7,63E ⁻⁰³	2,66E ⁻⁰³					
<i>Fringilla coelebs</i>	0,1	0,03	0,04					0,01	5,18E ⁻⁰⁴	3,93E ⁻⁰⁴					
<i>Luscinia megarhynchos</i>	1,53	0,43	0,56					0,1	6,38E ⁻⁰³	2,27E ⁻⁰³					
<i>Apodemus sylvaticus</i>	0,19	0,18	0,75					0,02	4,77E ⁻⁰³	3,16E ⁻⁰⁴					
<i>Erinaceus europaeus</i>	0,04	0,03	0,08					0,01	9,88E ⁻⁰⁴	6,32E ⁻⁰⁴					
<i>Taipa taipa</i>	0,63	0,44	1,27					0,08	1,62E ⁻⁰²	1,04E ⁻⁰²					
<i>Clethrionomys glareolus</i>	0,07	0,1	0,51					0,01	9,48E ⁻⁰³	7,39E ⁻⁰³					
Prédateurs															
<i>Vulpes vulpes</i>	1,76E ⁻⁰⁴	7,25E ⁻⁰⁵	4,69E ⁻⁰⁴					1,97E ⁻⁰¹	1,35E ⁻⁰¹	7,67E ⁻⁰⁶					
<i>Strix aluco</i>	2,30E ⁻⁰³	3,74E ⁻⁰⁴	8,00E ⁻⁰¹					4,04E ⁻⁰¹	3,81E ⁻⁰¹	1,12E ⁻⁰⁶					

Quotient de risque par agent de stress et par station

Risque global

Exposition : DJE

Variabilité des résultats ?

UK	CEAEQ & US EPA
Conclusions	Conclusions
Agent de stress : Cd, Pb, Zn - As, Hg, Ni	Agents de stress : Pb, Cd, Zn - Cu, As, Hg
Atteintes écologiques avérées :	Entités cibles encourant un risque
Macrofaune du sol et champignons	Flore
Végétaux : accumulant mais tolérants	Oiseaux herbivores
Autres groupes : influencés par autres facteurs	2 oiseaux omnivores
	Campagnol agreste
	Taupa
Atteintes écologiques constatées	Cible = oiseaux
Validation par un témoin	Fiabilité
Critères de causalité de Hill	Prospectif

Figure 18 : illustrations des différences de calculs de risques et de caractérisation du risque pour les écosystèmes en fonction des méthodologies employées

Variabilité numérique de l'évaluation des risques en fonction de la méthodologie suivie : implication sur les conclusions de l'ERE

Au cours de cette étude, 2 types de calculs de risque ont été faits :

- dans les méthodologies de l'ERA UK et dans la PERE (ERE préliminaire) du CEAEQ, le calcul de risque consiste en un ratio des teneurs dans les milieux pollués sur une VTR qui peut être définie spécifiquement pour les ERE (comme les Soil Screening Values, ERA UK), ou non (Fond pédo-géochimique pour le PERE). Ces calculs n'incluent pas l'exposition des espèces et sont variables en fonction des VTR considérées ;
- dans les méthodologies de l'US EPA et dans la QERE (ERE quantitative) du CEAEQ, le calcul de risque est basé sur un ratio entre la DJE et les VTR. Concernant les DJE, les méthodologies étudiées ne proposent pas de formule de calcul. Celle-ci doit donc être construite par l'évaluateur.

Dans le cadre de la présente étude, le mode de calcul des DJE a toujours suivi la même formule intégrant le niveau et le temps d'exposition. Le niveau d'exposition a essentiellement été défini sur la base du régime alimentaire et de la contamination des aliments. Le temps d'exposition a été basé sur la durée et la fréquence d'exposition en le pondérant en fonction de la mobilité des espèces. Concernant les VTR, une base de données les regroupant a été constituée. Peu de VTR existent, ce qui entraîne l'abandon de nombreuses substances lors du calcul de risque.

Les résultats obtenus sont de nature très différente (Figure 18).

Pour l'US EPA, les indices de risques (IR) s'expriment pour une entité cible et par agent de stress. Par exemple, la perdrix grise exprime un IR de 1,89 pour le plomb, de 1,12 pour le zinc et de 2,27 pour le cadmium. Pour le faisan, seul un risque est exprimé pour le plomb. Ainsi, l'analyse des indices de risques peut être assez précise et *in fine* conduire à des objectifs de gestion protégeant des espèces sensibles ou à valeur patrimoniale.

Pour l'ERA UK, un risque global pour l'écosystème est exprimé. Il permet de conclure, sur la base du calcul de risque, que le cadmium est l'agent de stress le plus susceptible d'induire des effets néfastes pour l'écosystème en présence, puis le zinc, le plomb, le mercure, l'arsenic et le nickel pour la station A1. Cette classification des agents de stress est assez proche de ce qui est classiquement attendu sur ce site d'étude (prévalence du plomb, zinc, cadmium).

Il est alors possible de conclure que les différences méthodologiques mises en évidence dans l'étude bibliographique se traduisent en différences vis-à-vis des résultats produits par les ERE.

Naturellement, cette conclusion soulève de nombreux questionnements vis-à-vis de la méthodologie à choisir pour avoir les réponses les plus justes en termes de risque pour l'écosystème. Ainsi, pour aller plus loin, le tableau 6 reprend les résultats importants pour chacune d'entre elles en différenciant les arguments pouvant conduire au choix d'une des méthodologies.

Tableau 6 : synthèse des caractéristiques spécifiques des méthodologies influençant les résultats obtenus

Méthodologie du Royaume-Uni	Méthodologies de l'US EPA et du CEAEQ
L'IR n'intègre pas l'exposition L'IR n'est pas influencé par la biocénose de l'écosystème étudié Est utilisé pour le screening des agents de stress	L'IR intègre l'exposition L'IR est précis (par entité cible) Le calcul de l'IR est entaché d'incertitudes
Considère des niveaux « observables » de l'écosystème (macroscopique)	Intègrent l'ensemble des niveaux d'organisation de l'écosystème (les effets néfastes peuvent être nucléaires ou populationnels)
Les impacts sont constatés Les liens entre atteintes écologiques et agents de stress sont validés	Expriment la probabilité d'apparition d'effets néfastes à plus ou moins long terme
La qualité des résultats est très corrélée à l'effort de recherche	
Correspond à l'approche rétrospective de l'ERE	Correspond à l'approche prospective de l'ERE
Traduit la toxicité des agents de stress vis-à-vis des organismes Considère principalement une exposition directe aux polluants	Prend en compte les relations entre espèces pour estimer le risque (notamment les relations trophiques)

Pour conclure, les résultats des ERE sont différents mais très complémentaires, en fonction de la méthodologie appliquée car ils ne traduisent pas les mêmes informations. La méthodologie développée par le Royaume-Uni est rétrospective, les impacts sont constatés et des facteurs confondants (impactant sur la biocénose mais non liés aux agents de stress) peuvent être isolés (comme le manque de clarté sur A2). Les méthodologies de l'US EPA et du CEAEQ sont plus prospectives, intègrent des interactions entre espèces notamment les interactions alimentaires et conduisent à un indice de risque plus précis mais moins fiable. Quoiqu'il en soit, après avoir mené les applications d'ERE, il est certain que les calculs de risques peuvent gagner en précision ce qui leur donnera une sensibilité qu'ils expriment peu à l'heure actuelle.

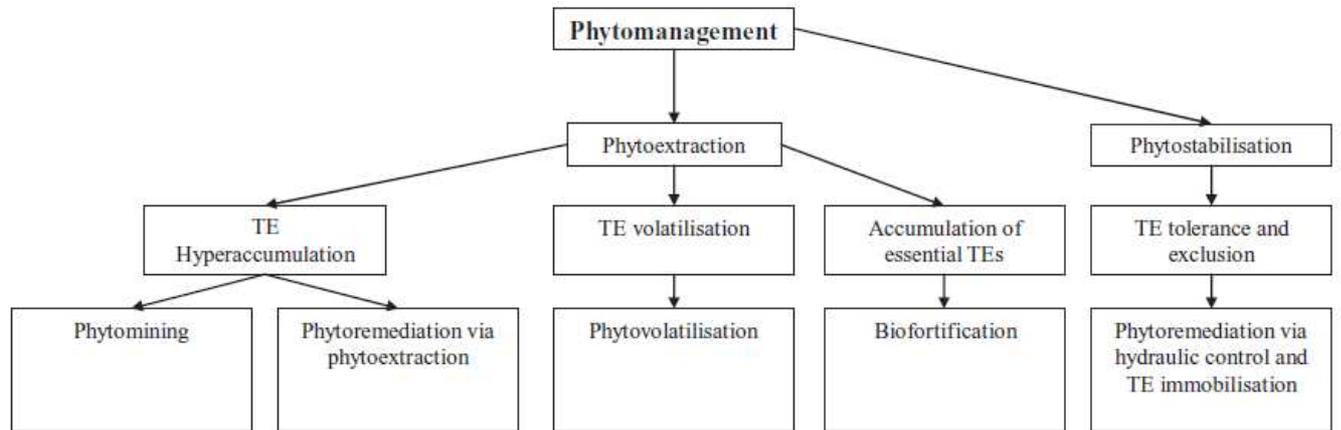


Figure 19 : l'articulation des phytotechnologies du phytomanagement (Robinson *et al*, 2009)

2) PHYTOREMEDIATION

L'évaluation des risques pour les écosystèmes est un préalable scientifique orientant les décisions de gestion des risques liés aux sites et sols pollués. Parmi les solutions de gestion existantes, le phytomanagement présente de nombreux avantages comme l'utilisation de techniques végétales maîtrisées ou un coût restreint.

Le phytomanagement des sols contaminés est l'utilisation de végétaux, possiblement combinée avec d'autres techniques, donnant accès au moyen le plus économique permettant de gérer le risque environnemental en lien avec le site. Le rôle de la végétation dans le phytomanagement des sols contaminés est d'ajouter une valeur au site et potentiellement de réguler les effets négatifs en lien avec la contamination.

Dans la partie suivante, sont décrites des expérimentations de revégétalisation, de phytoextraction de phytomining et de phytostabilisation.

Revégétalisation du crassier acide de la mine de Tui (cuivre et plomb), Te Aroha, Nouvelle-Zélande

Ces travaux et les suivants se sont déroulés en Nouvelle-Zélande au Laboratoire des sciences du sol, Palmerston North University sous la direction des professeurs R.R. Brooks et P. Gregger.

A. elatius a été étudié afin d'estimer la potentialité de cette espèce à être utilisée en revégétalisation des déchets miniers acides (pH 4, en moyenne) pollués par les éléments traces métalliques (arsenic, chrome, cobalt et nickel). Pour ce faire, une campagne de récolte des graines d'*A. elatius* a été mise en place sur des terrils de nature acide du Nord de la France.

Les résultats ont démontré une forte tolérance de l'espèce aux conditions expérimentales. La germination et le développement de graines semées sur le substrat du crassier de Tui, en conditions contrôlées, ont permis d'évoquer des essais de revégétalisation sur site. De plus, ces travaux ont permis de tester la bioaccumulation de l'espèce modèle vis-à-vis de métaux jusqu'alors peu étudiés. Ainsi, l'influence d'un stress environnemental supplémentaire (acidité) sur la bioaccumulation a été évaluée. Au final, une bonne capacité accumulatrice d'*A. elatius* pour le cobalt, atteignant parfois même le seuil d'hyperaccumulation (fixé à 1000 mg kg⁻¹ pour cet élément) a été mise en évidence. Néanmoins, du point de vue de la phytoextraction, il ne semble pas qu'*A. elatius* puisse être une candidate en phytoextraction de ces métaux, sans envisager l'utilisation d'amendement, comme l'EDTA.

De fait, sur la base de ces conclusions, l'accumulation du cobalt, du cuivre, du plomb et du nickel après addition d'EDTA a été étudiée. Les résultats ont ensuite été discutés en termes de phytoextraction. Dans ce cadre, 2 substrats (Tableau 7) ont été testés provenant d'un minerai de cobalt/cuivre/nickel (substrat A) et un terril riche en plomb (substrat B).

Tableau 7 : composition (mg/kg) et pH des substrats utilisés

Growth medium	Experiment A	Experiment B
pH	5.5	3.5-7.0*
Lime	-	0-5000*
Cobalt	188	1
Copper	187	4500
Nickel	6300	1
Lead	-	6750

* dépendant de la quantité de chaux ajoutée

L'EDTA (sous forme de son sel disodique) a été ajouté, 4 semaines après la germination des graines d'*A. elatius*, à un taux variable de 0 (contrôle) ; 0,5 ; 1 ; 2 ou 4 g/kg de substrat. Les parties aériennes d'*A. elatius* ont été récoltées 8 semaines après la germination.

Concernant le substrat A, l'addition d'EDTA a entraîné une augmentation statistiquement significative des concentrations de cuivre (de 200 à 7500 mg/kg), de cobalt (de 40 à 175 mg/kg) et de nickel (de 8 à 1276 mg/kg) dans les parties aériennes d'*A. elatius* (Figure 20– échelle log).

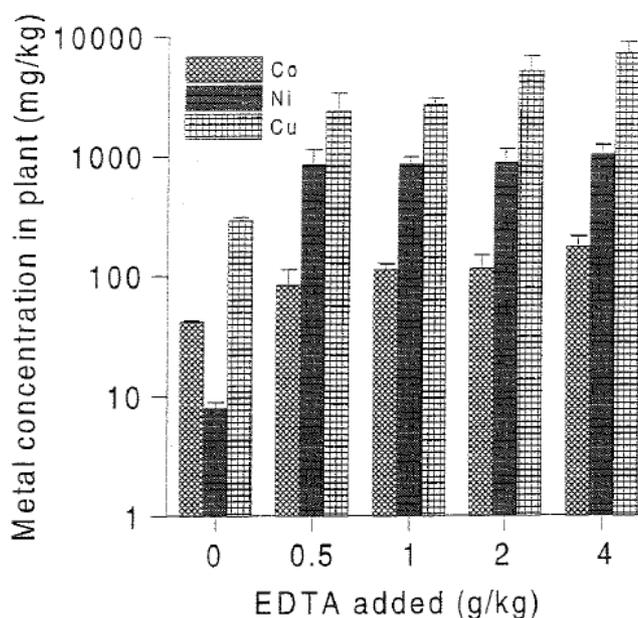


Figure 20 : effet de l'amendement à l'EDTA (n=8 pour chaque élément et amendement) sur l'accumulation du cuivre, du cobalt et du nickel, par *A. elatius* (mg/kg masse sèche) se développant sur le substrat A

La forte accumulation de cuivre dans la plante est à noter. De plus, l'addition d'EDTA n'a pas semblé induire, dans ces conditions d'expérience, de diminution de la biomasse même si des nécroses ont été observées. Les nécroses, signes de la phytotoxicité des métaux, ne sont pas limitantes en phytoextraction. Ainsi, si le rendement d'*A. elatius* est maintenu en champs (estimé à 10 tonnes/ha), on peut estimer qu'une culture d'*A. elatius* est susceptible d'extraire 75 kg de cuivre après addition d'EDTA, en termes de phytoextraction.

Les résultats obtenus sur le substrat B sont représentés sur la figure 21.

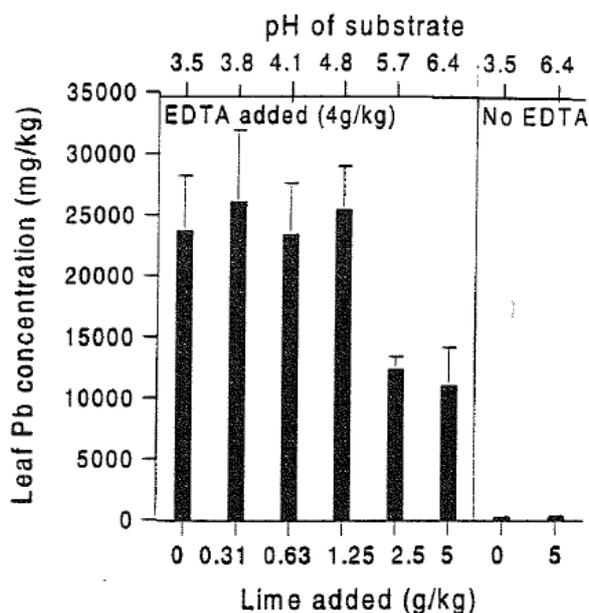


Figure 21 : accumulation de plomb par *A. elatius* ($n=8$ pour chaque amendement) se développant sur le substrat B, avec et sans ajout de chaux et une dose constante d'EDTA à 4 g/kg.

L'ajout d'EDTA au substrat B se traduit par une forte augmentation de plomb dans les parties aériennes d'*A. elatius*, passant de 100 mg/kg à 25 000 mg/kg. Cela est comparable, voir même supérieur aux 2% obtenus par l'ajout d'EDTA à un sol pollué par le plomb (à 2500 mg/kg) chez *Zea mays*.

En conclusion, l'accumulation naturelle d'*A. elatius* pour les métaux étudiés n'est pas en faveur de son utilisation en phytoextraction sans amendement du sol visant à y augmenter la solubilité des ETM. L'ajout d'EDTA induit l'augmentation de l'accumulation des ETM à des niveaux auxquels cette espèce pourrait être utilisée sur des sols faiblement contaminés par l'un ou plusieurs de ces métaux.

Cette étude a fait l'objet d'une publication dans *Communication in soil science and plant analysis* (Deram et al., 2000).

Phytoextraction aidée du zinc, du plomb et du cadmium avec *Arrhenatherum elatius*

Sur la base de ces résultats encourageants, la capacité de phytoextraction d'*A. elatius* a été testée en milieu calaminaire (riche en zinc, plomb et cadmium, notamment) sur lequel l'espèce se développe (en population *in situ*) avec 2 types d'amendement.

Sur le site calaminaire d'Auby (Nord, France), 2 zones de 9 m² ont été sélectionnées et divisées en 9 plots d'1 m². La végétation de chacune de ces zones était constituée d'*Arabidopsis halleri* et d'*Arrhenatherum elatius*, accompagnés également d'*Agrostis tenuis* et de *Silene humilis*. 3 plots ont été traités avec de l'EDTA (sel disodique) et 3 plots avec de l'acide citrique à raison de 0,5 mg/kg et sur une profondeur de 15 cm.

Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les traitements pour les 2 plantes étudiées. L'addition d'amendements chimiques n'a pas augmenté l'accumulation de zinc, plomb ou cadmium dans les espèces.

Les données soulignent le caractère hyperaccumulateur de l'Arabette de haller vis-à-vis du zinc et du cadmium (Tableau 8).

Tableau 8 : concentrations métalliques (masse sèche) dans les espèces, 21 jours après le traitement à l'EDTA. Les valeurs représentent les moyennes et (l'écart-type)

	Arrhenatherum elatius			Cardaminopsis halleri		
	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn (%)
Control	7.05 (2.76)	17.10 (4.23)	609.5 (292.2)	167.6 (36.4)	50.0 (7.4)	2.47 (0.81)
Citric acid	7.03 (6.77)	16.68 (1.85)	733.0 (191.4)	123.4 (7.4)	49.7 (10.3)	1.64 (0.23)
EDTA	6.90 (1.30)	17.60 (1.30)	712.0 (222.3)	174.0 (24.3)	78.2 (29.7)	2.47 (0.51)
Significance	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

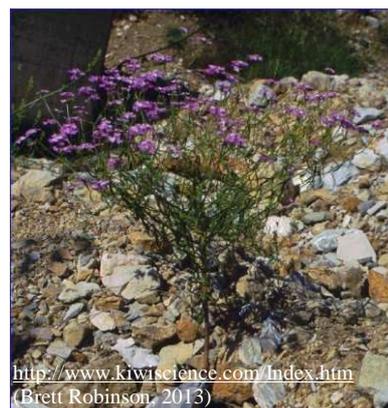
n.s.—Not significant

Cette étude a fait l'objet d'un chapitre d'ouvrage scientifique Anderson Ch, Deram A, Petit D, Brooks R.R, Stewart R, Simcock R (2001) Induced hyperaccumulation : metal movement and problems. In: Trace Elements in soils : Bioavailability, Flux and Transfer, 4 (pp. 63-76), I.K. Iskandar & M.B. Kirkham – Lewis publishers.

Phytomining et hyperaccumulation du thallium chez *Iberis intermedia*

Le phytomining et la phytoextraction sont techniquement assez similaires et se différencient par leur objectif respectif à visée économique ou environnemental. J'ai eu l'occasion de mener une expérimentation de phytomining en Nouvelle-Zélande au Laboratoire des sciences du sol, Palmerston North University sous la direction des professeurs R.R. Brooks et P. Gregger.

L'hyperaccumulation du thallium, élément très toxique, a été mise en évidence chez *Iberis intermedia*. Il a été mesuré que les individus de cette espèce se développant sur le site minier des Malines près de Ganges (Gard) contenaient plus de 3070 µg/g (masse sèche) de thallium (0,31%). A la suite de cela, des essais en conditions contrôlées ont démontré que cette espèce est capable de tolérer près de 2000 µg/g de Tl ajouté au substrat. A titre de comparaison, *A. elatius* tolère 20 µg/g. Ce résultat est d'importance en matière d'exposition et de gestion des risques (écosystémique et humain), de phytoextraction mais aussi de phytomining. En effet, il a été déterminé que trois rotations suffiraient pour « phytoextraire » un sol contenant 10µ/g de thallium jusqu'à un seuil non-toxique. La biomasse fauchée contiendrait suffisamment de thallium pour être considérée comme un bio-minerai ce qui compenserait le coût de l'opération. Sur la base de ces expérimentations, il a été estimé que le bénéfice de la mise en place du phytomining serait de 1200 \$/ha (le double d'un ha de blé).



Cette étude a fait l'objet d'une publication dans economic geology (Leblanc et al., 1999).

Comme cela vient d'être évoqué, le phytomanagement prend en considération l'aspect économique des phytotechnologies mises en place. De fait, lorsque les ETM traités n'ont pas de valeur financière, des techniques de phytostabilisation peuvent être proposées. En effet, outre l'action de ces technologies sur l'immobilisation des polluants, de nombreux programmes, notamment en France couplent la phytostabilisation et la production de biomasse/bois-énergie. Cette production est susceptible de générer un revenu sur la base de l'énergie produite et d'équilibrer les coûts inhérents à la phytostabilisation. Cela s'inscrit également dans un contexte de limitation de l'utilisation de surfaces agricoles non contaminées pour la production de biomasse énergie.

Dans ce contexte, 2 études concernant le bois énergie (projet BCL) et la biomasse énergie (Phytener) sont présentées dans les paragraphes suivants.

Projet BCL : Biomass on Contaminated Land

Ce projet a été mené à l'institut des écosystèmes terrestre de Zürich et au Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques (LSVF) de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, EA 4483, Université Lille 2 Droit et Santé.

Dans le cadre de cette étude, nous avons testé 3 essences arborescentes pour leur capacité à produire du bois-énergie sur des sites contaminés par les ETM. Pour ce faire, des échantillons de sols et de végétaux (feuilles, bois et écorces) de Saules (*Salix* sp), Peupliers (*Populus* sp) et Bouleaux (*Betula pendula*) ont été collectés sur 5 sites en France et en Allemagne et analysés pour le Zn, le Cd, le Pb, le Cu, le Ca et le K.

Les concentrations en cadmium dans les feuilles étaient corrélées avec l'espèce végétale, tandis que les concentrations en zinc dans les feuilles ont été corrélées à la contamination des sites d'étude. Les concentrations en cadmium dans les feuilles des bouleaux (1,2 à 8,9 mg/kg) sont statistiquement plus faibles que celles du saule et du peuplier (50 à 80 mg/kg).

En plus de cela, certains ions inorganiques, comme K et Ca, sont connus pour exercer une grande influence sur la dégradation thermique des polysaccharides et des lignines. Ils agissent comme des catalyseurs en baissant la température de décomposition et augmentant la production du charbon de bois. De fait, des concentrations faibles en ces éléments sont recherchées. Dans le cadre de notre expérimentation, seul *Betula pendula* a des concentrations en K et Ca dans le bois et dans l'écorce inférieures à celles de référence données par Obernberger *et al.*, 2006 (sur sol non contaminé). En résumé, le bouleau semble être, parmi les espèces étudiées, la plus adaptée pour la production de bois énergie sur les sites contaminé par les ETM.

Ces travaux de recherches ont fait l'objet d'une publication dans Journal of Hazardous Materials (Evangelou et al., 2012).

Programme PHYTENER : Impact du *Miscanthus* sur la biodiversité végétale de sols contaminés par des éléments traces métalliques

Pour évaluer l'intérêt du *Miscanthus* pour gérer durablement des sols agricoles fortement contaminés par des ETM, un programme de recherche pluridisciplinaire, nommé Phytener, a été initié en 2010 et mis en place avec le soutien de l'ADEME (<http://www.phytener.fr/>). Un des objectifs est de contribuer au développement de techniques innovantes de gestion de sols fortement contaminés au moyen du *Miscanthus*. Sur le plan écologique, le caractère très compétitif de *Miscanthus* et la densité de ce type de culture, tant au niveau aérien que racinaire (1 cm de racine/cm³ de terre dans les 30 premiers centimètres), soulève la question du devenir de la flore messicole et donc du risque d'une perte de biodiversité. Or, comme le souligne Rowe *et al.* (2009),

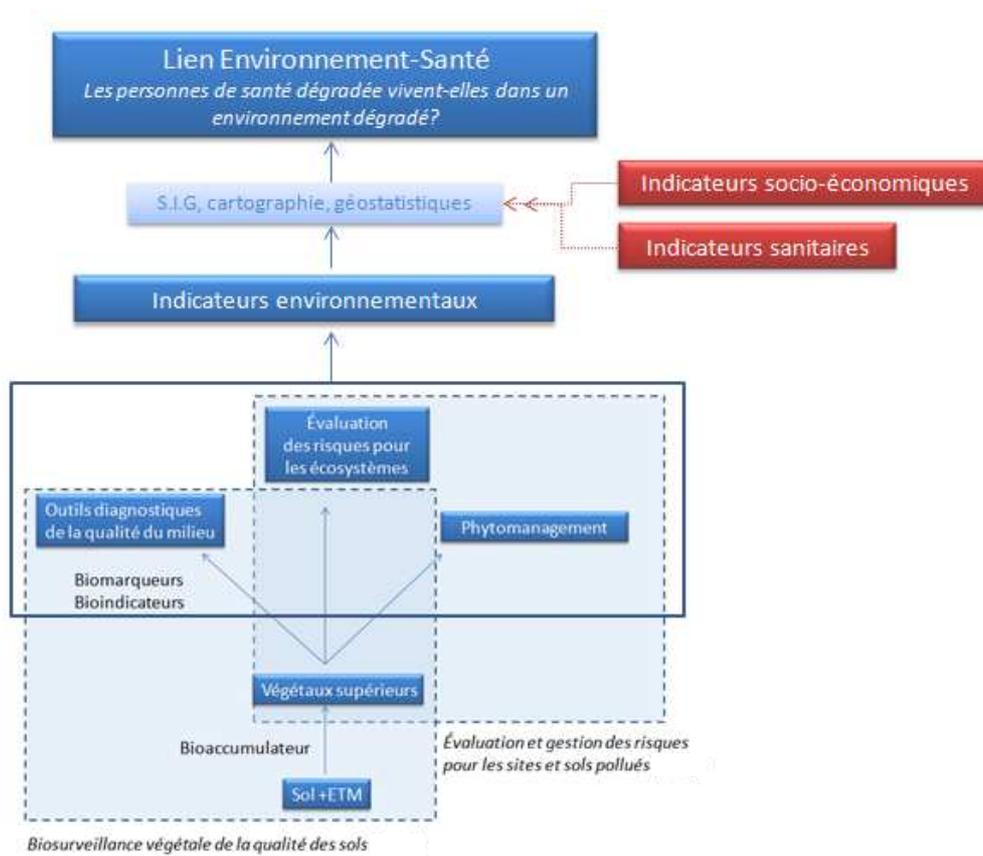
la recherche dans ce domaine reste à ce jour limitée et doit, à court terme, être complétée afin de mieux prédire les effets de ce mode cultural sur la biodiversité locale.

Dans le cadre du programme Phytener, une évaluation de l'influence de la production de *Miscanthus giganteus* sur la biodiversité végétale de parcelles cultivées a été réalisée afin d'apprécier la viabilité écologique de ce type de culture. Pour ce faire, la flore vasculaire de six parcelles expérimentales, toutes plantées en *Miscanthus*, a été analysée. Quatre de ces parcelles présentent des sols fortement contaminés à des degrés divers par des éléments traces métalliques (ETM) et forment un gradient de contamination. Les sols des deux autres parcelles présentent des concentrations en ETM proches des teneurs agricoles habituelles (TAH) régionales et ont été considérés comme des références dans la démarche.

Les résultats montrent que la flore adventice des cultures de *Miscanthus* se compose essentiellement d'espèces indigènes, communes et peu menacées (niveau de préoccupation mineure). Au niveau communautaire, deux grands types biologiques sont représentés : les annuelles (végétation thérophytique) et les vivaces. Ces communautés d'adventices témoignent des perturbations occasionnées par les pratiques culturales antérieures à la plantation de *Miscanthus* et de l'hétérogénéité locale du milieu. Sur la base des résultats obtenus, la production de *Miscanthus* ne semble pas exercer d'influence néfaste sur les adventices de culture. En retour, les adventices ne semblent pas nuire au développement de *Miscanthus*, une fois la période d'implantation réussie. Dans notre contexte, la contamination des sols ne semble pas constituer un obstacle à la colonisation des cultures par les adventices. Les facteurs influant sur la colonisation des cultures par les adventices sont étroitement liés au contexte environnant et à la durée du cycle des cultures. En effet, une hétérogénéité spatiale des paysages à proximité des parcelles permet une meilleure diversité des adventices et un cycle de culture long est favorable à une reprise de la dynamique évolutive de la végétation.

Ces travaux font l'objet d'un article sous presse dans le journal Étude et Gestion des Sols (2013).

C) CARACTÉRISATION DU LIEN ENVIRONNEMENT-SANTÉ



Cet axe sera abordé en présentant 3 études actuellement en cours, réalisées dans le cadre de la thèse de F. Occelli :

- cartographie des maladies chroniques rénales : variations spatiales et détection des clusters à l'échelle régionale ;
- maladies chroniques de l'intestin (MICI) et détection de clusters environnementaux ;
- cartographie de l'imprégnation lichénique en ETM dans la région Nord - Pas de Calais et mise en relation avec des indicateurs sanitaires (dosages biologiques sang, urines) et socio-économiques.

Les objectifs généraux des travaux de recherche menés sont, comme mentionné en introduction, de développer des outils d'aide au diagnostic de la qualité des sols contaminés par les métaux lourds s'intégrant dans une démarche d'évaluation des risques environnementaux et sanitaires. Autrement dit, nous cherchons grâce aux végétaux à être en mesure de caractériser la qualité d'un sol (biosurveillance) et à évaluer l'implication d'une éventuelle dégradation de cette qualité en termes de risques encourus pour l'écosystème (ERE). Rapprocher les indicateurs sanitaires et socio-économiques caractérisant la santé de l'Homme exposé à la fois à ces sols dégradés et vivant dans un écosystème à risque est une suite logique. De fait, nos travaux s'attachent à répondre à la question : « les individus à la santé dégradée vivent-ils dans un environnement dégradé ? »

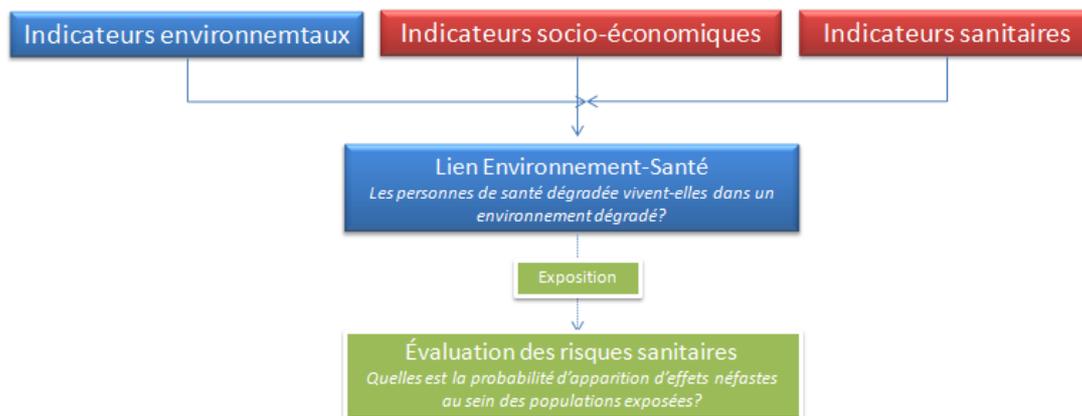


Figure 22 : positionnement de l'axe «caractérisation du lien environnement-santé» par rapport à l'évaluation des risques sanitaire (ERS)

Études de cet axe (en bleu) avec l'appui de collaboration (en rouge) et évolution possible vers l'ERS (en vert) par la prise en compte des données d'exposition

En effet, l'existence d'un lien étroit entre la santé et l'environnement n'est plus à démontrer, mais la caractérisation et la quantification de celui-ci sont encore souvent difficiles. Ceci est notamment dû à la multitude d'expositions de l'Homme (environnement extérieur, environnement intérieur, profession) et la non-spécificité des réponses sanitaires (différentes pathologies possibles pour une pollution environnementale). A cela s'ajoute le fait que certaines pathologies peuvent se manifester ou non en fonction de la période d'exposition (temps de latence) et de la susceptibilité génétique des individus (variabilité individuelle).

Malgré ces difficultés, les liens entre l'environnement et la santé sont d'intérêt majeur et au cœur de nombreuses politiques de santé publique qui cherchent à s'appuyer sur des outils d'aide à la décision. Dans ce contexte, nous avons orienté nos travaux de manière à caractériser le lien santé-environnement d'un point de vue cartographique (analyses géographiques à l'échelle des territoires et vecteurs de communication) et géostatistique (caractérisation quantitative). A ce titre, **3 études**, présentées ci-après, sont en cours au laboratoire, menée dans le cadre de la thèse de Florent Occelli (2011-2014, bourse ED). Ces études concernent des données sanitaires de natures différentes (cas ou dosages biologiques) et reposent sur des données environnementales dans les milieux sol, eaux souterraines, et air, respectivement).

Cartographie des maladies chroniques rénales : variations spatiales et détection des clusters à l'échelle régionale

En collaboration avec :

- François-Xavier Glowacki EA 4483 – Service de Néphrologie, Hôpital Huriez, CHRU, Lille, France ;
- REIN (Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie) Agence de la biomédecine ;
- Michael Génin & Pr. A. Duhamel, EA2694 Santé Publique : épidémiologie et qualité des soins/Centre d'Etude et de Recherche en Informatique Médicale (CERIM), Faculté de Médecine de Lille.

De fortes variations de l'incidence des maladies du rein en stade terminal (End-Stage Renal Disease -ESRD) sont observées à l'échelle nationale (Couchoud *et al.*, 2012). Les raisons de ces variations sont inconnues. Des causes environnementales, sociodémographiques ou en relation avec d'autres maladies (cardiovasculaires, diabètes) sont soupçonnées. La région Nord – Pas de Calais a l'incidence la plus haute en ESRD avec un taux standardisé de 196 nouveaux cas par million de personnes (pmp) en 2010 contre 149 pmp en France.

Dans ce contexte, nos objectifs sont :

- d'étudier les variations spatiales de l'incidence des ESRD dans le Nord-Pas de Calais sur la période 2005-2011 ;
- de déterminer si des clusters d'incidence sont détectables ;
- de corrélérer ces clusters avec des données de caractérisation de la qualité de l'environnement, notamment la présence de cadmium dans les milieux ;
- d'étudier le poids des facteurs aggravants que sont les maladies cardiovasculaires et les diabètes dans la détermination des clusters.

Pour ce faire, nos travaux de recherche s'appuient sur des collaborations avec le Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie (REIN) qui dispose d'un registre listant tout les patients en dialyse et/ou en attente de greffe du rein de chaque région de France. Un système d'information géographique (ArcGIS®) est utilisé pour analyser et générer les cartes de ces patients. L'autocorrélation spatiale (la tendance à l'agrégation) est évaluée grâce à l'indice de Moran. La détection de clusters (spatiaux, temporels ou spatio/temporels) dans les populations est déterminée par le biais des statistiques de scan. Cette dernière étape est réalisée en collaboration avec M. Génin et l'équipe du Pr A. Duhamel (EA 2694)

A ce jour, 4 clusters spatiaux de sur-incidence ont été détectés, les clusters de sous-incidence ne sont pas significatifs. Les étapes suivantes vont intégrer les facteurs aggravants de ces évaluations. Les clusters vont ensuite être rapprochés des données environnementales (selon la méthodologie développée ci-après).

Maladies chroniques de l'intestin (MICI) et détection de cluster environnementaux

En collaboration avec :

- Michael Génin & Pr. A. Duhamel, EA2694 Santé Publique : épidémiologie et qualité des soins/Centre d'Etude et de Recherche en Informatique Médicale (CERIM), Faculté de Médecine de Lille ;
- Corinne Gower-Rousseau, Registre des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin du Nord-Ouest de la France (EPIMAD), Service d'Epidémiologie Régional, Hôpital Calmette, Lille, France ;
- Jean-Frédéric Colombel, EPIMAD, Service d'Hépatogastroentérologie, Hôpital Claude Huriez, Lille, France.

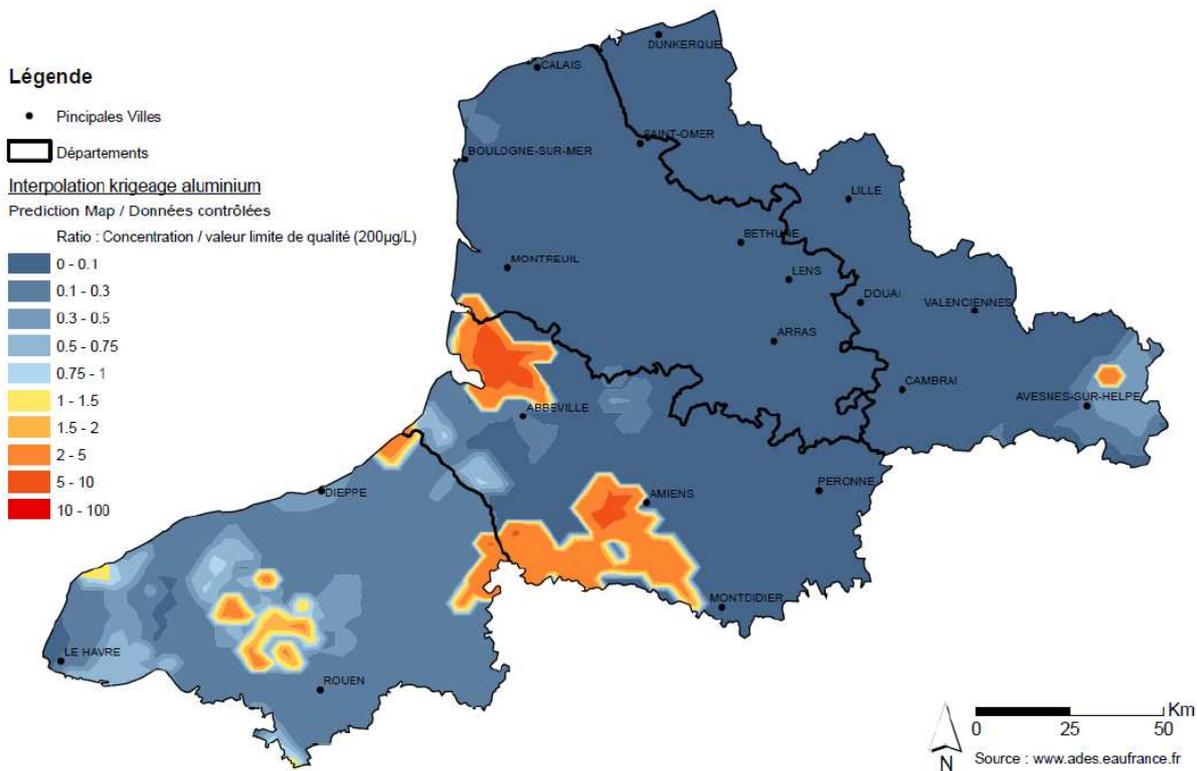


Figure 23 : cartographie des indices de pollution en aluminium dans les eaux souterraines (Ocelli, 2012 –Rapport CST n°1)

Ces travaux de recherche s'appuient sur le registre EPIMAD (Registre des Maladies Inflammatoires Chroniques du Tube Digestif) en collaboration avec le Dr. Gower-Rousseau et le Pr J-F. Colombel. Ce registre recense 8000 cas (maladies de Crohn et recto-colites hémorragiques) dans les départements du Nord, du Pas de Calais, de la Somme et de la Seine-Maritime sur la période 1990 à 2006. Le Registre EPIMAD, et notamment la cartographie (Declercq *et al.*, 2010) et la variabilité spatiale (Génin *et al.*, 2013) sont actuellement étudiées dans le cadre d'un travail de thèse réalisé par M. Génin, Doctorant en biostatistiques au sein de l'EA 2694 (Santé Publique : Epidémiologie et Qualité des Soins, dirigée par A. Duhamel).

Concernant ces MICI, quelques facteurs causals sont identifiés. L'effet délétère du tabac pour la maladie de Crohn et protecteur pour la recto-colite hémorragique est bien établi. L'effet protecteur de l'appendicectomie pour appendice inflammatoire réalisée avant l'âge de 20 ans semble bien démontré pour la recto-colite hémorragique. Les facteurs génétiques expliquent une partie de l'incidence des MICI. Plusieurs éléments plaident en faveur du rôle des facteurs d'environnement dans le développement des MICI. Il existe une inégalité des répartitions des MICI dans l'espace, avec une fréquence plus élevée des MICI dans les pays du nord et les pays développés (Nerich *et al.*, 2006). Un autre argument est l'évolution des MICI en fonction du temps. Tous les registres ont constaté une augmentation de l'incidence de la maladie de Crohn depuis la fin de la 2^e guerre mondiale dans les pays du nord, 10 à 20 ans plus tard dans les pays du sud. Une augmentation de cette ampleur, et sur une période aussi brève, ne peut être liée à des modifications génétiques (Jantchou *et al.*, 2006). Aucune relation avec la défaveur sociale (Indice de Townsend) observée à l'échelle des cantons concernant le Registre EPIMAD (Declercq *et al.*, 2010) **L'implication de facteurs environnementaux, notamment les micropolluants** qui entraineraient un mauvais fonctionnement du circuit lymphatique intestinal, est suspectée (Beamish *et al.*, 2011).

Selon la littérature, aucun facteur de risque environnemental n'est clairement identifié/suspecté, mais les ETM et notamment l'aluminium (Lerner, 2007) semblent une piste non négligeable. A l'heure actuelle, aucune étude écologique concernant le registre EPIMAD n'a été publiée.

En conséquence, nos travaux de recherche ont pour objectifs :

- d'extraire, en s'appuyant sur la base ADES (accès aux données sur les eaux souterraines) disponible à l'échelle nationale, une base de données de la qualité de l'eau souterraine, à l'échelle spatio-temporelle du registre EPIMAD ;
- d'étudier la variabilité spatio-temporelle des données issues de la base ;
- de déterminer des clusters environnementaux. La réalisation de cet objectif nécessite de lever un verrou important qui est celui de la transformation de données de nature environnementales (valeur continue de concentration d'un polluant dans l'eau) dans un format identique aux données sanitaires (malade/non malade).

A ce jour, les deux premiers points cités ont été réalisés et font l'objet d'améliorations continues (analyses critique de la base de données, incrémentation du nombre de données, test de fiabilité et de robustesse des données...). La figure 23 représente la cartographie de l'aluminium dans les eaux souterraines.

Dans le cadre de cette étude restent 3 points importants : i) la mise en relation des données de qualité des eaux souterraines avec les données d'eaux de consommation, ii) la détermination de clusters « aluminium », ainsi que iii) le rapprochement des clusters MICI et des clusters « aluminium » s'il y a lieu.

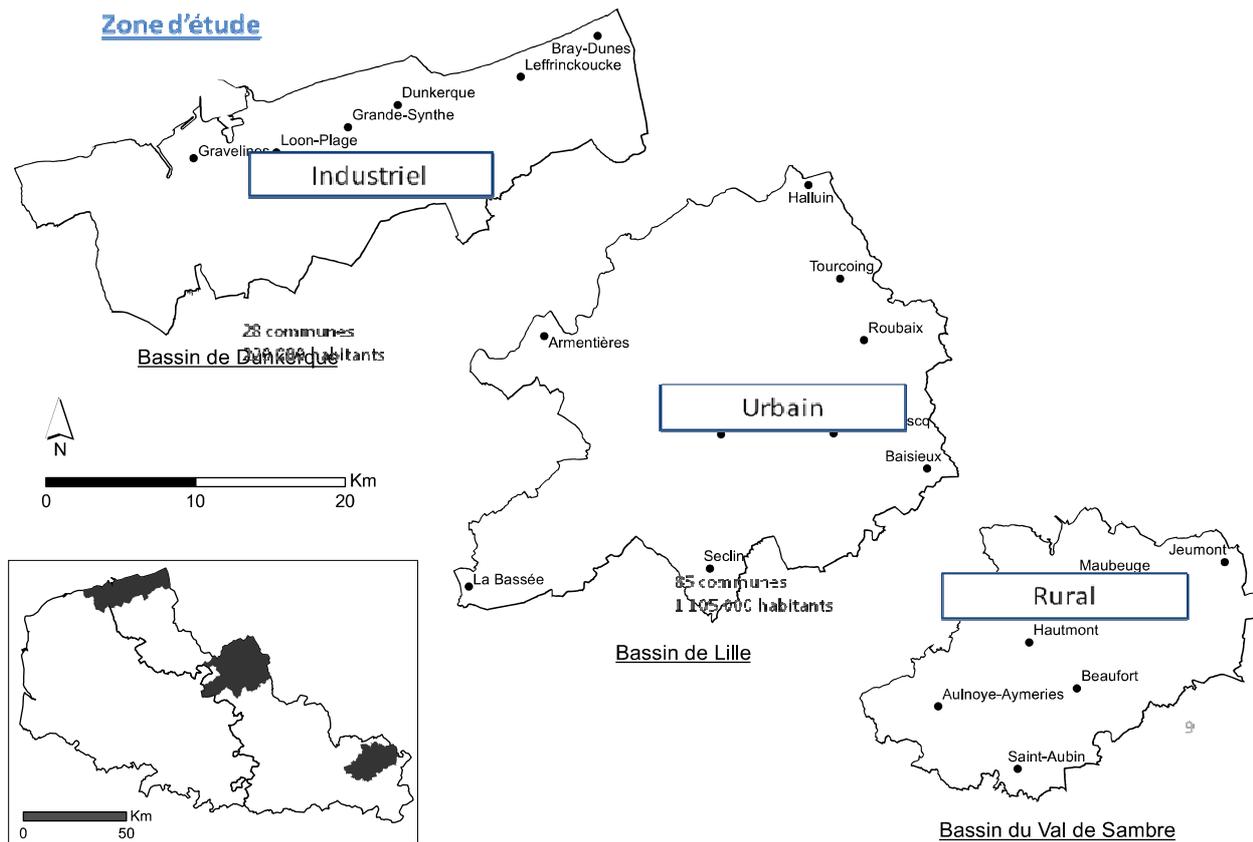


Figure 24 : périmètre de l'étude d'imprégnation lichénique et la mise en relation avec des dosages sanguins et urinaires

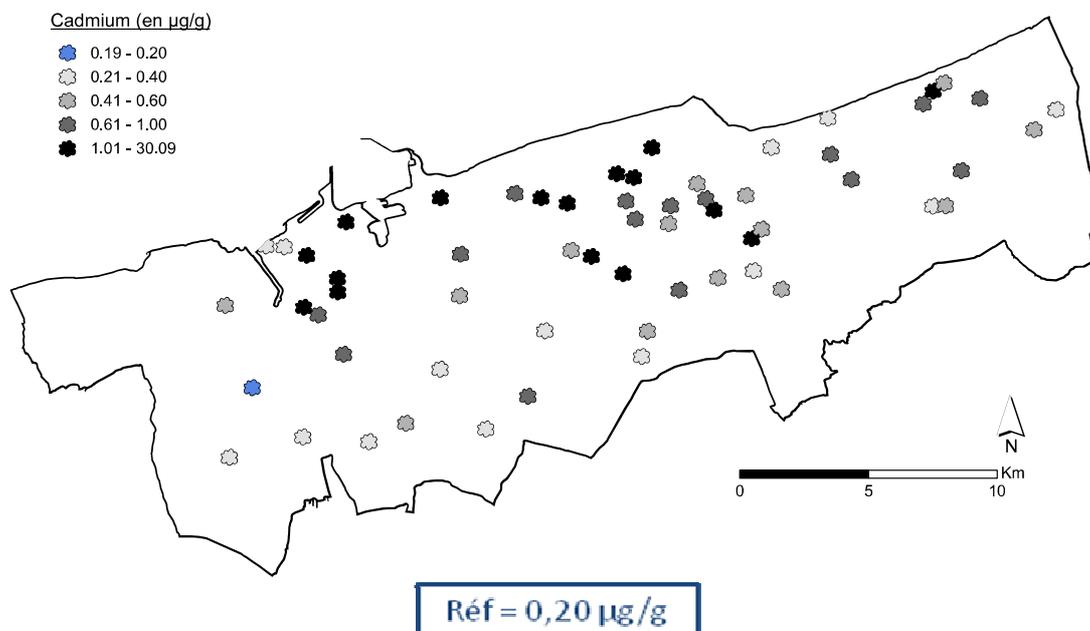


Figure 25 : représentation ponctuelle de la concentration en cadmium dans les lichens de la Communauté Urbaine de Dunkerque

Cartographie de l'imprégnation lichénique en ETM dans la région Nord - Pas de Calais et mise en relation avec des indicateurs sanitaires (dosages biologiques sang, urines) et sociaux économiques

En collaboration avec :

- Marie-Amélie Cuny, Association pour la Prévention de la Pollution Atmosphérique (APPA) Nord – Pas de Calais ;
- Catherine Nisse & Ariane Leroyer, EA 4483 - Laboratoire universitaire de médecine du travail et des risques professionnels, faculté de médecine, université de Lille 2 / Service de Pathologie Professionnelle et Environnement, CHRU-Université de Lille 2 ;
- Rachel Bavdek et Peggy Hellequin, Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO) – Laboratoire Territoire Villes Environnement et Santé (TVES EA4477).

Pour cette étude, nous disposons d'une base de données de l'imprégnation lichénique en ETM (18 métaux : Sb, As, Al, Be, Cd, Cr, Co, Mn, Ni, Pb, Ti, V, Zn, Hg, Cu, Pt, Rh, Pd ; 228 stations de prélèvements) répartis sur trois bassins de vie : la Communauté Urbaine de Dunkerque, la Communauté Urbaine de Lille et la Communauté de Communes du Val de Sambre (Figure 24). Cette base est issue du programme de recherche de la cartographie de la qualité globale de l'air et de la contamination métallique à l'aide des lichens dans l'agglomération dunkerquoise menée par le Pr. D. Cuny, en collaboration avec l'APPA dans le cadre du programme IRENI (Phases 4 à 6).

Ces données peuvent faire l'objet d'une **représentation ponctuelle** (Figure 25). Elles peuvent également être traitées par le biais d'une **interpolation spatiale** (Figure 26) qui prévoit la valeur la plus probable d'un indicateur (phénomène naturel) en tout point de l'espace à partir d'informations ponctuelles mesurées et géoréférencées (Krigé, 1951). Cette représentation géostatistique génère une surface continue (interpolation de points non échantillonnés sur la base des échantillons caractérisés).

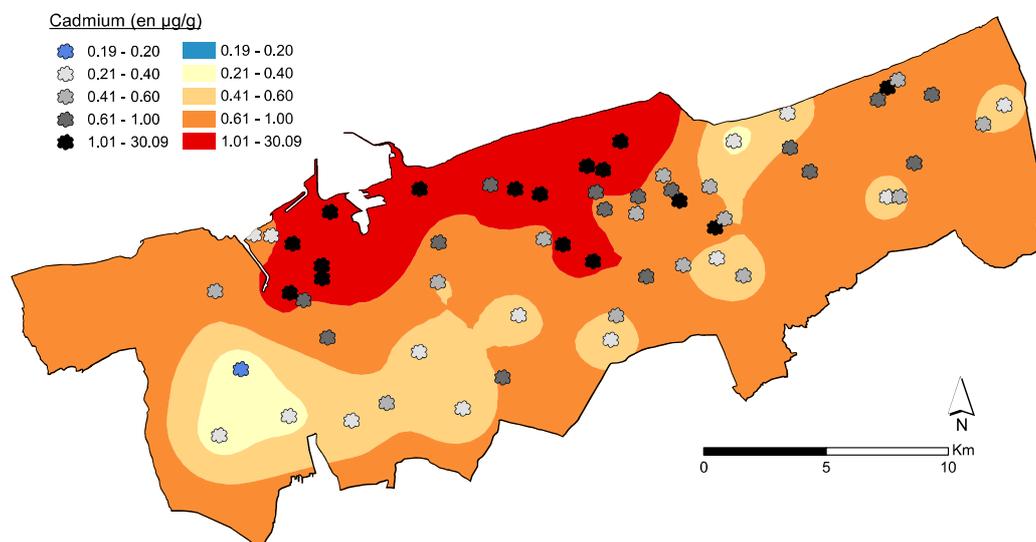


Figure 26 : interpolation spatiale par krigeage des données d'imprégnation cadmique des lichens

Ainsi, nous disposons de 18 cartographies ponctuelles et de 18 cartographies par interpolation pour caractériser l'imprégnation lichénique de chaque bassin de vie. Ces représentations cartographiques mono-métalliques ont permis de mettre en évidence la variabilité de l'imprégnation lichénique pour chaque métal mais aussi différents profils de pollution en fonction des polluants considérés.

Du fait du contexte de pollutions multiples et bien que les cartographies mono-métalliques soient la plupart du temps utilisées dans les études de mise en relation avec d'autres indicateurs, nous avons orienté notre travail de recherche vers la **mise au point d'un indicateur d'imprégnation globale des lichens par l'ensemble des ETM étudiés.**

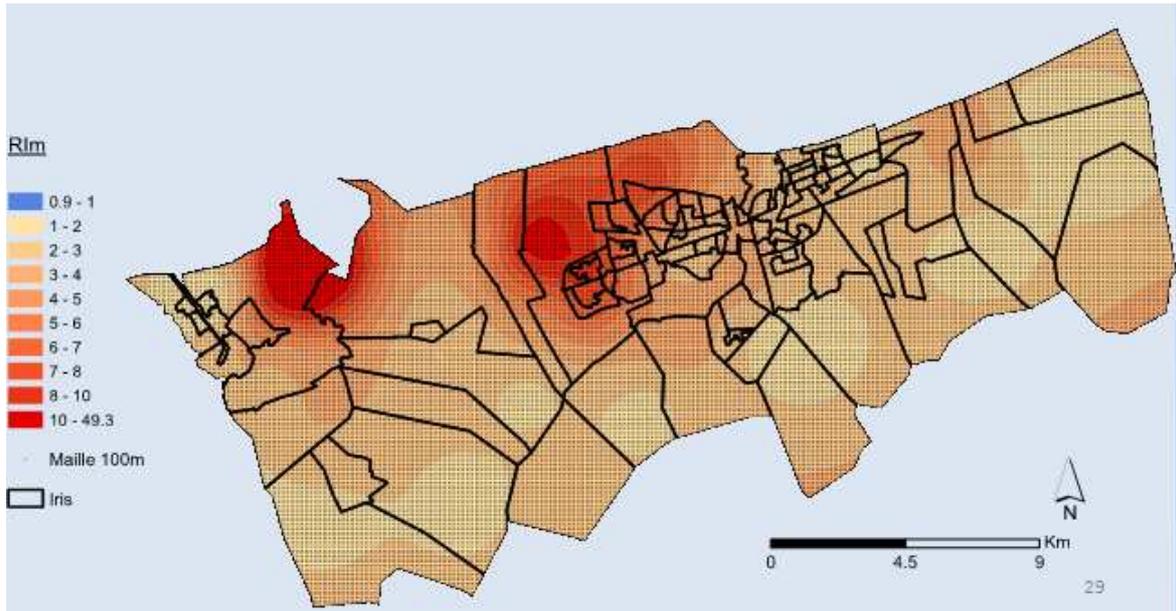


Figure 27 : agrégation des données d'imprégnation lichénique sur la base de l'indice global de contamination multi-métallique, Communauté Urbaine de Dunkerque

R. Bavdek ; P. Hellequin ; T. Dallery
 « Quand population défavorisée rime avec industries à proximité »
 Demi-journée de restitution IRENI – 24 Mai 2013

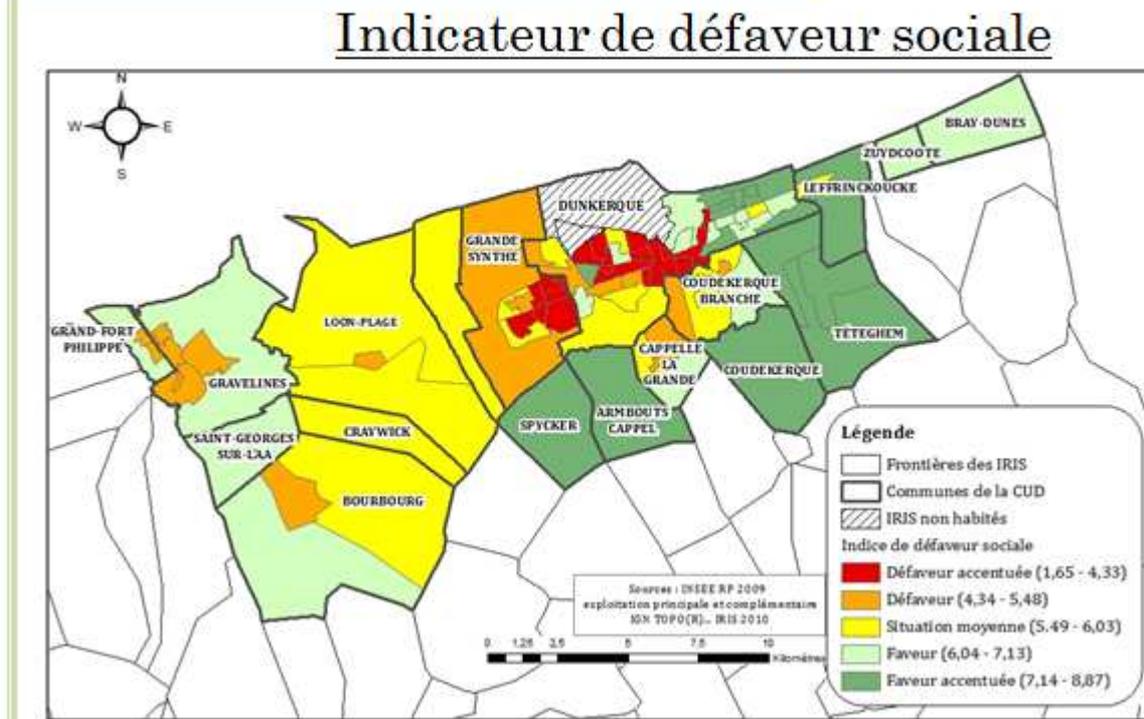


Figure 28 : indicateur de défaveur sociale de la Communauté Urbaine de Dunkerque (Bavdek et al., 2013)

Un état de l'art des indicateurs globaux de contamination a été réalisé. Nous avons pu constater qu'à ce jour ils sont peu développés, peu utilisés et qu'ils concernent essentiellement les ETM. En fonction de nos données, nous avons adapté un indice de pollution intégrée, habituellement utilisé sur sols pollués par les ETM (Chen *et al.*, 2005) appliqué dans notre cas d'étude à la qualité de l'air. La robustesse de notre indice adapté est actuellement testée par bootstrap. La figure 29 illustre, sur le bassin de la Communauté Urbaine de Dunkerque, l'interpolation multi-métallique de l'imprégnation lichénique globale réalisée.

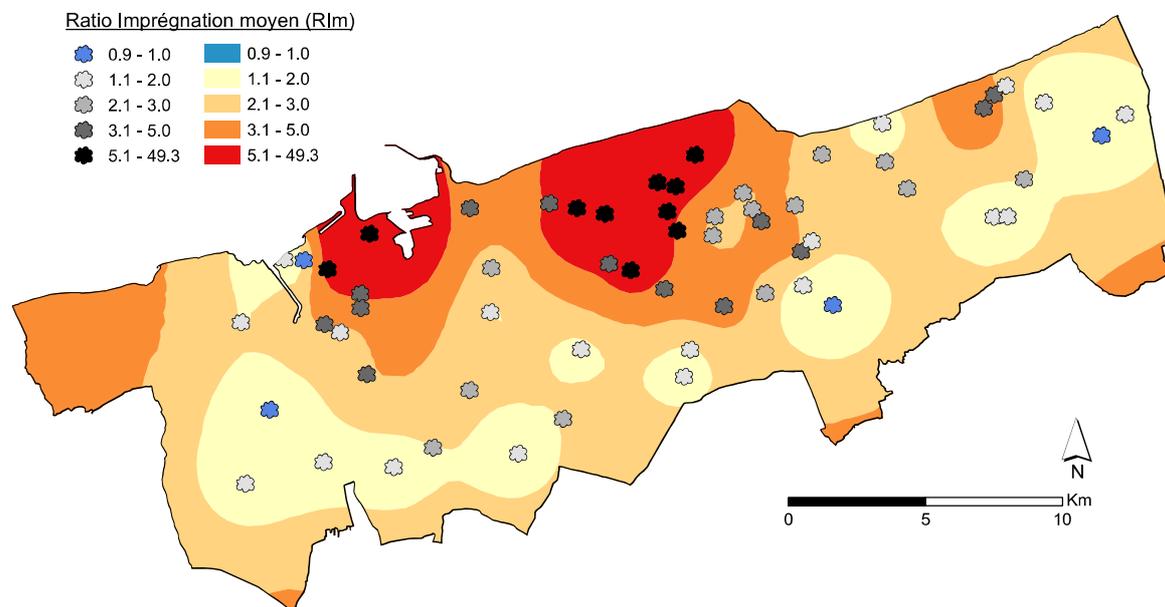


Figure 29 : indice global d'imprégnation multi-métallique sur la Communauté Urbaine de Dunkerque

A la suite de ce travail, le deuxième **objectif est d'évaluer la possibilité de mettre en relation ces résultats avec des indicateurs sanitaires et socio-économiques.**

La base de données des dosages biologiques en ETM fut générée dans le cadre du programme scientifique IRENI (Institut de Recherche en Environnement Industriel). Elle est issue du suivi de l'imprégnation de la population par des polluants environnementaux à partir des Centres d'Examen de Santé du Nord-Pas de Calais, par le Dr C. Nisse. Des prélèvements sanguins et urinaires ont été réalisés en 2009 sur un échantillon de 2000 adultes (20-59 ans) répartis sur trois bassins de vie pour doser les concentrations sanguines et urinaires de 18 métaux. Dans ce cadre, des données biométriques (taille, poids, tension artérielle, etc.), environnementales (coordonnées du lieu de vie, habitudes alimentaires et tabagiques, habitat, activités professionnelles et extra-professionnelles), socio-économiques (diplômes, consommation médicale, accès à la propriété...), biologiques et d'antécédents médicaux sont recueillies pour chaque participant. Ces bases recensent donc des informations quantitatives individuelles. La CNIL ne nous permettant pas de cartographier ces informations à partir des coordonnées géographiques du lieu de résidence des personnes (par une interpolation spatiale par exemple), il est nécessaire de réaliser une agrégation des individus au sein d'une unité géographique. Ainsi, les données ont été agrégées à l'IRIS (Îlots Regroupés pour l'Information Statistique).

Ainsi, afin d'autoriser la comparaison, les données environnementales doivent également être transformées. Nos travaux de recherche ont donc porté sur la **transformation des données géostatistiques en données agrégées.** Une méthodologie de transformation a été mise en place et est en cours de validation. La figure 27 illustre la carte obtenue après agrégation des données d'imprégnation lichénique sur la base de l'indice global de contamination multi-métallique.

La comparaison avec les dosages biologiques et un indicateur de défaveur social mis au point par l'équipe du TVES (Figure 28) est en cours.

ACTIVITÉS D'ENCADREMENT DE STAGES EN RECHERCHE

NE SONT REPORTÉS QUE LES ENCADREMENTS DES DIX DERNIÈRES ANNÉES

STAGE DE DUT

Rey Emilie (2007) Diplôme Universitaire de Technologie, spécialité génie biologique, Institut Universitaire de Technologie 'A' de Lille, Université Lille 1 Sciences et Technologies.

*Toxicité des sols contaminés en éléments traces métalliques sur la nodulation de *Trifolium repens* L.*

STAGE DE DEUST

François Flipo (2011) DEUST santé environnement Faculté des sciences biologiques et pharmaceutiques de Lille, Université Lille 2 Droit et Santé.

*Relevés botaniques sur parcelles agricoles destinées à la valorisation énergétique et analyse bibliographique de la culture de *Miscanthus*.*

STAGES DE LICENCE

Pailleux Nathalie (2004) Licence professionnelle « Diagnostic et suivi agro-environnementaux », Faculté des sciences biologiques et pharmaceutiques de Lille, Université Lille 2 Droit et Santé.

Mise en place sous système d'information géographiques (S.I.G. MapInfo, version 5.0) du projet O.C.A.D. : Outils Cartographiques d'Aide à la Décision (aide aux communes pour la gestion de leurs espaces pollués).

Decaestecker Vincent (2004) Licence professionnelle « Diagnostic et suivi agro-environnementaux », Faculté des sciences biologiques et pharmaceutiques de Lille, Université Lille 2 Droit et Santé.

*Influence de la période et de la fréquence d'exportation de la biomasse de *Medicago sativa*, *Arabidopsis halleri* et *Arrhenatherum elatius* sur la phytoextraction du zinc, du plomb et du cadmium.*

Emilie Gallois (2007) Licence ingénierie et santé publique troisième année, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Préparation à la mise en place sur le terrain de tests écotoxicologiques des sols. Analyses des contraintes.

Matthieu Dorchies (2012) Licence ingénierie et santé publique deuxième année, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Réalisation de bases de données environnementales en vue d'évaluer l'influence de l'environnement sur la santé des populations grâce aux systèmes d'information géographique

Celine Podevin (2012) Licence ingénierie et santé publique deuxième année, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Réalisation de bases de données sanitaires en vue d'évaluer l'influence de l'environnement sur la santé des populations grâce aux systèmes d'information géographique.

STAGE DE DESS

Hayet Audrey (2003) DESS Gestion des Ressources Naturelles, Université Lille 1 Sciences et Technologies.

Mémoire : Adaptation de la méthode Indice Végétal de Contamination des Sites (I.V.C.S.) aux sites dégradés.

STAGES EN RECHERCHE DE MASTER

Les noms en italique indiquent que ces étudiants ont ou sont actuellement en thèse.

Manier Nicolas (2004) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (1^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Interactions nodulation/éléments traces métalliques (ETM) : Influence des ETM sur la nodulation chez Trifolium repens L.

Manier Nicolas (2005) Master recherche (2^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Mémoire : étude des effets systémiques et génotoxiques des sols contaminés en éléments traces métalliques : caractérisation de la nodulation de Trifolium repens L. et développement d'un biomarqueur de génotoxicité.

Hayet Audrey (2006) Master recherche (2^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Variabilité des méthodologies d'évaluation des risques écologiques : conséquences sur l'évaluation des risques écologiques et perspectives d'amélioration.

Faugeras Dorothée (2007) Master professionnel Biodiversité et Écosystèmes continentaux, Université Lille 1 Sciences et Technologies.

Mémoire : Caractérisation écologique pour une évaluation des risques pour les écosystèmes des sites anthropisés du Nord – Pas de Calais et de la Lorraine.

Benoit Goussen (2009) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (1^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Étude des chaînes alimentaires sur des sols pollués et quantification du transfert des polluants par mesure de bioaccumulation.

Buisset Adeline (2009) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (1^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Représentation et référencement de données environnementales en vue de la caractérisation des effets d'une contamination.

Roussel Aurélie (2010) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (2^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Réalisation d'une évaluation des risques pour les écosystèmes (ERE) selon la méthodologie de l'US EPA sur 3 sites contaminés.

Florent Occelli (2010) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (1^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Réalisation d'une évaluation des risques pour les écosystèmes selon la méthodologie ERA UK sur un site contaminé.

Vincent Princier (2012) Master professionnel d'ingénierie et de management de la santé (1^e année), Spécialité Qualité Environnementale et Santé, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université Lille 2 Droit et Santé.

Évaluation de la contamination des sols par utilisation de biomarqueurs chez les végétaux.

ENCADREMENT D'INGÉNIEUR DE RECHERCHE

Fabien Bernard (2010) Participation aux programmes de recherche MarGeEn : mise en place de validation des essais préliminaires du test des comètes chez 2 espèces végétales : *T. repens* et *B. oleracea*.

Julie Leclercq (2011-2012) Participation aux programmes de recherche MarGeEn (suivi des paramètres morphologiques, de la bioaccumulation et de l'activité photosynthétique des espèces exposées) et PHYTENER (réalisation des inventaires floristiques).

CO-ENCADREMENT DE THÈSES

Nicolas Manier, allocataire de recherche MR, (oct. 2005 – oct. 2008)

Approche directe de l'écotoxicité des sols contaminés en éléments traces métalliques : développement de nouveaux modèles biologiques végétaux, marqueurs d'effets systémiques et génotoxiques

Directeur de thèse : Dr. F. Le Curieux (EA 2690, Institut Pasteur de Lille)

Co-directrice de thèse : Dr. A. Deram

Soutien de programme : programme PRC/ ANR et FEDER

Audrey Hayet, allocataire ADEME/RECORD (oct. 2006 – janv. 2010)

Étude de la faisabilité de l'évaluation des risques pour les écosystèmes : variabilité, incertitudes et optimisation méthodologique

Directeur de thèse : Dr. B. de Foucault (LSVF, Lille 2)

Co- directrice de thèse : Dr. A. Deram

Soutien de programme : programme RECORD

Fabien Bernard, allocataire ADEME/ IRENI Région Nord-Pas de Calais (sept. 2010 – fin 2013)

Intérêts et validation de marqueurs de génotoxicité environnementale

Directeur de thèse : Pr. F. Vandenbulcke (LGCGE, Lille 1)

Co- directrice de thèse : Dr. A. Deram

Soutien de programme : ADEME, Programme MarGeEn

Florent Occelli, allocataire École Doctorale ED 446 (sept. 2011 - 2014)

Contribution au développement d'outils cartographiques d'aide à la décision face aux risques sanitaires liés à l'environnement extérieur à l'échelle des communes

Directeur de thèse : Pr. D Cuny (LSVF, Lille 2)

Co- directrice de thèse : Dr. A. Deram

Soutien de programme : programme SIGLES

PROSPECTIVES DE RECHERCHE

Les travaux de recherche futurs vont s'appuyer et se développer suivant 2 axes complémentaires : l'étude des sols urbains et industriels (biosurveillance de la qualité des sols et analyse de leurs influences écotoxicologiques et écologiques) et l'influence de la qualité des sols sur la santé humaine.

Le sol est une matrice environnementale sous le coup de menaces historiques et actuelles de nature quantitative (ex : changement d'occupation des sols) et/ou qualitative (pollution des sols). Malgré la prise de conscience actuelle des fonctions du sol et des services écosystémiques qu'il supporte, le sol reste un milieu peu connu. Du point de vue réglementaire, alors que les milieux « air » et « eau » disposent de loi cadre¹, la directive cadre sol (2006) peine à être acceptée. De plus, en droit français, la protection des sols ne profite pas non plus d'un cadre juridique spécifique. Par exemple, *a contrario* des autres milieux, il n'existe pas à ce jour de valeur limite de contamination des sols.

Parallèlement, d'un point de vue environnemental, il existe des indicateurs de la qualité de l'air (ex : Indice atmo) ou de l'eau (ex : SEQ eau) ainsi que des indices normalisés de biosurveillance de la qualité de l'air (ex : biosurveillance lichénique) et de l'eau (ex : IBGN, IMR, IPR, IBD). Pour le milieu « sols », la caractérisation de la qualité physico-chimique est aisée et des diagnostics de qualité sont réalisés. Toutefois, ces données issues des diagnostics de qualité des sols sont la propriété du maître d'ouvrage et sont le plus souvent indisponibles. En termes de biosurveillance de la qualité des sols, aux indices *in situ* en cours de normalisation comme l'indice biologique de qualité des sols (IBQS), sont venus s'adjoindre des indices émergents². Ils sont issus d'importants programmes de recherche, soulignant ainsi un stade de développement de ces indices moins avancé par rapport à ceux des autres milieux. La biosurveillance de la qualité des sols connaît actuellement un essor notamment par le développement de normes d'échantillonnage des organismes sur sols (série de normes ISO 23611, parties 1 à 6) et par la mise en place de programmes coordonnés au niveau national (lien vers le programme ADEME, page recherche) et européen (ex : [ENVIASSO](#)). En conséquence, nos perspectives de recherche s'inscrivent dans cette optique.

Ainsi, à court terme,

❶ les travaux concernant notre espèce modèle *T. repens* en vue de son utilisation dans le test des comètes doivent être optimisés (diminution de la variabilité de la réponse biologique) et validés en vue d'aboutir à une **standardisation de ces tests** et de permettre leur utilisation en routine. Ces travaux de recherche, portant sur la mise en évidence des effets génotoxiques des contaminants clastogènes, contribuent, de plus, à répondre aux besoins d'essais biologiques dans le cadre des autorisations de mise sur le marché de nouvelles substances chimiques (Règlement Européen REACH, entré en vigueur en juillet 2007).

A moyen terme, au niveau nucléaire,

❷ **les mécanismes d'atteintes de l'ADN chez les plantes supérieures** restent relativement inconnus. Après avoir finalisé les recherches concernant les variations des profils d'expression des gènes impliqués dans le stress oxydant, nous envisageons d'orienter la poursuite de ces études vers les gènes impliqués dans les **mécanismes de réparation de l'ADN**.

Ces perspectives reposent sur la finalisation du programme MarGeEn et le projet soumis Genecotox II.

¹ Loi n° 96-1236 du 30 décembre 1996 sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie (LAURE); Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 (DCE) établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau ; Directive 2006/11/CE du 15 février 2006 (version codifiée de la directive 76/464/CEE du 4 mai 1976) concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique.

² En cours de normalisation à l'AFNOR http://www2.afnor.org/espace_normalisation/structure.aspx?commid=1951).

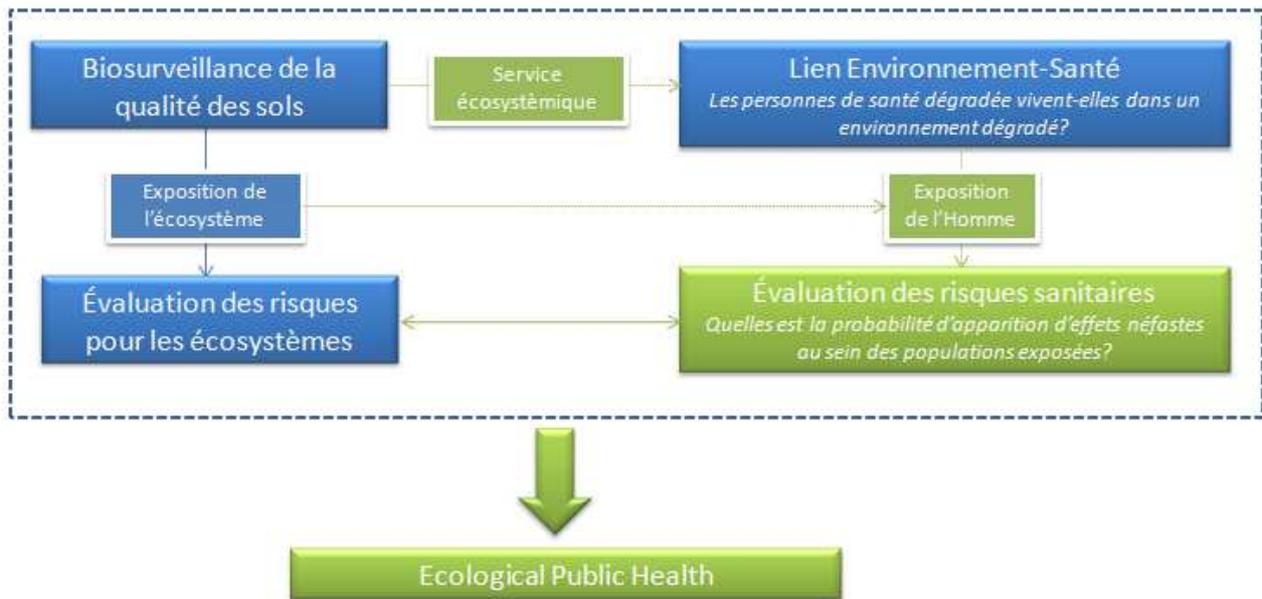


Figure 30 : perspectives et évolution de la recherche

En bleu : thématiques développées, en vert les thématiques vers lesquelles les travaux de recherche tendent à évoluer

A plus long terme, au niveau des communautés végétales, sur la base d'études écologiques de terrain, nous visons à

❸ développer des indicateurs susceptibles de **caractériser les services écosystémiques rendus par les sols**. Pour ce faire, nous proposons d'axer nos travaux sur des indices de biodiversité et nous envisageons de tester de nouveaux indices plus globaux de l'état sanitaire de l'écosystème tels que des indices du fonctionnement de l'écosystème, thématique soutenue par un programme PAN Européen (Programme SEBI 2010).

Ces perspectives reposent sur le Projet CARBUR soumis dans le cadre de l'appel à projet GESIPOL (ADEME 2013).

Ces indices répondent par définition aux objectifs de la biosurveillance de la qualité des sols. Basés sur les services écosystémiques, ils contribuent également à établir le lien entre l'Homme et la qualité de son milieu de vie. En effet, nos perspectives de recherche confirment l'orientation prise **d'étudier l'interaction de l'Homme avec son environnement** et d'observer son état de santé en fonction de la dégradation du milieu dans lequel il évolue.

Ainsi, à court terme, les travaux de recherche portant sur la **caractérisation du lien Environnement-Santé** vont être terminés❹, ce qui entend :

- développer des bases de données de contamination des milieux, ce qui permettra leur représentation cartographique mais surtout incrémentera la connaissance du milieu sol, notamment³ ;
- étudier les variabilités spatio-temporelles des données de contamination et, après avoir adapté ce test statistique aux données environnementales de nature continue, **définir des clusters environnementaux**. Ces clusters pourront être considérés dans les discussions concernant les points noirs environnementaux (robustes car statistiquement significatifs) ;
- transformer les données environnementales afin de pouvoir les comparer aux données sanitaires. Ces transformations seront d'ordre statistique (nombres de cas/données continues) et cartographiques (méthodologie d'agrégation à l'IRIS) ;
- caractériser le lien (statistiquement) entre les données sanitaires et environnementales.

A plus long terme, les recherches scientifiques dans le domaine de l'évaluation des risques tendent à **rapprocher les méthodologies pour les risques environnementaux et les risques sanitaires** (à l'heure actuelle, il s'agit de méthodologies indépendantes). Ce rapprochement entraînera une évolution de la démarche scientifique d'évaluation des risques.

❺ Ainsi, nous nous attacherons à prendre cette évolution en considération et nous pourrons, en conséquence, proposer une démarche globale d'évaluation associant risques sanitaires et environnementaux.

In fine, en intégrant les notions de services écosystémiques (services rendus à l'homme par son environnement) et des travaux de recherche concernant les sciences sociales (sur la base de collaborations transversales initiées, notamment vis-à-vis d'indicateurs socio-économiques et socio-démographiques), les travaux de recherche de caractérisation du lien environnement-santé et d'évaluations des risques sanitaires et environnementaux, évolueront vers le concept émergent au niveau international d' **Ecological Public Health** (Figure 3).

³ L'étude RECORD n°09-0812/1A (2010), soutenue par l'ADEME, concernant le bruit de fond des polluants dans l'environnement, recense les bases de données existantes pour les différents compartiments environnementaux en France. Pour les sols, neuf sont dénombrées, dont huit consacrées aux sols agricoles ou forestiers. Seule Indiquasol intègre les données de qualité des sols de toute nature obtenues par le biais d'un réseau systématique de mesure (Réseau de Mesures de la Qualité de Sols, RMQS) à l'échelle du territoire national (2200 points, tous les 16 km²) avec une périodicité décennale. A une échelle spatiale plus fine, comme celle de la ville, les données de caractérisation de la qualité des sols sont plus parcellaires.

Bibliographie

- AFNOR, 2004. Qualité des sols - Évaluation des effets génotoxiques sur végétaux supérieurs – Évaluation de la fréquence d'apparition de micronoyaux dans les racines secondaires de *Vicia faba*.
- Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, 2002. Évaluation de l'écocompatibilité des scénarios de stockage et de valorisation des déchets. ADEME édition, Angers, France.
- Ansari H.A., Ellison N.W., Reader S.M., Badaeva E.D., Friebe B., Miller T.E., Williams W.M. 1999. Molecular cytogenetic organization of 5S and 18S-26S rDNA loci in white clover (*Trifolium repens* L.) and related species. *Annal of Botany* 83:199–206.
- Bargagli R. 1998. Chemical Elements and Plant Life. In : Bargagli R., ed. Trace Elements in Terrestrial Plants - An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery. New York : Springer-Verlag.
- Beamish L.A., Osornio-Vargas A.R., Wine E. 2011. Air pollution: An environmental factor contributing to intestinal disease. *Journal of Crohn's and Colitis* 5: 279–286.
- Bradshaw A.D., 1952. Population of *Agrostis tenuis* resistant to lead and zinc poisoning. *Nature* 169: 1098.
- Breen A.P., Murphy J.A. 1995. Reaction of oxyl radicals with DNA. *Free radical in biology & medicine* 18:1033-1077.
- Broos K., Beyens H., Smolders E. 2005. Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in absence of the host plant. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 573-579.
- Centre d'études Techniques Maritimes Et Fluviales, 2001. Évaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage: Présentation et justification de la démarche. Technical Report. Ministère de l'équipement et Voies Navigables de France, France.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, 1998. Procédure d'évaluation du risque écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés. Ministère de l'Environnement et de la Faune, Gouvernement du Québec.
- Cerda H., Delincée H., Hain H., Rupp H. 1997. The DNA "Comet Assay" as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.* 375: 67–181.
- Chaudri A.M., McGrath S.P., Giller K.E., Reitz E., Sauerbeck D.R. 1993. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metal-contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 301-309.
- Chen Y.X., He Y.F., Yang Y., Yu Y.L., Zheng S.J., Tian G.M., Luo Y.M., Wong M.H. 2003. Effect of cadmium on nodulation and N₂-fixation of soybean in contaminated soils. *Chemosphere* 50: 781-787.
- Chen T-B., Zheng Y-M., Lei M., Huang Z-C., Wu H-T., Chen H., Fan K-K., Yu K., Wu X., Tian Q-Z. 2005. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere* 60 : 542–551.
- Collins A.R. 2004. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* 26: 249-61.
- Costa de Oliveira R., Ribeiro D.T., Nigro R.G., Di Mascio P., Menck C.F.M. 1992. Singlet oxygen induced mutation spectrum in mammalian cells. *Nucl. Acids Res* 20: 4319-4323.
- Cotelle S., Féraud JF. 1999. Comet assay in genetic ecotoxicology: a review. *Environ Mol Mutagen* 34(4): 246-55.
- Couchoud C, Guihenneuc C, Bayer F, Lemaitre V, Brunet P, Stengel B. 2012. On behalf of the REIN Registry Medical practice patterns and socio-economic factors may explain geographical variation of end-stage renal disease incidence. *Nephrol Dial Transplant* 27: 2312–2322.
- Cuny D. 1999. Les impacts communautaires, physiologiques et cellulaires des éléments trace métalliques sur la symbiose lichénique, mise en évidence de mécanismes de tolérance chez *Diploschistes muscorum* (Scop.) R. Sant. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, 317 p.
- Cuny D., Van Haluwyn C., Shirali P., Zerimech F., Jérôme L., Haguenoer J.M. 2004. Cellular Impact of Metal Trace Elements in Terricolous Lichen *Diploschistes muscorum* (Scop.) R. Sant. – Identification of Oxidative Stress Biomarkers. *Water, Air and Soil Pollution* 152(1-4): 55-69.
- De Marco A., De Simone C., Raglione M., Lorenzoni P. 1995. Influence of soils characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in roots tips of *Vicia faba*. *Mutation Research* 344: 5-12.
- Denayer F-O. 2000. Ecotoxicité des éléments trace métalliques chez les bryophytes. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, 317 p.
- Deram A., Petit D. 1997. Bioaccumulation du zinc, plomb et cadmium en milieux calaminaires chez – Étude de la variabilité saisonnière. *Ministère de l'enseignement et de la recherche, Région Nord – Pas-de-Calais, FEDER*, Programme de recherches concertées, 2, p 97-106.

-
- Deram A., Petit D., Robinson B., Brooks R. R., Gregg P., Van Haluwyn C. 2000. Natural and induced heavy-metal accumulation by *Arrhenatherum elatius*: Implications for phytoremediation. *Communication in Plant Science and Analytical Chemistry* 31(3-4): 413-421.
- Declercq C., Gower-Rousseau C., Vernier-Massouille G., Salleron J., Baldé M., Poirier G., Lerebours E., Dupas J-L., Merle V., Marti R., Duhamel A., Cortot A., Salomez J-L., Colombel J-F., 2010. Mapping of inflammatory bowel disease in northern France: spatial variations and relation to affluence. *Inflamm. Bowel Dis* 16(5): 807-12.
- Drazkiewicz M., Skorzynska-Polit E., Krupa Z. 2007. The redox state and activity of superoxide dismutase classes in *Arabidopsis thaliana* under cadmium or copper stress. *Chemosphere* 67: 188-193.
- Duclos S., Aller P., Jaruja P., Dizdaroglu M., Wallace S., Doublé S. 2012. Structural and biochemical studies of a plant formamidopyrimidine-DNA glycosylase reveal why eukaryotic Fpg glycosylases do not excise 8-oxoguanine. *DNA repair* 11: 714-725.
- Ducouso, A. 1985. Comparaison de populations adjacentes d'*Arrhenatherum elatius* sur sols normaux et toxiques: Analyse de la diversité génétique et du régime de la reproduction. Thèse de Doctorat, Université de Lille 1, 137 p.
- Ducouso A., Petit D., Valero M., Vernet P. 1990. Genetic variation between and within populations of a perennial grass : *Arrhenatherum elatius*. *Heredity* 65: 179-188.
- Ebbs S.D., Kochian L.V. 1997. Toxicity of zinc and copper to Brassica: Implications for phytoremediation. *Journal of Environmental Quality* 26(3): 776-781.
- Environment Agency of the United-Kingdoms, 2003. Ecological Risk Assessment: a public consultation on a framework and methods for assessing harm to ecosystems from contaminants in soil. Environment Agency, Bristol, United-Kingdoms.
- European Chemicals Bureau, 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment: Part I. EUR 20418 EN/1. Part II. EUR 20418 EN/2. European Commission - Joint Research Center, European communities.
- Ewans M.D., Dizdaroglu M., Cooke M.S. 2004. Oxidative DNA damage and disease: induction repair and significance. *Mutation Research* 567:1-61.
- Fitter A., Cuisin M. 1988. Les fleurs sauvages. Delachaux & Niestlé (eds) : Neuchatel-Paris, 320 p.
- German standard VDI 3957, 2000. German standard VDI 3957, sheet 3, 2000. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants. Standardised exposure of green cabbage. Beuth, Berlin.
- Gichner T. 2003. DNA damage induced by indirect and direct acting mutagens in catalase-deficient transgenic tobacco Cellular and acellular Comet assays. *Mutation Research* 535: 187-193.
- Gichner T., Patkova T., Szakova J., Demnerova K. 2004. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. *Mutation Research* 559: 49-57.
- Gillham D.J., Dodge A.D. 1986. Hydrogen peroxide-scavenging systems within pea chloroplasts: a quantitative study. *Planta* 167: 246-251.
- Grant W.F. 1999. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations – a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutation Research* 426: 107-112.
- Hayet A., Deram A., Couffignal B. 2009. Évaluation des risques écologiques (ERE) : vers une harmonisation des méthodes et des outils à l'échelle européenne. *Environnement, Risques et Santé* 8: 137-147.
- Hmaidat M. 1998. Effets à court terme de l'ozone atmosphérique sur certaines enzymes impliquées dans les réactions de défense chez le blé. Mémoire, faculté des études supérieures de l'Université Laval, 82 p.
- Hope B.K. 2006. An examination of ecological risk assessment and management practices. *Environment international* 32: 983-995.
- Hossain Z., Huq F. 2002. Studies on the interaction between Cd²⁺ ions and DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 90: 97-105.
- Ibekwe A.M., Angle J.S., Chaney R.L., Van-Berkum P. 1995. Sewage sludge and heavy metal effects on nodulation and nitrogen fixation of legumes. *Journal of Environmental Quality* 24: 1199-2004.
- Institut National pour la Recherche Agronomique, 2004. Évaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture. Révision 6-5, octobre 2004. Structure Scientifique Mixte (SSM), Institut National pour la Recherche Agronomique (INRA), Versailles, France.

- Jones E.S., Huges L.J., Drayton M.C., Abberton M.T., Michaelsonyeates T.P.T., Bowen C., Foster J.W. 2003. An SSR and AFLP molecular marker – based genetic map of white clover (*Trifolium repens* L.). *Plant Science* 165: 531–539.
- Kay L.E., Basile D.V., 1987. Specific peroxidase isozymes are correlated with organogenesis. *Plant Physiology* 84: 99-105.
- Kopittke P.M., Dart J.D, Menzies N.W. 2007. Toxic effects of low concentrations of Cu on nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution* 145: 309-315.
- Krige D. 1951. A statistical approach to some basic mine valuation problems on the witwatersrand. *Journal of the Chemical, Metallurgical and Mining Society* 52:119– 139.
- Lambinon J., Auquier P. 1964 La flore et la végétation des terrains calaminaires de la Wallonie septentrionale et de la Rhénanie Aixoise. Types chorologiques et groupes écologiques. *Natura Mosana* 16(4): 113-131.
- Lambinon J., De Langhe J-E., Delvosalle, L., Duvigneaud 1992. Nouvelle flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du nord de la France et des régions voisines (Ptéridophytes et spermatophytes). 4^e édition. Patrimoine du Jardin botanique national de Belgique (ed), B-1860 Meise. 1092 p.
- Languereau-Leman F., 1999. La tolérance aux métaux lourds d'*Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. ex J. & C. Presl: Influence des endophytes racinaires fongiques sur le développement végétatif et la bioaccumulation. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, 165 p.
- Le Bihan Y.V. 2009. Étude structurale et fonctionnelle de la reconnaissance et de la métabolisation de lésions puriques et pyrimidiques dans l'ADN par la formamidopyrimidine ADN glycosylase. Thèse de Doctorat en Biophysique moléculaire, Université d'Orléans and PUCVL. 275p.
- Lerner A. 2007. Aluminum Is a Potential Environmental Factor for Crohn's Disease Induction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1107(1): 329-45.
- Lin A.J., Zhang X.H., Chen M.M., CAO Q. 2007. Oxydative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *Journal of Environmental Sciences* 19: 596-602.
- Manier N. 2008. Étude d'un nouveau modèle biologique végétal (*Trifolium repens*) en écotoxicologie, applicable aux sols contaminés par les métaux lourds. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, 241 p.
- Manier N., Brulle F., Le Curieux F., Vandenbulcke F., Deram A. 2012. Biomarker measurements in *Trifolium repens* and *Eisenia fetida* to assess the toxicity of soil contaminated with landfill leachate: a microcosm study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80: 339-348.
- McKelvey-Martin V.J., Green M.H.L., Schmezer P., Pool-Zobel B.L., de Méo M.P., A. Collins. 1993. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutat. Res.* 288: 47-63.
- Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (MATE), 2000. Gestion des sites pollués, Partie 7. ed BRGM.
- Munns W.R. 2006. Assessing risks to wildlife populations from multiple stress: overview of the problem and research needs. *Ecology and Society* 11(1) : 23. [online] URL: <http://www.ecologyandsociety.org/vol11/iss1/art23/>.
- National Environment Protection Council, 1999. Guideline on Ecological Risk Assessment: Schedule B (5). NEPC, Australia.
- National Research Council, 1983. Risk assessment in federal government: managing the process. Washington, DC:National Academy Press.
- Nicks L. J., Chambers M. F. 1994. Nickel farming. *Discover*, Mag. 19 September.
- Noss R.F. 2000. High-risk ecosystems as foci for considering biodiversity and ecological integrity in ecological risk assessments. *Environmental Science and Policy* 3: 321-332.
- Obernberger T., Brunner G., Barnthaler 2006. Chemical properties of solid biofuels—significance and impact. *Biomass Bioenergy* 30: 973–982.
- Östing O., Johanson K.J. 1984. Microelectrophoretic study of radiation induced DNA damage in individual mammalian cells. *Exp. Cell Res.* 175: 184-191.
- Petit D. 1980. La végétation des terrils du Nord de la France. Ecologie, phytosociologie, dynamisme. Thèse de doctorat. Université de Lille 1, 250 p.
- Piqueras A., Olmos E., Martinez-Solano J.R., Hellin E. 1999. Cd-induced oxidative burst in tobacco BY2 cells: timecourse, subcellular location and antioxidant response. *Free Radical Research* 31:33–38.
- Prasad K.V.S.K., Saradhi P.P., Sharmila P. 1999. Concerted action of antioxydant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica Juncea*. *Environmental and Experimental Botany* 42:1-10.
- Radetski C.M., Ferrari B., Cotelle S., Masfarau J.F., Ferard J.F. 2004. Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. *Science of The Total Environment* 333: 209-216.

- Rains D.W. 1971. Lead accumulation by wild oats (*Avena fatua*) in a contaminated area. *Nature* 233: 210-211.
- Rebah F.B., Prévost D., Tyagi R.D. 2002. Growth of alfalfa in sludge-amended soils and inoculated with rhizobia produced in sludge. *Journal of Environmental Quality* 31: 1339-1348.
- RECORD / ILIS, 2005. Méthodes d'évaluation des risques environnementaux et risque acceptable : état des lieux, étude comparative. RECORD 04-0810/1A. Technical Report. Réseau de Coopération pour la Recherche sur les Déchets, Lyon-Villeurbanne, France.
- Reeves J.F., Davies S.J., Dodd N.J., Jha A.N. 2008. Hydroxyl radicals (*OH) are associated with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells. *Mut. Res.* 640: 113.
- Robinson B.H., Bañuelos G., Conesa H.M., Evangelou M.W.H., Schulin R. 2009. The Phytomanagement of Trace Elements in Soil. *Critical Reviews in Plant Sciences* 28(4): 240 - 266.
- Romero-Puertas M.C., Corpas F.J., Rodriguez-Serrano M., Gomez M., Del Rio L.A, Sandalio L.M. 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of plant Physiology* 164: 1346-1357.
- Rowe R.L., Street N.R., Taylor G. 2009. Identifying potential environmental impacts of large-scale deployment of dedicated bioenergy crops in UK. *Renewable and sustainable energy reviews* 13: 271-290.
- Rzepka M-A. 2008. Mécanismes d'accumulation et de toxicité des composés organiques volatils chez les végétaux supérieurs. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2, 251 p.
- Salt D. E., Blaylock M., Kumar N., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. 1995. Phytoremediation—a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio-Technol.* 13: 468–474.
- Semane B., Cuypers A., Smeets K., Van Bellghem F., Horemans N., Schat H., Vangronsveld J. 2007. Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: Glutathione metabolism and oxidative defence system. *Physiologia Plantarum.* 129: 519-528.
- Smirnoff, N., Gressel, J. 1988. Drought influences the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. *Journal of Experimental Botany* 39: 1097-1108.
- Solomon K.R., Sibley P. 2002. New concepts in ecological risk assessment: where do we go from. *Marine pollution bulletin* 44: 279-285.
- Sriussadaporn K., Yamamoto K., Fukushi D., Simazaki. 2003. Comparison of DNA damage detected by plant comet assay in roadside and non-roadside environments. *Mutat. Res.* 541: 31-44.
- Suter G. W. 2003. The evolution of Frameworks for Ecological risk assessment from the Red Book ancestor. *Human and Ecological Risk Assessment* 9(5): 1349-1360.
- Tanaka K., Suda Y., Kondo N., Sugahara K. 1985. Ozone tolerance and the ascorbate-dependent H₂O₂ decomposing system in chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 26:1425-1431.
- TRIADE, 2001. Guide méthodologique : Caractérisation des sédiments. Version 1 – TAUW Environnement. Compagnie Nationale du Rhône (CNR) et Ministère de L'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (MATE). France.
- US Environment Protection Agency, 1998. Guidelines for ecological risk assessment. EPA/630/R-95/002F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Valverde M., Trejo C., Rojas E. 2001. Is the capacity of lead acetate and cadmium chloride to induce genotoxic damage due to direct DNA-metal interaction? *Mutagenesis* 16: 265–270.
- Van-Rossum D., Muyotcha A., De-Hoop B.M., Van-Verseveld H.W., Stouthamer A.H., Boogerd F.C. 1994. Soil acidity in relation to groundnut – *Bradyrhizobium* symbiotic performance. *Plant and Soil* 163: 165-175.
- Voisey C.R., White D.W.R., Wigley P.J., Chilcott C.N., McGregor P.G., Woodfield D.R. 1994. Release of transgenic of transgenic white clover plants expressing *Bacillus thuringiensis* genes: an ecological perspective. *Biocontrol Science and Technology* 4: 475-481.
- Waisberg M., Joseph P., Hale B., Beyersmann D. 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis: a review. *Toxicology* 192: 95-117.
- Wang Y.J., Ho Y.S., Lo M.J., Lin J.K. 1995. Oxidation modification of DNA bases in rat liver and lung during chemical carcinogenesis and aging. *Chemico-Biological Interaction* 94: 135-145.
- White P.A., Claxton L. D. 2004. Mutagens in contaminated soil: a review. *Mutat. Res.* 567: 227–345.
- Williams W. 1987. Adaptive variation. in White clover. CAC international, Wallingford. p 219-321.

VALORISATIONS SCIENTIFIQUES

ACL : ARTICLES DANS DES REVUES INTERNATIONALES OU NATIONALES AVEC COMITÉ DE LECTURE (IF, 2012)

- Leblanc M, Petit D, Deram A, Robinson B H, Brooks R R (1999) The phytomining and environment significance of hyperaccumulation of Thallium by *Iberis intermedia* from southern France. *Economic Geology*, 94: 109-114 (IF 2,493).
- Deram A, Petit D, Robinson B, Brooks R R, Gregg P, Van Haluwyn C (2000) Natural and induced heavy-metal accumulation by *Arrhenatherum elatius*: Implications for phytoremediation. *Communication in Plant Science and Analytical Chemistry*, 31 (3-4): 413-421 (IF 0,420).
- Deram A, Petit D, Van Haluwyn C (2006) Seasonal variations of cadmium in a perennial grass species from highly contaminated soils. *Environmental Pollution*, 140 (1): 62-70 (IF 3,730).
- Deram A, Denayer F-O, Dubourguier J-C, Douay F, Petit, D, Van Haluwyn C (2007) Zinc and cadmium accumulation among and within populations of the pseudometallophytic species *Arrhenatherum elatius*: Implications for Phytoextraction. *Science of the Total Environment*, 372: 372-381 (IF 3,258).
- Deram A, Languereau-Leman F, Howsam M, Van Haluwyn C (2008) Seasonal variation of cadmium accumulation in *Arrhenatherum elatius*: Influence of mycorrhizal and endophytic fungal colonization. *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 845-848 (IF 3,654).
- Manier N, Deram A, Broos K, Denayer F-O, Van Haluwyn C (2009) White Clover nodulation index in heavy metal contaminated soils - a potential bioindicator. *Journal of Environmental Quality*, 38: 685-692 (IF 2,353).
- Manier N, Deram A, Le Curieux F, Marzin, D (2009) Comparison between new wild plant *Trifolium repens* and *Vicia faba* on their sensitivity in detecting the genotoxic potential of heavy metal solutions and heavy metal-contaminated soils. *Water Air and Soil Pollution*, 202: 343-352 (IF 1,748).
- Hayet A, Deram A, Couffignal B (2009) Évaluation des risques écologiques (ERE) : vers une harmonisation des méthodes et des outils à l'échelle européenne. *Environnement, Risques et Santé*, 8 : 137-147 (IF 0,688).
- Deram A, Languereau F, Van Haluwyn (2011) Mycorrhizal and endophytic fungal colonization in *Arrhenatherum elatius* L. roots according to the soil contamination in heavy metals. *Soil and Sediment contamination An international journal*, 19(1): 114-127 (IF 0,509).
- Evangelou M, Deram A, Gogos A, Studer B, Schulin R (2012) Assessment of suitability of tree species for the production of biomass on trace element contaminated soils. *Journal of Hazard Materials*, 209-210: 233-239 (IF 4,679).
- Manier N, Brulle F, Le Curieux F, Vandebulcke F, Deram A (2012) Biomarker measurements in *Trifolium repens* and *Eisenia fetida* to assess the toxicity of soil contaminated with landfill leachate: a microcosm study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80: 339-348. (IF 2,572).

<i>Source ISI web of knowledge 2012</i> Impact factor médian en science du sol : 1, 553 ; Impact factor médian en science végétale : 1,295 Impact factor médian en sciences environnementales : 1,748
--

Articles soumis 1^{er} octobre 2013

- Deram A, Leclercq J, Dumez S, Talahari S, Bernard F, Devred I, Lanier C, Lemière S, Vandebulcke F, Platel A, Nesslany F, Cuny D (soumis) On the use of DNA-glycosylases to increase the comet assay sensitivity in *Trifolium repens* and *Brassica oleracea*. *Mutation research*
- Deram A (soumis) Effects of harvest strategy on zinc and cadmium bioaccumulation in *Arrhenatherum elatius* (L.) – Implication to phytoextraction efficiency. *International Journal of Phytoremediation*
- Occelli F, Deram A, Cuny M-A, Cuny D (accepté) Analyse spatiale de l'imprégnation des lichens épiphytes par les éléments traces métalliques en région Nord – Pas de Calais. *Actes ERSI*
- Occelli F, Cuny M-A, Devred I, Quarré S, Deram A, Cuny D (soumis) étude de l'imprégnation de l'environnement de trois bassins de vie de la Région Nord-pas de Calais par les éléments traces métalliques – vers une nouvelle utilisation des données de biosurveillance lichénique. *Pollution atmosphérique*
- Lanier C, Bernard F, Dumez S, Leclercq J, Lemière S, Vandebulcke F, Nesslany F, Platel A, Devred I, Cuny D, Deram A (soumis) DNA damage, Ascorbate and Guaiacol peroxidase activity in *Trifolium repens* in response to trace element stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*
- Bernard F, Brulle F, Dumez S, Cocquerelle C, Lemière S, Platel A, Nesslany F, Cuny D, Deram A, Vandebulcke F (soumis) Identification, cloning and gene expression study of the genes involved in oxidative stress in three soil ecotoxicology important test species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*

ACLN : ARTICLES DANS DES REVUES INTERNATIONALES OU NATIONALES NON RÉFÉRENCÉES AVEC COMITÉ DE LECTURE

Hayet A, de Foucault B, Douay F, Deram A (accepté) Impact of *Miscanthus* on plant biodiversity of soil contaminated with heavy metals. *Étude et Gestion des sols*.

OS : OUVRAGES SCIENTIFIQUES (OU CHAPITRES DE CES OUVRAGES)

Anderson C, Deram A, Petit D, Brooks R.R, Stewart R, Simcock R (1999) Induced hyperaccumulation : metal movement and problems. In: WW Wenzel, DC Adriano, B Alloway, HE Doner, C Keller, NW Lepp, M Mench, R Naidu, GM Pierzynski [Eds.], 5th international conference on the biogeochemistry of trace elements, 1 (pp. 122-123). Vienna, Austria.

Deram A, Anderson C, Robinson B, Van Haluwyn C, Brooks R R, Petit D (1999) Heavy metal accumulation in metallicolous and non metallicolous populations of *Arrhenatherum elatius*. In: WW Wenzel, DC Adriano, B Alloway, HE Doner, C Keller, NW Lepp, M Mench, R Naidu, GM Pierzynski [Eds.], 5th international conference on the biogeochemistry of trace elements, 2 (pp. 870-871). Vienna, Austria.

Anderson Ch, Deram A, Petit D, Brooks R.R, Stewart R, Simcock R (2001) Induced hyperaccumulation : metal movement and problems. In: I.K. Iskandar & M.B. Kirkham [Eds.], Trace Elements in soils: Bioavailability, Flux and Transfer, 4 (pp. 63-76). Lewis publishers.

OUVRAGES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

Bert V, Deram A (2000) Guide des Phytotechnologies. Utilisation des plantes dans la réhabilitation et la dépollution des sols contaminés par les métaux lourds. 154 p. ISBN 2-9514738-o-x.

Dubourguier H-C, Petit D, Deram A, Logeay C (2001) Le phytomanagement – Eléments de synthèse. Les cahiers techniques du Pôle de Compétence Sites et Sédiments Pollués en Région Nord – Pas de Calais, 49p.

Lacroix A, Deram A (2001) Enlèvement des sédiments - Guide Méthodologique : Caractérisation des sédiments - Projet de curage/ gestion patrimoniale. Comité Technique National de Gestion des Sédiments (CTNGS), mis en place par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. http://www.eau-artois-picardie.fr/IMG/pdf/etude_12.pdf

Hayet A, Deram A, Van Staevel E (2006) Évaluation et acceptabilité des risques environnementaux. Méthodes d'évaluation, analyse comparative ; Études sociologiques des représentations des risques, synthèse bibliographique. RECORD (www.record-net.org). 227p.

Deram A, Hayet A, Van Staevel E (2006) Évaluation et acceptabilité des risques environnementaux. Méthodes d'évaluation, analyse comparative. RECORD 04-0810//0811/1A, 780 p. http://www.record-net.org/record/etudesdownload/record04-0810-0811_1A.pdf

Hayet A, Deram A (accepté 2013) Application des méthodologies d'évaluation des risques pour les écosystèmes par leur intercomparaison et leur application *in situ*, RECORD 08-1014/3A, 430 p.

INV : CONFÉRENCES DONNÉES À L'INVITATION DU COMITÉ D'ORGANISATION

Deram A (2010) Comparaison des méthodologies d'évaluation des risques pour les écosystèmes suite à leur application *in situ*. Journée de restitution RECORD, 1^{er} juillet 2010, Auditorium GDF SUEZ, Paris France.

Hayet A, Deram A (2011) La biodiversité et les indicateurs écologiques comme outils d'évaluation des écosystèmes terrestres liés à des terrains contaminés. Actes du séminaire "Quels outils pour évaluer les risques pour les écosystèmes terrestres liés à des terrains contaminés ». 27 & 28 septembre 2011, Paris. 4p [en ligne : <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=-1&cid=96&m=3&catid=10143>] (animation atelier)

ACT : COMMUNICATIONS ORALES AVEC ACTES DANS UN CONGRÈS INTERNATIONAL OU NATIONAL

Deram A, Anderson C, Robinson B, Van Haluwyn C, Brooks R R, Petit D (1999) Heavy metal accumulation in metallicolous and non metallicolous populations of *Arrhenatherum elatius*. 5th international conference on the biogeochemistry of trace elements, Vienna, Austria.

Manier N, Deram A, Denayer F-O, Van Haluwyn C (2005) Biological models for Environmental and Health risks assessment ; Use of plants in studying the impacts of contaminated soils. 5th International Conference-Exhibition on Soil, Sediment and Water (INTERSOL 2005), Paris, France.

Faburé J, Garçon G, Denayer F-O, Shirali P, Deram A, Cuny D, Gaudry A, Van Haluwyn C, Bernard N (2006) Biomarkers of oxidative stress induced by airborne matter and associated heavy metals in two bryophyte species. 4th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (with emphasis on trace elements). 17 - 21 september, Agios Nikalaos, Crète.

Hayet A, Deram A (2009) Méthodes d'évaluation des risques écologiques (ERE) 2eme rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués, 20 - 21 octobre 2009, Maison de la chimie, Paris, France.

Evangelou M, Deram A, Gogos A, Schulin R (2010) Assessment of the tree species willow, poplar and birch for BCL (Biomass production on Contaminated Land). 7th international conference on phytotechnologies; Phytotechnologies in the 21st century : Remediation-Energy-Health-Sustainability, 26 - 29 september 2010, University of Parma, Parma, Italy.

Pourrut B, Leprière A, Therssen E, Deram A, Shirali P, Cazier F, Richard A, Scheifler R, Blarel J, Douay F, and the PHYTENER Team (2011) The PHYTENER project: development of phytostabilisation combined with energy crop production on agricultural soils highly contaminated by metals. European Geosciences Union General Assembly 2011, 3 - 8 april Vol. 13, EGU2011-9395, 2011, Vienna, Austria.

Douay F, Leprière A, Therssen E, Deram A, Shirali P, Cazier F, Richard A, Scheifler R, Statnik C, Muchembled J, Blarel J, Lefevre B. (2011) Evaluation d'un mode de gestion durable de sols agricoles fortement contaminés par les métaux. Geo Reg, 24 – 27 octobre 2011, Villeneuve d'Ascq, France.

Lemière S, Bernard F, Vandenbulcke F, Nessler F, Platel A, Dumez S, Cuny D, Deram A (2011) Complémentarité des modèles *Brassica*, *Eisenia* et *Trifolium* pour l'évaluation de la génotoxicité environnementale des sols. 11èmes Journées d'Etude des Sols, 19 - 23 mars 2012, Versailles, France.

Deram A, Bernard F, Lemière S, Vandenbulcke F, Nessler F, Platel A, Dumez S, Cuny D (2013) Marqueurs de génotoxicité environnementales pour l'évaluation des risques de matrices polycontaminées. Rencontres scientifiques – Restitution PNR EST : Pollution des milieux / impact sur la santé. Contaminants de l'environnement : air et eau, 16 avril 2013, Maison-Alfort, France.

Lemière S, Deram A, Bernard F, Dumez S, Nessler F, Platel A, Delattre M, Cuny D, Vandenbulcke F (2013) Hazards of anthropic contaminated soils: what could we learn from environmental genotoxicity markers? Society of Environmental Toxicology and Chemistry Europ 23rd Annual meeting, 12 – 16 mai 2013, Glasgow, Scotland.

Lemière S, Bernard F, Dumez S, Nesslany F, Platel A, Cuny D, Vandebulcke F, Deram A (2013) Comet assay in higher plants and invertebrate to assess the genotoxicity of anthropic contaminated soils. 29th International Conference of the Society of Environmental Geochemistry and Health, 8 - 12 juillet 2013, Toulouse, France.

COM : COMMUNICATIONS ORALES SANS ACTES DANS UN CONGRÈS INTERNATIONAL OU NATIONAL

Deram A (2004). Bioaccumulation du cadmium chez *Arrhenatherum elatius* –Implication pour la phytoremédiation. Séminaire de travail du Programme de Recherches Concertées « Environnement et activités humaines, Évaluation d'un site pollué en vue de sa requalification » Université des Sciences et Technologies de Lille, 7 - 8 juillet 2004, Villeneuve d'Ascq, France.

Bernard F, Deram A, Vandebulcke F (2011) Intérêt et validation de marqueurs de génotoxicité environnementale. Journées Recherche SFUPS ADEME, 13 - 14 Janvier 2011, Angers, France.

Bernard F, Deram A, Lemière S, Cuny D, Vandebulcke F (2011) Intérêt et validation de marqueurs de génotoxicité environnementale. Journée de l'Institut de Recherche Pluridisciplinaire en Sciences de l'Environnement, 18 Mars 2011, Lille, France.

Bernard F, Lemière S, Cuny D, Vandebulcke F, Deram A (2011) Marqueurs de génotoxicité environnementale pour l'évaluation de la qualité des sols - Premiers résultats du programme MarGeEn (ANSES, ADEME). Colloque Société d'Ecotoxicologie fondamentale et appliquée, 22 juin 2011, Paris, France.

Bernard F, Deram A, Lemière S, Cuny D, Vandebulcke F. Intérêt et validation de marqueurs de génotoxicité environnementale : premiers résultats. Journée de l'Institut de Recherche Pluridisciplinaire en Sciences de l'Environnement, 16 Mars 2012, Lille, France.

Ocelli F, Deram A, Glowacki F-X, Cuny D (2013) Analyse cartographique de l'incidence de néphropathie dans le Nord – Pas de Calais : le Registre REIN. Conférence du Groupement des Néphrologues Francophones de Belgique, 7 mars, 2013, Tournai, Belgique.

Ocelli F, Deram A, Cuny D (2013) Application à l'évaluation de l'imprégnation en éléments traces métalliques à l'aide des lichens épiphytes. Conférence IRENI, 24 mai 2013, Dunkerque, France.

AFF : COMMUNICATIONS PAR AFFICHE DANS UN CONGRÈS INTERNATIONAL OU NATIONAL

Deram A, Petit D (1997) Ecology of bioaccumulation in *Arrhenatherum elatius* populations - Application to phytoremediation of zinc, lead and cadmium contaminated soils. *Society for Experimental Biology annual meeting*, Canterbury, U.K.

Scaps P, Grelle C, Vandebulcke F, Fabre M-C, Deram A, Descamps M, Petit D (2000) Lead bioavailability to soil invertebrate fauna and perennial grass. Gargano, Italia.

Deram A, Desnoyer C, Derouet P, Douay F, Bert V, Imbert T (2002) La phytoremédiation du plomb et du cadmium : des tests de laboratoire aux essais pilotes - Application à deux sites contaminés par une pollution d'origine industrielle. *Premier colloque ADEME sur les sites et sols contaminés*, Paris, France.

Deram A, Denayer F-O, Manier N, Van Haluwyn C (2005) Seasonal variations of cadmium and zinc in *Arrhenatherum elatius* L., a perennial grass species from highly contaminated soils, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, Lille 2005, France.

Manier N, Deram A, Denayer F-O, Van Haluwyn C (2005) Effect of contaminated soil by heavy metal on *Trifolium repens* L. nodulation process, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, Lille 2005, France.

Denayer F-O, Cuny D, Deram A, Devred I, Van Haluwyn C (2005) Bryotechnology with *Ceratodon purpureus*, a new model for environmental assessment of heavy metal ecotoxicity, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, Lille 2005, France.

-
- Manier N, Deram A, Denayer F-O, Van Haluwyn C (2006) Ecotoxicity of contaminated soil with Trace Metal elements: effect on *Trifolium repens* L. nodulation process, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, La Haye 2006, The Netherlands.
- Manier N, Deram A, Denayer F-O, Van Haluwyn C (2006) Ecotoxicity of contaminated soils with clastogenic compounds : development of the micronucleus assay on *Trifolium repens* L. through a direct approach, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, La Haye 2006, The Netherlands.
- Hayet A, Deram A, Denayer F-O, RE.CO.R.D., Van Haluwyn C (2006) Ecological Risk Assessment (ERA): variability of nine international methodologies and its consequences on results and application of the ERA, *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, La Haye 2006, The Netherlands.
- Hayet A, Deram A, Denayer F-O, Perrodin Y (2007). Ecological surveys and relevant tool to improve the initiation of Ecological Risk Assessment. *Society of Environmental Toxicology And Chemistry*, Porto 2007, Portugal.
- Bernard F, Lemièrre S, Cuny D, Vandebulcke F, Deram A (2011) Sensibilité du test des comètes pour la mise en évidence de la génotoxicité des contaminations des sols en faibles doses. *Colloque IRENI*, 8 juillet 2011, Douai, France.
- Lemièrre S, Delattre M, Leclercq J, Occeli F, Bernard F, Dumez S, Nesslany F, Platel A, Cuny D, Deram A, Vandebulcke F (2012) Génotoxicité environnementale du cadmium et du plomb, seuls ou en mélange, en sol naturel, pour le ver *Eisenia fetida*, Colloque 2012 de la *Société Française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée*, 4 - 5 juillet 2012, Lyon, France.
- Hayet A, de Foucault B, Douay F, Deram A (2012) Impact sur la biodiversité de *Miscanthus giganteus* cultivé sur des sols contaminés par des ETM. *11èmes journées d'étude des sols*, INRA de Versailles, 21 - 22 mars 2012, Versailles, France.
- Occelli F, Cuny M-A, Deram A, Cuny D (2012) Croisement de données environnementales et sanitaires grâce à un Système d'Information Géographique (SIG) en vue d'évaluer les liens entre la pollution atmosphérique et la santé humaine à l'échelle de la région Nord – Pas de Calais, *Journées Interdisciplinaires de la Qualité de l'Air (JIQA)*, APPA Nord – Pas de Calais et Université Lille Droit et Santé, 2 - 3 février 2012, Lille, France.
- Lemièrre S, Delattre M, Leclercq J, Dumez S, Nesslany F, Platel A, Cuny D, Deram A, Vandebulcke F (2013) Environmental genotoxicity of cadmium and/or lead in natural soil, for the earthworm, *Eisenia fetida*. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry Europ 23rd Annual meeting*, 12 – 16 mai 2013, Glasgow, Scotland.
- Deram A, Bernard F, Dumez S, Lanier C, Lemièrre S, Platel A, Nesslany F, Vandebulcke F, Cuny D. Higher plants to assess the genotoxicity of soil. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry Europ 23rd Annual meeting*, 12 – 16 mai 2013, Glasgow, Scotland.
- Bernard F, Lemièrre S, Dumez S, Brulle F, Coquerelle C, Platel A, Nesslany F, Cuny D, Deram A, Vandebulcke F (2013) Gene expression analysis of the genes involved in oxidative stress to explain DNA damages in organisms exposed to cadmium/lead contaminated soils. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry Europ 23rd Annual meeting*, 12 – 16 mai 2013, Glasgow, Scotland.