

**Master SEME
Sol Eau Milieux Environnement**

MEMOIRE DE STAGE

**Contamination aux HAP
d'un sol de culture et phytodégradation**



Maître de stage : **Annabelle AUSTRUY**

Norine KHEDIM

Tuteur pédagogique : **Mathieu THEVENOT**

Promotion 2017-2018

Les données, les interprétations et les images présentes dans ce rapport sont la propriété de l'Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions, libres d'accès et d'utilisation à condition de citer les références du rapport et d'indiquer la source des données, photos, et graphiques ("Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions - Fos sur Mer").

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

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

Pour citer ce rapport :

Norine Khedim. Contamination aux HAP d'un sol de culture et phytodégradation. Institut Écocitoyen pour la Connaissance des Pollutions, 2018. 45 pp.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Philippe Amiotte Suchet ainsi que Mathieu Thevenot pour leur disponibilité et leur intérêt pour ce sujet de stage. Je remercie aussi ce dernier d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie Philippe Chamaret, Directeur de l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions, de m'avoir permis de réaliser ce stage enrichissant dans sa structure et pour son accueil chaleureux.

Je souhaite remercier chaleureusement Annabelle Austruy, chargée de mission « Sols-Ecotoxicité » à l'Institut Ecocitoyen, pour son encadrement, son implication et sa confiance tout au long de ce stage. Travailler à ses côtés m'a beaucoup apporté. Merci aussi pour son accueil chaleureux dès mon arrivée et d'avoir gentiment accepté de covoiturer avec moi de nombreux matins.

Je remercie Bernard Angeletti et Jean-Paul Ambrosi du Centre Européen de Recherche et d'Enseignement de Géosciences de l'Environnement pour leur encadrement lors de mes passages dans leur laboratoire.

Mes remerciements vont aussi à Emmanuel Wafo pour son implication et l'encadrement enrichissant qu'il a pris le temps de me prodiguer lors de mes passages au laboratoire d'Analyses Chimiques de la Faculté de Pharmacie de la Timone à Marseille. Merci pour sa gentillesse et sa patience.

J'adresse également mes remerciements à Stephan Criquet de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale, pour sa contribution et son encadrement lors de mon passage dans son laboratoire.

De manière générale, je remercie tous les membres de l'équipe de l'Institut Ecocitoyen, pour leur gentillesse et leur soutien. Merci à Jocelyne Urban, Julien Dron, Sandra Alastra, Charles-Enzo Dauphin, Gautier Revenko, Véronique Granier et Sylvaine Goitx. En particulier, je remercie amicalement ma « co-bureau » Marine Périot-Rivieccio pour avoir su supporter (et apprécier ?) mes bizarreries, même si j'en ai autant à son service. Merci pour ta bonne humeur communicative !

Merci enfin aux jardiniers des jardins du Poti'Rhône pour leur bon accueil et leur intérêt pour cette étude, en particulier, je remercie Bernard pour sa gentillesse et son investissement dans l'entretien et la mise en place des parcelles expérimentales.

AVANT-PROPOS

Fondé en 2010 à Fos-sur-Mer, commune du Territoire Istres-Ouest-Provence (CT5 Métropole Aix-Marseille-Provence), l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions (IECP) est une association implantée au cœur de l'une des plus grandes zones industrialo-portuaires d'Europe. La création de l'Institut en 2010 découle de l'émergence de problématiques de pollutions liées à l'expansion de cette zone industrielle. L'implantation d'un incinérateur pour le traitement des ordures ménagères de Marseille a notamment provoqué l'apparition de questionnements vis-à-vis de la qualité de l'air, et a poussé les élus de l'intercommunalité SAN Ouest-Provence, aujourd'hui MAMP CT5, à doter le territoire d'une politique scientifique adaptée, au travers de la création de l'IECP. Aujourd'hui, ses principales missions concernent l'acquisition de connaissances scientifiques autour des questions environnementales et sanitaires, la transmission de ces savoirs et l'organisation d'actions de surveillance et de protection de l'environnement.

L'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions emploie de manière permanente neuf personnes. Son conseil d'administration se compose de l'ensemble des acteurs du territoire : représentants de collectivités, associations, industriels, organismes de recherche et personnels de santé. Son conseil scientifique, composé de chercheurs issus d'organismes de recherche publics et de professionnels de la santé, se réunit chaque année pour veiller à la cohérence des études et des actions menées et pour contribuer à l'émergence de nouvelles connaissances. L'IECP tire son financement de la Métropole Aix-Marseille-Provence ainsi que de la commune de Fos-sur-Mer et d'appels à projets (Ministère de l'Environnement de l'Énergie et de la Mer, DREAL, ANR, ADEME, ...).

Dans un contexte de fortes tensions sociales, environnementales et économiques entre décideurs, citoyens et industriels, l'IECP se positionne en tant qu'organe scientifique indépendant cherchant à faire progresser la connaissance des pollutions et de leurs effets. Les sujets qui y sont étudiés s'articulent autour de 5 thématiques clés :

- Pollution atmosphérique et qualité de l'air ;
- Pollution et qualité des sols ;
- Milieu marin et eaux continentales ;
- Impacts sur la santé des populations ;
- Observatoire Citoyen de l'Environnement.

Ce stage se positionne dans le cadre d'une étude centrée sur la thématique de la qualité des sols.

SOMMAIRE

1. Introduction.....	1
2. Étude bibliographique.....	2
2.1 Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).....	2
2.1.1 Propriétés physico-chimiques et toxicité des HAP.....	2
2.1.2 Dynamique des HAP dans les sols.....	3
2.2 Phytoremédiation de sols contaminés aux HAP.....	4
2.2.1 Applications de la phytoremédiation.....	4
2.2.3 La phytodégradation.....	6
3. Matériels et méthodes.....	7
3.1 Site d'étude et dispositif expérimental.....	7
3.1.1 Zone d'étude.....	7
3.1.2 Dispositif expérimental.....	7
3.1.2.1 Prélèvements des matrices environnementales à T0.....	8
3.1.2.2 Prélèvements des matrices environnementales à T1.....	9
3.2 Analyses.....	9
3.2.1 Prétraitement des échantillons.....	9
3.2.1.1 Prétraitement des échantillons de sol.....	9
3.2.1.2 Prétraitement des échantillons de végétaux.....	10
3.2.2 Analyses des paramètres physico-chimiques.....	10
3.3.3 Analyses des HAP.....	10
3.3.3.1 Sols.....	10
3.3.3.1.1 Quantification des HAP totaux.....	10
3.3.3.1.2 Quantification des HAP lixiviables.....	12
3.3.3.2 Végétaux.....	13
3.3.3.3 Eau et retombées atmosphériques.....	13
3.3.3.3.1 Quantification des HAP dans les eaux du Rhône.....	13
3.3.3.3.2 Quantification des HAP dans les TSP.....	13
3.3.4 Analyses de l'activité biologique.....	13
3.3.4.1 Mesure du flux de CO ₂	13
3.3.4.2 Activité métabolique.....	15
3.3 Traitements statistiques.....	16
4. Résultats et discussions.....	17
4.1 Type de sol.....	17
4.1.1 Caractéristiques hydrogéologiques.....	17
4.1.2 Paramètres pédochimiques.....	17
4.2 Contamination aux HAP et origines.....	18
4.2.1 Contamination du sol.....	18
4.2.1.1 Répartition des teneurs en HAP _{tot}	18

4.2.1.2 Composition des HAP dans le sol.....	20
4.2.1.3 Origine potentielle des HAP.....	21
4.2.2 Apports atmosphériques et hydriques.....	22
4.2.2.1 Le Rhône.....	22
4.2.2.2 Les particules totales en suspension (TSP).....	22
4.3 Phytoremédiation du sol contaminé.....	24
4.3.1 Evolution des paramètres pédochimiques et phytodégradation.....	24
4.3.3 Evolution de l'activité biologique du sol.....	29
4.3.4 Bioaccumulation des HAP dans les végétaux.....	31
4.3.5 Evaluation du procédé de phytodégradation des HAP.....	32
5. Conclusions et perspectives.....	34
Annexes.....	42

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation conceptuelle des facteurs influençant la disponibilité des HAP (Barnier, 2009).....	4
Figure 2 : Représentation des différentes techniques de phytoremédiation (Parmar, 2015).....	5
Figure 3 : Localisation du site d'étude (fond de carte : Esri World, 2018).....	7
Figure 4 : Dispositif expérimental ; a) photo aérienne (BD ORTHO ® 5 m , 2015) ; b) organisation du dispositif ; c) photo du dispositif.....	8
Figure 5 : Purification des extraits sur mini-colonne C18 et rampe d'extraction munie des mini-colonnes, des réservoirs et des fioles de 5 mL.....	11
Figure 6 : Exemple de chromatogramme de l'analyse d'une solution étalon.....	12
Figure 7 : Schéma d'un évaporateur rotatif (Bernard et al., 2012).....	12
Figure 8 : LI-COR 6400-09.....	14
Figure 9 : Organisation des microplaques Eco-plaques 96 puits.....	15
Figure 10 : Carte géologique de la zone d'étude (BRGM, 2017).....	17
Figure 11 : Répartition des teneurs en HAP _{tot} dans le profil de sol.....	19
Figure 12 : Répartition relative des différents HAP dans les horizons de sol.....	20
Figure 13: Evolution du rapport fHAP/FHAP avec la profondeur.....	21
Figure 14 : Composition des TSP collectées sur différents sites : jardins de Port-Saint-Louis-du-Rhône (TSP-PSL), à proximité d'une raffinerie à Port de Bouc (TSP-PdB) et à Fos-sur-Mer (TSP-FOS).....	23
Figure 15 : Estimation du flux de dépôts atmosphériques en HAP sur différents sites : jardins de Port-Saint-Louis-du-Rhône (TSP-PSL), à proximité d'une raffinerie à Port de Bouc (TSP-PdB) et à Fos-sur-Mer (TSP-FOS).....	23
Figure 16: Composition des HAP retrouvés à la surface des sols de jardins et dans les TSP.....	24
Figure 17 : Comparaison des concentrations totales en HAP dans le sol à T0 (N = 4) et à T1 (N = 6) pour la culture de luzerne, la polyculture de plantes fourragères (mélange) et le sol nu (test de Wilcoxon ; p < 0,05).....	26
Figure 18 : Comparaison des concentrations des 16 HAP dans le sol à T0 (N = 4) et à T1 (N = 6) pour a. la culture de luzerne ; b. la polyculture de plantes fourragères ; c. le sol nu (test de Wilcoxon ; p < 0,05).....	28
Figure 19 : Comparaison des concentrations totales en HAP dans le sol nu à T0 (N = 4) et à T1 (N = 2) dans le pot sol nu.....	29
Figure 20 : Comparaison des concentrations des 16 HAP dans le sol nu à T0 (N = 4) et à T1 (N = 2) dans le pot sol nu.....	29
Figure 21 : Représentation des AWCD obtenus pour le sol nu (N = 4), le sol sous luzerne (N = 4) et le sol sous mélange (mlg) de plantes fourragères (N = 4) à T0 et à T1 a. estimé à 48 h pour les bactéries, b. et à 68 h pour les champignons.....	30
Figure 22 : Répartition des teneurs en HAP retrouvées dans les tissus végétaux du couvert de luzerne (N = 6), du couvert de mélange de plantes fourragères (N = 12), du couvert de luzerne en pot + terreau (TV luz) (N = 2) et du couvert de mélange de plantes fourragères luzerne en pot + terreau (TV mlg) (N = 2).....	31
Figure 23 : Résultats de l'analyse en composante principale (ACP) des différents paramètres physico-chimiques du sol, de la concentration des 16 HAP présents dans le sol et de l'AWCD mesuré pour les bactéries à 48 h (N = 6).....	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA (INERIS, 2003).....	2
Tableau 2 : Prélèvements réalisés sur la carotte de sol à T0.....	8
Tableau 3 : Paramètres pédochimiques analysés.....	10
Tableau 4 : Paramètres pédochimiques du profil de sol.....	18
Tableau 5 : Paramètres pédochimiques du sol contrôle (terreau et terre végétale TV) et du sol de surface des différentes parcelles de culture.....	18
Tableau 6 : Teneur en HAP dans les horizons de sol en µg/kg MS.....	20
Tableau 7 : Récapitulatif des quantités totales en HAP retrouvées dans les TSP et des dépôts atmosphériques en HAP _{tot} sur les différents sites comparés.....	22
Tableau 8 : Paramètres pédochimiques du sol aux différentes conditions.....	25
Tableau 9 : Présentation des résultats de mesures de respiration, de température et d'humidité du sol.....	30

GLOSSAIRE

Ace : Acénaphène
ACP : Analyse en composante principale
Acy : Acénaphylène
AFNOR : Association française de normalisation
Ant : Anthracène
AWCD : Average well color development
BaA : Benzo(a)anthracène
BaP : Benzo(a)pyrène
BbF : Benzo(b)fluoranthène
BkF : Benzo(k)fluoranthène
Bpe : Benzo(ghi)pérylène
BRGM : Bureau de recherches géologiques et minières
CEC : Capacité d'échange cationique
Chr : Chrysène
COFRAC : Comité français d'accréditation
Corg : Carbone organique
COV : Composés organiques volatils
DBA : Dibenzo(ah)anthracène
Eq : Equation
fHAP : HAP de faibles masses moléculaires
FHAP : HAP de fortes masses moléculaires
FlA : Fluoranthène
Flu : Fluorène
GC-MS : Gas chromatography-mass spectrometry
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HAPtot : HAP totaux
HDPE : Polyéthylène haute densité
HR : Humidité relative
IECP : Institut écocitoyen pour la connaissance des pollutions
INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques
Ipy : Indéno(1,2,3, cd)pyrène
Mlg : mélange de plantes fourragères
MO : Matière organique
MS : Masse sèche
Nap : Naphtalène
Ntot : Azote total
OMS : Organisation mondiale de la santé
PCB : Polychlorobiphényles
PCDD : Polychlorodibenzo-p-dioxines
PCDF : Polychlorodibenzo-furanes
pH : Potentiel hydrogène
Phe : Phénanthrène
PVC : Polychlorure de vinyle
Pyr : Pyrène
SIM : Mode d'acquisition des ions sélectifs
T0 : temps initial
T1 : temps 1
TSP : Particules totales en suspension
TSP-FOS : Particules totales en suspension collectées à Fos-sur-Mer
TSP-PdB : Particules totales en suspension collectées à Port de Bouc
TSP-PSL : Particules totales en suspension collectées aux jardins de Port-Saint-Louis-du-Rhône
TV : Terreau + terre végétale
US-EPA : Agence américaine de protection de l'environnement
VCI : Valeurs de constat d'impact
ZIP : Zone industrialo-portuaire

1. Introduction

Du fait de ses activités, l'homme libère des déchets et génère des substances polluantes qui affectent de manière négative les différentes matrices environnementales. Suivant leurs propriétés physico-chimiques, ces substances s'accumulent dans l'atmosphère, dans les masses d'eau, ou dans les sols (Shayler et al., 2018). Certains polluants ont aussi la propriété d'entrer dans la chaîne trophique, via des processus de bioaccumulation et de bioamplification (Colaco et al., 2007). Au quotidien, l'homme est confronté à ces substances par différentes voies d'exposition, que sont notamment l'ingestion, l'inhalation ou le contact direct. Ces polluants générés en grande quantité par l'homme posent de sérieux problèmes de santé publique et environnementaux. Afin d'assurer la durabilité de l'environnement et une meilleure santé des populations, il est devenu fondamental de s'intéresser à ces questions de dynamique des polluants et d'améliorer les connaissances dans ce domaine (OCDE, 2008).

Parmi les compartiments de l'environnement concernés par ces problématiques de contamination, les sols constituent un enjeu particulièrement préoccupant en raison de la persistance et de la toxicité des substances impliquées. Ces substances sont de deux types. Le premier regroupe les polluants inorganiques, dont notamment les métaux et métalloïdes. Présents naturellement dans les sols pour la plupart à l'état de traces, ils peuvent être apportés par différentes sources anthropiques (industrielle, urbaine ou agricole). Le second type de polluants regroupe les polluants organiques. Parmi eux, on retrouve les Polychlorobiphényles (PCB), les dioxines et furanes (PCDD-F), les Composés Organiques Volatils (COV), les pesticides ainsi que les hydrocarbures totaux avec les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Ces derniers sont naturellement présents dans les combustibles fossiles et certains sont cancérigènes, mutagènes et génotoxiques. L'homme, en employant des procédés comme la combustion, la pyrolyse et la cokéfaction, a largement contribué à la contamination des sols en HAP (INERIS, 2003).

Certaines zones sont particulièrement exposées à ces pollutions. En France, la Zone industrialoportuaire (ZIP) de Fos, qui s'étend sur plus de 10 000 ha et qui se situe dans la Métropole Aix-Marseille Provence, constitue la plus grande ZIP du Sud de l'Europe. Cette zone abrite de nombreux sites industriels, dont des industries chimiques, pétrochimiques, sidérurgiques, métallurgiques, gazières et de traitement de déchets. Ces activités sont émettrices d'un grand nombre de polluants. La ZIP de Fos constitue donc une source majeure de pollution anthropique dans la région impactant l'environnement et la santé des populations (Goix et al., 2017 ; Allen et al., 2017).

L'Institut Écociroyen pour la Connaissance des Pollutions (IECP) cherche à faire progresser les connaissances concernant l'état environnemental et sanitaire de cette zone. C'est pourquoi il a engagé plusieurs études visant à caractériser l'état de contamination des différentes matrices environnementales, dont les sols. C'est ainsi qu'une étude sur la qualité des sols et végétaux produits sur le Territoire Istres-Ouest-Provence a été menée en 2016 (Austruy, 2016) et a permis de mettre en évidence une contamination en HAP dans des sols de culture d'un jardin communautaire, "les Jardins du Poti'Rhône", situé à Port-Saint-Louis-du-Rhône, une commune proche de la ZIP. Cette contamination du sol aux HAP représente une source d'exposition importante pour les personnes soumises à des contacts directs et prolongés avec ces sols (risques d'inhalation/ingestion de particules de sol ou bioaccumulation des polluants dans la biomasse végétale produite). Pour faire suite aux premiers travaux menés sur ces parcelles en 2015, l'IECP se propose à travers cette étude de (i) caractériser plus finement la contamination en HAP du sol de culture, (ii) déterminer la source de cette contamination, (iii) mettre en place et évaluer l'efficacité d'un procédé de phytodégradation. *In fine*, ce travail a pour but de réduire les risques environnementaux et sanitaires et de conseiller les jardiniers dans leurs activités pour limiter leur exposition aux HAP.

2. Étude bibliographique

2.1 Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

2.1.1 Propriétés physico-chimiques et toxicité des HAP

Les HAP sont des composés organiques neutres apolaires formés de cycles benzéniques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ils sont pour la plupart peu hydrosolubles, peu mobiles dans le sol car facilement adsorbable et bioaccumulable. Ces substances sont relativement stables et leur biodégradabilité varie avec les conditions de milieu. A ce jour, 130 HAP différents ont été identifiés, seulement 16 d'entre eux sont considérés comme prioritaires de par leur toxicité environnementale et sanitaire (Tableau 1) par l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (US-EPA). (INERIS, 2003)

Tableau 1 : Liste des 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA (INERIS, 2003)

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

Les HAP peuvent être classés en 3 groupes suivant leurs masses moléculaires et le nombre de cycles aromatiques qu'ils contiennent (INERIS, 2003) :

- les HAP de faibles masses moléculaires (152-178 g/mol) constitués de 2 ou 3 cycles et qui présentent la solubilité et la volatilité la plus élevée. A savoir, le naphtalène (Nap), l'acénaphtylène (Acy), l'acénaphène (Ace), le fluorène (Fle), l'anthracène (Ant) et le phénanthrène (Phe) ;
- les HAP de masses moléculaires intermédiaires (environ 200 g/mol) constitués de 4 cycles. Il s'agit du fluoranthène (Fla) et du pyrène (Pyr) ;
- les HAP de masses moléculaires élevées (228-278 g/mol) constitués de 4 à 6 cycles et qui présentent la sorption la plus forte. Il s'agit du benzo(a)anthracène (BaA), du chrysène (Chr), du benzo(a)pyrène (BaP), du benzo(b)fluoranthène (BbF), du dibenzo(ah)anthracène (DBA), du benzo(k)fluoranthène (BkF), du benzo(ghi)pérylène (Bpe), et de l'indéno(1,2,3, cd)pyrène (Ipy).

La toxicité des HAP n'est pas encore clairement connue, cependant de nombreux travaux font état d'effets mutagènes, tératogènes, cancérigènes et/ou systémiques importants (hépatiques, hématologiques,

immunologiques, etc). Pour certains HAP comme le BaP ou le BaA, la cancérogénicité est avérée. Pour ces raisons, l'OMS impose une teneur limite dans les eaux de consommation à 0,2 µg/L pour six HAP (FlA, BbF, BkF, BaP, Bpe et Ipy). En France, le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux de consommation impose une teneur inférieure à 0,1 µg/L pour la somme de quatre composés (BbF, BkF, Bpe, et Ipy), la valeur limite du BaP étant fixée à 0,01 µg/L. Pour les sols, aucune réglementation n'existe à l'heure actuelle pour définir des seuils de réhabilitation ou de dépollution. Pourtant, les risques de contamination sont nombreux. Outre les sources naturelles d'HAP que sont les processus de biosynthèse (Krauss, 2005), le volcanisme ou les feux de forêts, les HAP dans l'environnement sont principalement issus de la combustion incomplète de la matière organique, et notamment des combustibles fossiles des charbons et pétroles utilisés pour les transports ou les activités industrielles sur les sites de cokeries et d'usines à gaz (Kipopoulou et al., 1999 ; Bryselbout et al., 2000).

2.1.2 Dynamique des HAP dans les sols

Les teneurs en HAP dans les sols n'étant pas soumises à réglementation, il n'existe pas de valeur limite permettant d'identifier une contamination des sols aux HAP. Cependant, les concentrations ubiquitaires liées aux sources naturelles sont de l'ordre de 0,1 à 1 mg/kg pour la somme des 16 HAP (INERIS, 2003), les concentrations les plus élevées étant mesurées dans les sols forestiers généralement riches en matière organique.

La dynamique et le comportement des HAP dans le sol dépend directement de l'état de disponibilité des HAP qui impacte sur leur devenir dans les sols (Figure 1) (Barnier, 2009). Etant des composés hydrophobes, ils ont tendance à s'adsorber à la surface de la matrice solide et notamment sur les matières organiques (Accardi-Dey, 2002 ; Liu et al., 2008). La matière organique est considérée par certains auteurs (Ouvrard et al., 2012 ; Pernot et al., 2014) comme le "puit" principal des HAP dans les sols, tandis que les interactions entre ceux-ci et la phase minérale sont considérées négligeables lorsque les teneurs en carbone dans le sol sont supérieures à 0,01 %. Plusieurs paramètres vont toutefois influencer la capacité des HAP à s'adsorber sur la matière organique : la conformation des associations organo-minérales (Shen, 2018) et le type de matière organique (Bayard et al., 2000). L'adsorption est ainsi le principal processus impliqué dans le passage des HAP d'une forme disponible à une forme non disponible (Semple et al., 2003 ; Johnsen et al., 2005). D'autres mécanismes interviennent également dans la dynamique des HAP dans les sols, comme la séquestration. Ce processus induit le passage d'HAP disponibles à des formes non disponibles. Selon de nombreux auteurs (Hatzinger et al., 1995 ; Bogan et al., 2003) ce mécanisme se traduit par la diffusion des HAP dans les microporosités du sol de la composante minérale. C'est un processus à la cinétique plus longue que l'adsorption et il est d'autant plus important que le temps de contact entre la matrice solide et les HAP est long (Bogan et al., 2003). La dynamique des HAP a un impact direct sur la dégradation microbienne de ces composés, processus majeur de dissipation des HAP dans les sols (Haritash et al., 2009). En effet, l'un des principaux facteurs limitant la dégradation microbienne des HAP est leur disponibilité (Johnsen et al. 2005 ; Wenzel, 2009). Au-delà de la disponibilité des HAP dans le sol, leur dégradation dépend des conditions environnementales, du nombre et du type de micro-organismes et de la nature et de la structure chimique du composé (Bamforth et al., 2005). Par ailleurs, d'autres mécanismes de dégradation existent, comme la volatilisation, la photolyse ou la dégradation chimique (Wenzel, 2009).

Il existe des processus inverses qui induisent le passage d'HAP non disponibles à des formes disponibles mais ils ne sont pas majoritaires. Une déséquestration des HAP, diffusion des HAP de la microporosité de la composante minérale vers la solution du sol, peut avoir lieu lors de la dégradation microbienne de la matière organique du sol (Cennerazzo et al., 2017 ; Guo et al., 2017). Certains auteurs mentionnent également des processus de désorption des HAP sur la matrice solide (Xing et al., 1996 ;

Haddadi et al., 2009), mais des expériences démontrent que l'adsorption n'est pas un phénomène réversible pour la totalité des HAP (Ressler et al., 1999 ; Tsibart et al., 2013).

Enfin, les plantes jouent un rôle important dans la répartition des HAP dans un sens comme dans l'autre. Par exemple, la pénétration des agrégats par les racines peut augmenter les échanges de surface entre le sol et la solution augmentant la disponibilité des HAP, de même que la libération d'agents solubilisants (rhizodépôts) qui facilitent leur mise en solution (Haritash et al., 2009 ; Ouvrard et al., 2012). Les racines produisent par ailleurs des enzymes de type peroxydases capables d'oxyder les HAP (Jones et al., 2004).

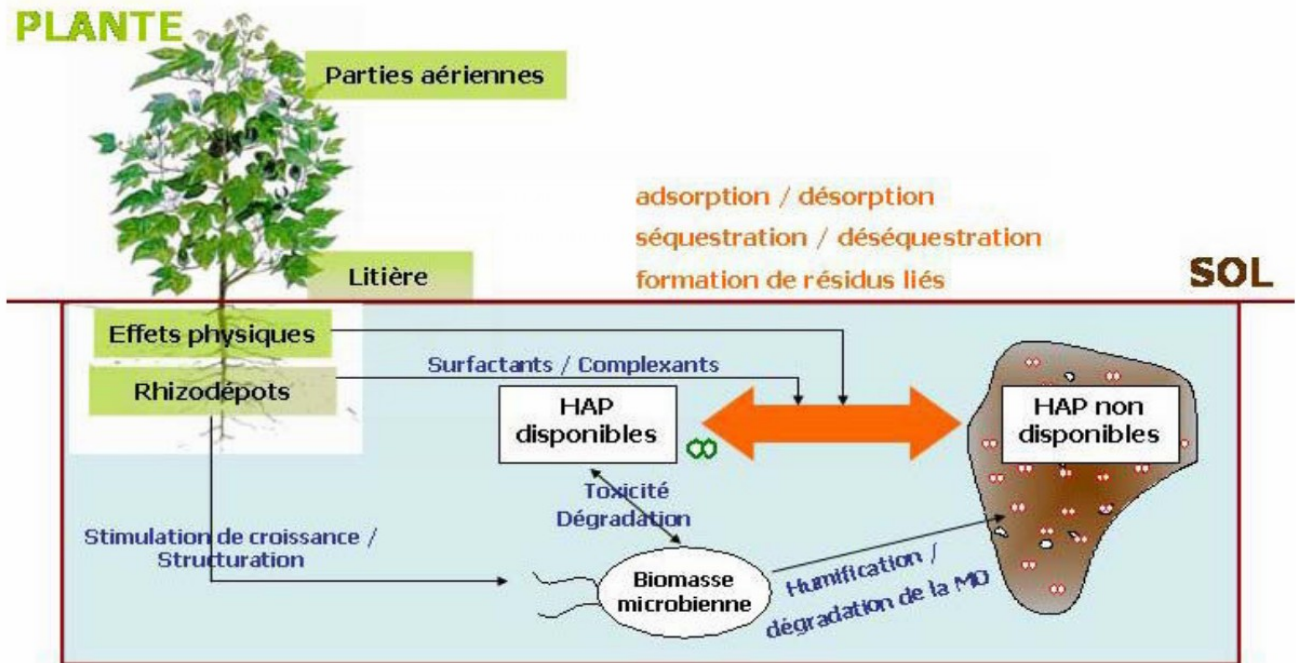


Figure 1 : Représentation conceptuelle des facteurs influençant la disponibilité des HAP (Barnier, 2009)

2.2 Phytoremédiation de sols contaminés aux HAP

2.2.1 Applications de la phytoremédiation

Plusieurs techniques de traitement des sols contaminés ont été mises au point au cours des dernières années. Ces techniques de traitement peuvent être de nature physico-chimique ou de nature biologique. Les méthodes biologiques de dépollution font appel aux propriétés d'autoépuration du milieu, stimulables via l'intervention humaine. La phytoremédiation est un cas particulier de traitement biologique. Elle consiste en l'utilisation de plantes capables d'extraire ou de séquestrer d'un sol ou d'un milieu humide ses contaminants organiques ou inorganiques afin de les dégrader, les stabiliser, ou les fixer (Saadoun et al., 2005). La phytoremédiation a démontré son efficacité pour la décontamination de sols pollués par différents types de contaminants : contaminants métalliques (Fernandez et al., 2017), radionucléides (Sugiura et al., 2016 ; Vinichuk et al., 2013), contaminants organiques (Guo et al., 2017).

Il existe différentes techniques de phytoremédiation (Parmar, 2015) qui impliquent différentes stratégies de traitement pour la dégradation, l'immobilisation ou l'élimination du contaminant (Figure 2). La phytostabilisation vise l'immobilisation du contaminant au niveau des racines afin d'en réduire la disponibilité. La phytovolatilisation implique l'évapotranspiration de composés volatils (mercure, sélénium) provenant du sol ou des eaux souterraines. La phytoextraction consiste en l'absorption et l'accumulation

dans la plante de contaminants (métaux). La phytotransformation vise à l'absorption et la transformation par la plante des contaminants en composés moins toxiques. La phytodégradation implique la dégradation microbienne des contaminants au niveau de la rhizosphère.

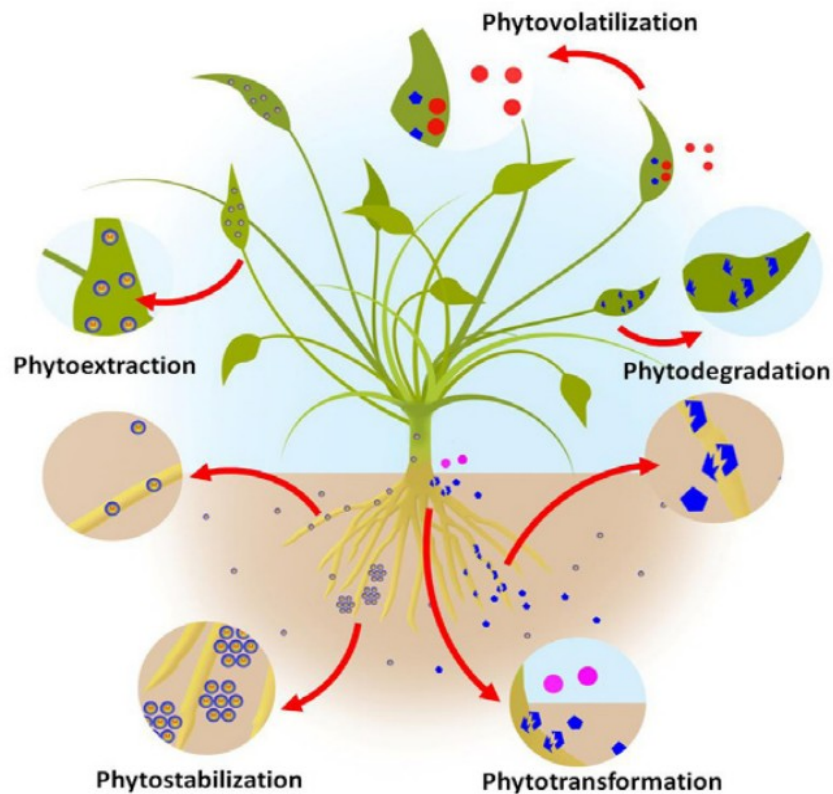


Figure 2 : Représentation des différentes techniques de phytoremédiation (Parmar, 2015)

Contrairement à d'autres méthodes de traitement coûteuses et invasives (l'excavation, le lavage, la vitrification, la séparation électrochimique, etc), la phytoremédiation se présente comme une technique à faibles coûts qui n'interfère pas avec l'écosystème et qui nécessite peu de main-d'œuvre (Lasat, 2000 ; Rajakaruna et al., 2006 ; Souza et al., 2014). Par ailleurs, les couverts végétaux présentent une valeur esthétique et remplissent de nombreux services écosystémiques, notamment dans la stabilisation des couches superficielles du sol en les protégeant contre l'érosion hydrique ou éolienne. La phytoremédiation présente toutefois un certain nombre d'inconvénients dont notamment la lenteur du processus de traitement et la faiblesse de son rayon d'action, la zone affectée par le traitement se limitant principalement aux zones proches des racines, soit en moyenne jusqu'à 20-25 cm de profondeur (Cunningham et al., 1996 ; Nwoko et al., 2010). L'efficacité des procédés de phytoremédiation reste également fortement dépendante de nombreux facteurs comme la nature des contaminants, leur disponibilité, les propriétés physico-chimiques du sol, les espèces végétales implantées, etc (Berti et al., 2000 ; Sreelal et al., 2017).

La pertinence de l'emploi de procédés de phytoremédiation pour le traitement d'un sol contaminé doit donc être mûrement pesée au préalable. Elle dépendra du site à traiter, de la nature de la pollution, des objectifs de réhabilitation, des moyens mis en jeu, etc. Selon plusieurs auteurs, lorsque la pollution ne subit pas de vieillissement, l'emploi de la phytoremédiation pour la dissipation des HAP est efficace dans la mesure où l'implantation d'un couvert provoque généralement une augmentation de la dégradation des HAP par rapport à un sol non végétalisé (Schwab et al., 1999 ; Liste et al., 2000 ; Johnson et al., 2004 ; Xu et al., 2006).

2.2.3 La phytodégradation

La phytodégradation est un type de phytoremédiation qui fait à la fois appel à la capacité des plantes à créer un habitat favorable pour la croissance des micro-organismes au niveau de sa rhizosphère, et à la capacité des micro-organismes associés à dégrader les polluants disponibles (Ouvrard et al., 2012). L'excrétion de composés (acides organiques, acides aminés, etc) au niveau de la rhizosphère par la plante influe les caractéristiques du sol (Nguyen, 2003) en constituant une couche autour des racines, le mucilage. Pour la plante, le mucilage a une fonction de protection contre les toxines présentes dans le sol. Il facilite également la pénétration des racines dans le sol et augmente leur potentiel d'absorption (Bertin et al., 2003). Les interactions entre plantes et micro-organismes tendent à rendre le processus d'assainissement plus efficace que lorsque les micro-organismes ne sont pas associés aux végétaux (McCutcheon et al., 2008). De ces interactions, les micro-organismes en tirent des nutriments et des sucres présents dans les exsudats racinaires de la plante (Poschenrieder et al., 2003 ; Gerhardt et al., 2009 ; Leung et al., 2013 ; Liu et al., 2014). Les composés phénoliques notamment constituent une source de carbone importante pour les bactéries dégradantes (Hegde et Fletcher, 1996 ; Leigh et al., 2002). Selon Corgié et al. (2003 ; 2004), le potentiel de biodégradation des HAP est d'autant plus important que l'on s'approche des racines.

Des espèces bactériennes présentent naturellement dans certains sols sont capables de dégrader les HAP grâce à des enzymes intracellulaires. La bactérie *Burkholderia* est capable de dégrader les HAP de 2 ou 3 cycles aromatiques. *Mycobacterium* est une bactérie efficace pour la dégradation des HAP avec un plus grand nombre de cycles aromatiques (Winqvist et al., 2014). Les champignons ligninolytiques sont particulièrement efficaces pour la dégradation des HAP à fortes masses moléculaires car ils possèdent certaines enzymes (lignine peroxydase, manganèse peroxydase) qui jouent un rôle prépondérant dans l'attaque initiale des HAP présents dans les sols (Jang et al., 2009). Selon Mori et al. (2015), *Cordyceps militaris*, qui est un champignon parasite des larves et nymphes de certains papillons (Deconchat et al., 2002), a démontré une forte activité de dégradation pour Phe, Pyr et BaP. Pour ces micro-organismes, la dégradation des HAP peut remplir différentes fonctions (Cerniglia, 1984 ; Bidaud, 1998 ; Haritash et al., 2009). Ils peuvent utiliser les HAP comme source de carbone et d'énergie, on parle alors de dégradation assimilative. Ils peuvent dégrader les HAP pour répondre à un besoin de détoxification de leur milieu en le rendant plus hydrophile. Parfois, les HAP sont dégradés au travers d'une réaction enzymatique non spécifique qui provoque la dégradation de substrats autres que le substrat cible. De nombreux paramètres impactent la qualité et le taux de biodégradation des HAP : le pH, la température, la teneur en oxygène, la CEC, la structure chimique des composés (les HAP de hautes masses moléculaires étant plus résistants), le temps de contact entre HAP et micro-organismes ainsi que l'activité biologique du sol (Richnow et al., 1998).

Les protocoles de phytoremédiation sont nécessairement dépendants du contexte global de la zone à traiter. Les végétaux choisis sont également sélectionnés suivant la nature de la pollution. Pour la phytodégradation des HAP, Olson et al. (2007) a démontré l'efficacité du ray grass (*Lolium multiflorum*). Parrish et al. (2010) a testé une polyculture de plantes fourragères, fétuque (*Festuca arundinacea*), ray grass (*Lolium multiflorum*) et trèfle jaune (*Melilotus officinalis*), et a prouvé son efficacité pour la dissipation des HAP en soulignant toutefois la variabilité des résultats suivant les conditions environnementales. Ouvrard (2016) a quant à lui testé, avec des résultats concluants, un mélange de fétuque, ray grass et trèfle violet (*Trifolium pratense*). Des études menées en serre par D'Orazio et al. (2013) ont révélé l'efficacité de la luzerne (*Medicago sativa*) pour la dissipation de Pyr dans le sol. De même, Pradhan et al. (1998) ont observé qu'en 90 jours, la concentration en Pyr diminuait de 32 % pour les sols testés sous luzerne contre 18 % de diminution pour le sol dénué de couvert.

3. Matériels et méthodes

3.1 Site d'étude et dispositif expérimental

3.1.1 Zone d'étude

Le site d'étude est localisé sur la commune de Port-Saint-Louis-du-Rhône (Figure 3), à environ 300 m du Grand-Rhône, l'un des bras du delta du Rhône qui se jette une dizaine de kilomètres en aval dans la mer Méditerranée. Le jardin communautaire sur lequel cette étude est réalisée, les "jardins partagés du Poti'Rhône", a été fondé en 2013. Avant ça, la zone sur laquelle s'étendent aujourd'hui les jardins était une prairie non exploitée. La commune de Port-Saint-Louis-du-Rhône est ainsi bordée à l'ouest par le Parc naturel régional de Camargue, au nord par la Plaine de la Crau et à l'est par la ZIP de Fos.

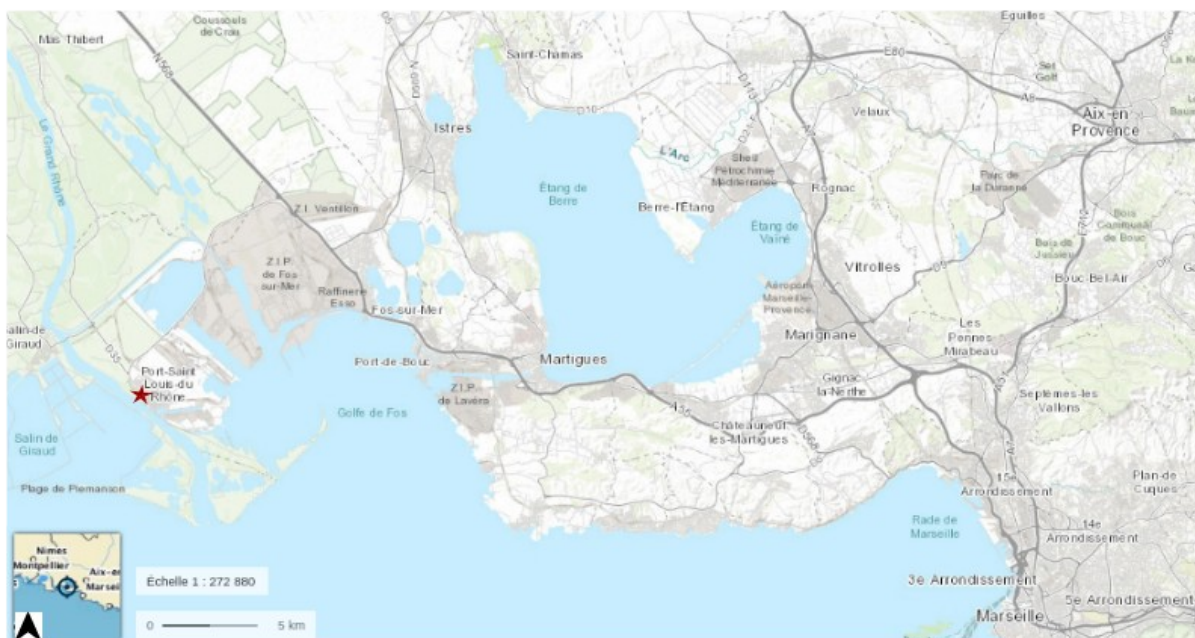


Figure 3 : Localisation du site d'étude (fond de carte : Esri World, 2018)

3.1.2 Dispositif expérimental

Le dispositif a été installé sur une parcelle de 66 m², divisée en 3 sous-parcelles de 16,6 m² sur lesquelles ont été installés trois couverts différents le 12/03/2018 (Figure 4) :

- un couvert de monoculture de luzerne (*Medicago sativa*) à 2,5 g/m² de semis, semés à 1-2 cm de profondeur en 5 rangs espacés de 17 cm ;
- un couvert de sol nu, désherbé manuellement ;
- un couvert de polyculture fourragère avec fétuque méditerranéenne (*Festuca arundinacea*), ray grass (*Lolium multiflorum*) et trèfle violet (*Trifolium pratense*) en mélange homogène de 2,4 g/m² de semis, semés à la volée à une profondeur de 1-2 cm.

De plus, deux pots de culture (de dimension 40x19x16 7,5 L) ont été apposés à proximité de chaque sous-parcelle avec le couvert correspondant, le premier rempli avec du sol prélevé sur la parcelle et le second avec un mélange homogène terreau/terre végétale (50/50 – v/v) (composition terreau : tourbe de sphaignes

noire gelée, tourbe blonde de sphaigne, sable, GreenFibre® ; composition terre végétale : terre végétale, tourbe, écorce de pin compostée, compost de fumier). Ont également été installées deux jauges Owen afin de collecter les retombées atmosphériques.

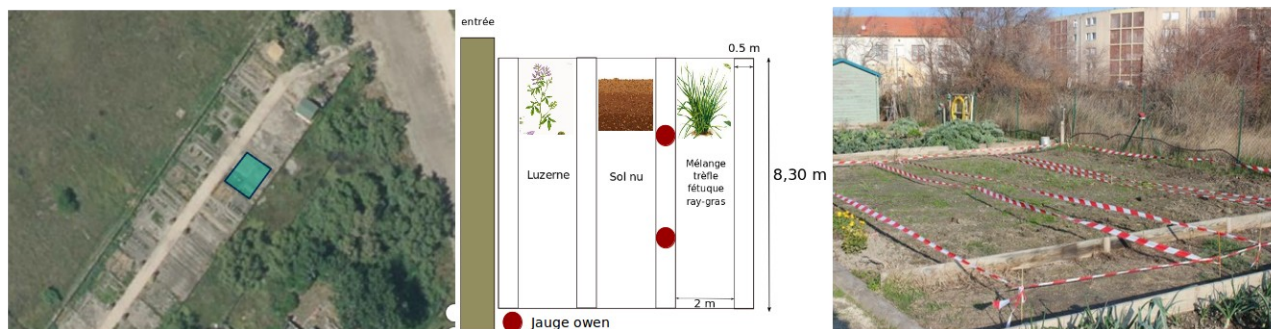


Figure 4 : Dispositif expérimental ; A) photo aérienne (BD ORTHO® 5m, 2015) ; B) organisation du dispositif ; C) photo du dispositif

3.1.2.1 Prélèvements des matrices environnementales à T0

Une phase de prélèvement a lieu à T0 le 21/02/2018 avant la mise en place du couvert végétal pour caractériser l'état initial de différents paramètres (teneur en HAP, paramètres pédochimiques, activité biologique). Cinq prélèvements des 15 premiers centimètres de sol sont réalisés sur chaque sous-parcelle suivant le schéma de la Figure 4b. Un prélèvement du mélange terreau/terre végétale est également exécuté. Les prélèvements de 300 g environ sont pratiqués à la tarière manuelle. Une carotte de sol de 2 m de profondeur est effectuée au centre de la parcelle. Sept prélèvements de 300 g environ y sont réalisés (Tableau 2). Les outils sont rincés entre chaque prélèvement (alcool + eau distillée). Les échantillons sont conditionnés en sacs plastiques au frais (glacière) jusqu'au retour au laboratoire puis sont conservés à 4 °C dans l'attente de leur prétraitement.

Un prélèvement de 2 L des eaux du Rhône à 2 mètres de profondeur est également réalisé avec une bouteille Niskin à 5 km en amont du site, au niveau du Bac de Barcarin. L'eau est conditionnée dans des bouteilles en verre, à l'obscurité et au frais (glacière) puis envoyée à un laboratoire prestataire pour l'analyse des HAP totaux (Laboratoire Départemental de la Drôme).

Tableau 2 : Prélèvements réalisés sur la carotte de sol à T0

PROFONDEUR (cm)	DÉNOMINATION
0-20	H1
20-40	H2
40-60	H3
60-80	H4
80-100	H5
103-144	H6
144-205	H7

3.1.2.2 Prélèvements des matrices environnementales à T1

La seconde phase de prélèvement a lieu 9 semaines après les semences, le 15/05/2018. Le développement de la végétation est suivi et l'arrosage régulièrement effectué (un arrosage tous les deux jours).

Sur la parcelle de luzerne, trois prélèvements de groupements de pieds de luzerne sont réalisés en 3 points aléatoires. Le sol rhizosphérique, les feuilles et les racines sont séparés et conditionnés en sacs plastiques. Sur la parcelle de sol nu, trois prélèvements de 300 g de sol environ sont réalisés aléatoirement. Sur la parcelle de polyculture fourragère, trois prélèvements de groupements de pieds de plantes fourragères sont pratiqués en 3 points aléatoires. Le sol rhizosphérique, les feuilles et les racines sont séparés et conditionnés en sacs plastiques. Sur cette même parcelle, sont prélevés aléatoirement environ 100 g de sol rhizosphérique, de racine et de feuille de chacune des 3 espèces végétales présentes sur le couvert prairial séparément. Un prélèvement de sol rhizosphérique est réalisé sur chaque pot de culture, un prélèvement de racine et de feuille est aussi effectué sur chaque pot végétalisé. Les échantillons sont conditionnés séparément en sacs plastiques et au frais (glacière).

Les outils sont rincés entre chaque prélèvement (alcool + eau distillée). De retour au laboratoire, les échantillons sont conservés à 4 °C dans l'attente de leur prétraitement.

Le prélèvement des jauges Owen a lieu le même jour que la récolte. Elles sont hermétiquement fermées et envoyées à un laboratoire prestataire pour la détermination des TSP collectées et l'analyse des HAP totaux (Laboratoire Départemental de la Drôme).

3.2 Analyses

3.2.1 Prétraitement des échantillons

3.2.1.1 Prétraitement des échantillons de sol

Des échantillons composites sont réalisés avec les cinq reliquats prélevés à T0 sur chaque sous-parcelle. Tous les autres échantillons de sol sont traités indépendamment. Au total, pour chaque sous-parcelle, un échantillon composite de sol à T0 et trois échantillons de sol rhizosphérique en T1 ont été effectués. Chaque échantillon est ensuite homogénéisé et quarté en trois fractions : fraction pédochimique (150 g), fraction HAP (50 g) et fraction microbienne (50 g).

Chaque fraction est traitée de la manière suivante :

- fraction pédochimique : pesée de la masse fraîche, séchage dans des flacons en HDPE à l'étuve à 50 °C jusqu'à une perte de masse inférieure à 5 % en 24 h, pesée de la masse sèche, tamisage à 2 mm, conservation à 4 °C ;
- fraction HAP : tamisage à 2 mm, congélation à – 20 °C, lyophilisation (-55 °C / 0,035 mbar, Christ alpha 1-4LD) jusqu'à une perte de masse inférieure à 5 % en 24 h et conservation dans des flacons HDPE de 250 ml ;
- fraction microbienne : tamisage à 2 mm, congélation à – 50 °C et conservation dans tubes falcon de 15 ml.

La mesure de la masse fraîche et sèche de chaque échantillon permet de déterminer la teneur en eau selon l'équation 1.

$$Teneur\ en\ eau = \frac{(MF-MS)}{MF} * 100 \quad \text{Eq. 1}$$

3.2.1.2 Prétraitement des échantillons de végétaux

Tous les échantillons de végétaux sont traités indépendamment. La masse fraîche des tissus prélevés est pesée puis ils sont rincés à l'eau ultrapure. Les racines sont introduites dans une cuve ultrason (Fisherbrand – FB 15051) pour compléter le rinçage. Les échantillons sont ensuite congelés dans des flacons HDPE de 250 ml puis lyophilisés (-55 °C / 0,035 mbar, Christ alpha 1-4LD). Leur masse sèche est pesée, puis les tissus sont broyés au broyeur à billes (Retsch MM400 – fréquence 25 Hz – 2,5 min). Ils sont conditionnés dans des flacons de 8 ml en polyéthylène à -20 °C. A partir de la masse fraîche et sèche de chaque échantillon de végétaux, la teneur en eau est calculée selon l'Eq. 1.

3.2.2 Analyses des paramètres physico-chimiques

Plusieurs paramètres pédochimiques sont analysés sur les sols prélevés à T0 et à T1 par le Laboratoire Développement Méditerranée (Accréditation COFRAC n°1-5865). Les analyses ont été réalisées sur la fraction inférieure à 2 mm selon les normes AFNOR décrites dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Paramètres pédochimiques analysés

PARAMÈTRES	NORMES
Granulométrie	NF X31-107
pH eau	NF ISO 10390
Azote total (Ntot)	NF ISO 11262
Carbone organique (Corg)	NF ISO 10694
Sodium échangeable (Na ₂ O)	NF X31 108
Capacité d'Echanges Cationiques (CEC)	NF X31 130

3.3.3 Analyses des HAP

Le dosage des HAP dans les sols et les végétaux est réalisé en collaboration avec le laboratoire d'Analyses Chimiques de la Faculté de Pharmacie de la Timone à Marseille. Le dosage des HAP dans l'eau et dans les retombées atmosphériques est sous-traité par le Laboratoire Départemental de la Drôme.

3.3.3.1 Sols

3.3.3.1.1 Quantification des HAP totaux

Principe

Les 16 HAP sont extraits du sol par l'acétone dans une cuve à ultrasons puis purifiés sur mini-colonnes C18. Cette technique évite l'utilisation de trop grands volumes de solvants inflammables et nocifs

pour l'environnement. Les mini-colonnes constituent, en outre, une protection efficace contre la contamination du système analytique et sa détérioration étant donné qu'elles ont une phase stationnaire greffée identique à celle de la colonne de chromatographie. L'extrait purifié est séparé et quantifié par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de spectrométrie de masse.

Méthode d'extraction

La prise d'essai d'environ 0,5 g de chaque échantillon est pesée précisément dans des flacons à bouchon à vis de 50 ml. Un volume de 20 ml d'acétone y est ajouté puis les flacons sont passés à la cuve à ultrasons 2 x 15 minutes afin de dissoudre les HAP. Les flacons sont laissés à décanter une nuit puis le surnageant est filtré sur filtre GF/C de 9,0 cm et récupéré dans des fioles jaugées de 10 ml. Des cartouches C18 de 1 g (mini-colonnes Bond Elut C18-JR à usage unique) sont placées sur le dispositif d'extraction et sont connectées à des réservoirs en plastique (Figure 5). Chaque cartouche est rincée avec 5 ml d'acétone puis 5 ml d'une solution à 40 % d'acétone et 60 % d'H₂O. Les extraits sont ensuite ajoutés dans le réservoir, puis la fiole de 10 ml est rincée avec 15 ml d'H₂O. L'eau ajoutée aux extraits permet la rétention des HAP sur la cartouche au moment de l'ouverture du réservoir. Ainsi, les produits très solubles sont éliminés et les hydrocarbures aliphatiques sont piégés irréversiblement sur la cartouche. Les cartouches sont ensuite séchées 15 minutes par aspiration d'air sur le montage d'extraction. Les HAP sont décollés de la cartouche avec 4 ml d'acétone en créant une légère dépression avec le système d'aspiration et récupérés dans une fiole jaugée de 5 ml complétée à 5 ml avec du méthanol. Les échantillons sont ensuite analysés le plus rapidement possible par GC-MS.

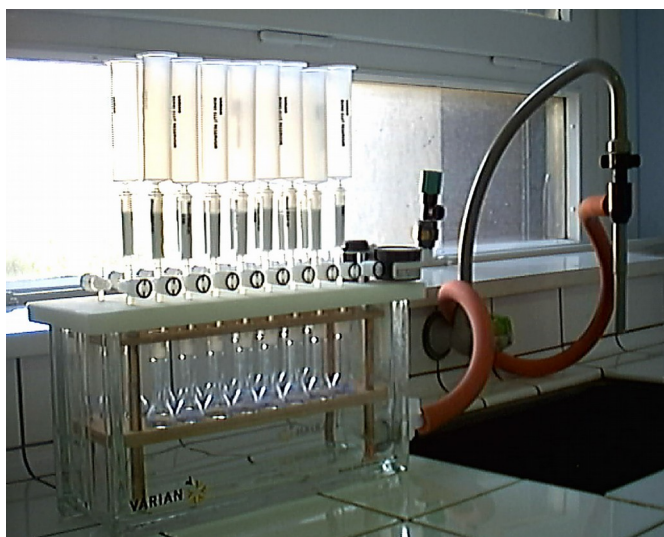
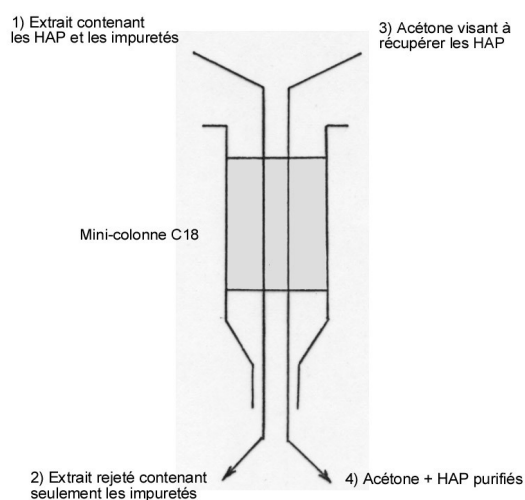


Figure 5 : Purification des extraits sur mini-colonne C18 et rampe d'extraction munie des mini-colonnes, des réservoirs et des fioles de 5 mL

Méthode de quantification

L'appareil de chromatographie en phase gazeuse utilisé est de la marque Agilent Technologies (GC-MSD), équipé d'une colonne capillaire de la marque DB5 J&W (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à une vitesse de 26 cm/s. Les analyses sont réalisées en mode SIM. Un exemple de chromatogramme est présenté en Figure 6. L'étalonnage de l'appareil est réalisé avec une solution de 200 µg/ml fournie par Interchim, diluée à différentes concentrations avec de l'hexane. Une droite d'étalonnage est réalisée pour chacun des 16 HAP.

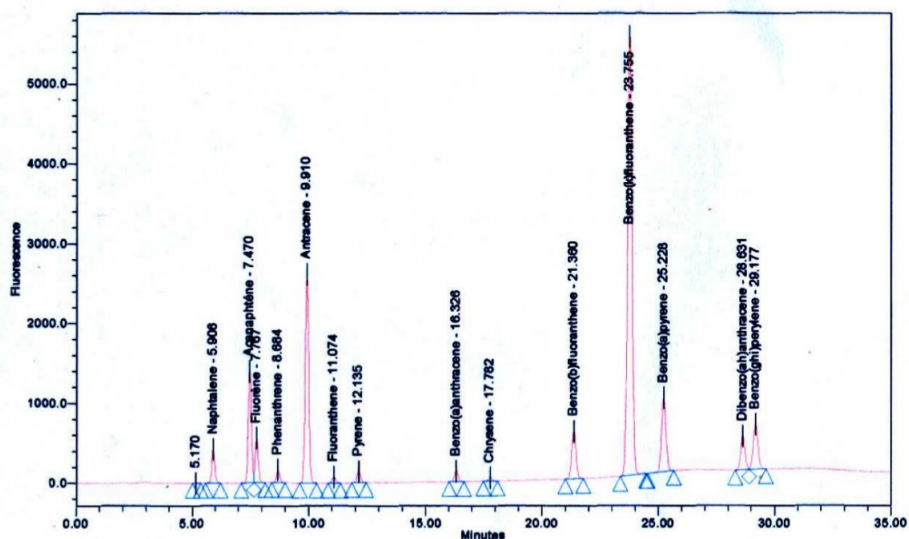


Figure 6 : Exemple de chromatogramme de l'analyse d'une solution étalon

3.3.3.1.2 Quantification des HAP lixiviables

Principe

Il s'agit de caractériser la fraction soluble des HAP présente dans le sol, c'est-à-dire les HAP facilement lixiviables. Pour cela, une solution de CaCl_2 est employée comme lixiviant. Les HAP lixiviés avec le CaCl_2 sont extraits grâce à une solution de dichlorométhane puis sont concentrés par distillation. Ils sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse fonctionnant en mode SIM (acquisition des ions sélectifs).

Méthode d'extraction

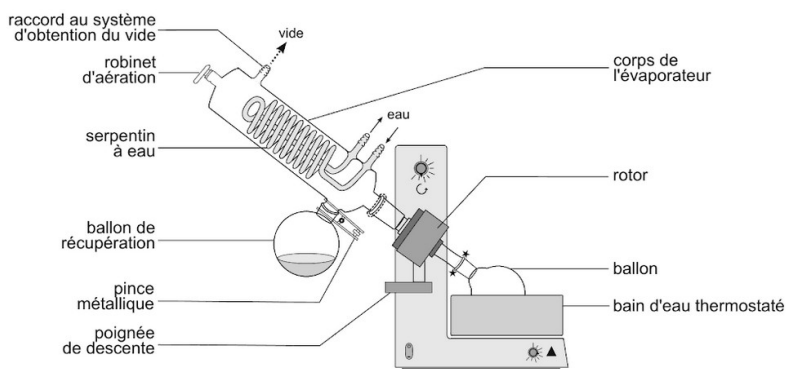


Figure 7 : Schéma d'un évaporateur rotatif (Bernard et al., 2012)

Une prise d'essai de $15 \pm 0,5$ g de masse sèche de sol est placée dans un flacon de 500 ml. Un volume de 15 ml de solution de CaCl_2 à 0,01 mol/L puis de 135 ml d'eau ultra pure sont ajoutées (1/10 – m/v). Le flacon est placé sur table d'agitation pendant 24 h puis laissé à décanter pendant 15 à 20 minutes. Le surnageant est centrifugé pendant 30 minutes à 4500 tr/min. Un volume de 40 ml d'éluat est ensuite placé en ampoule à décanter. Du dichlorométhane (5 ml) y est ajouté, puis le culot est récupéré après agitation et décantation. Cette étape vise à extraire les HAP. Le culot est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes puis le surnageant est récupéré et placé dans le ballon d'un dispositif d'évaporateur rotatif jusqu'à ce que

toute la solution s'assèche (Figure 7). Les HAP sont ensuite récupérés avec 500 µl d'acétone et 500 µl de méthanol. L'éluat est ensuite filtré avant d'être analysé.

Méthode de quantification

La méthode de quantification utilisée des HAP lixiviables est la même que celle employée pour les HAP totaux.

3.3.3.2 Végétaux

L'extraction et la quantification des HAP totaux dans les végétaux sont réalisées suivant les mêmes protocoles que ceux utilisés pour les HAP totaux dans les sols.

3.3.3.3 Eau et retombées atmosphériques

3.3.3.3.1 Quantification des HAP dans les eaux du Rhône

Cette analyse est réalisée par le Laboratoire Départemental de la Drôme. La méthode utilisée consiste en une extraction liquide/liquide des HAP présents dans les eaux à partir d'une solution acétone/eau à 40 % (v/v) et en un dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

3.3.3.3.2 Quantification des HAP dans les TSP

Cette analyse a été réalisée par le Laboratoire Départemental de la Drôme. La méthode utilisée consiste à réaliser trois rinçages de la jauge Owen avec 500 ml d'eau ultrapure. Le liquide de rinçage est ensuite filtré sous vide, les HAP sont ainsi récupérés sur filtre, sur lequel la procédure d'extraction est réalisée sous pression à chaud. Les HAP sont ensuite dosés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

3.3.4 Analyses de l'activité biologique

L'activité biologique des sols de jardin est étudiée de deux manières. D'abord, via la mesure du flux de CO₂ émis par le sol avant et après l'installation du couvert végétale, ensuite, via l'étude de l'activité métabolique de la flore microbienne avant et après apposition du couvert.

3.3.4.1 Mesure du flux de CO₂

Principe

On appelle respiration d'un sol le flux de CO₂ libéré au niveau de l'interface sol-atmosphère. Ce CO₂ est le résultat, d'une part, des activités biologiques du sol et, d'autre part, de l'oxydation chimique de composés carbonés ou de la dissolution des carbonates présents dans le sol. La contribution de chacun de ces processus est difficile à établir, plusieurs études montrant une contribution de la respiration racinaire et microbienne allant de 10 à 90 % (Hanson et al., 2000). Ainsi, la mesure globale de ce flux entre le sol et

l'atmosphère apporte une information sur le fonctionnement biologique du sol. De nombreux facteurs biotiques et abiotiques impactent la respiration du sol, tels que la température, les paramètres physico-chimiques ou la diversité biologique. La mesure de la respiration du sol peut apporter plusieurs informations, (i) évaluer l'état biologique du sol mais aussi (ii) renseigner sur l'évolution de la diversité et de l'activité de la flore microbienne avant et après culture.



Figure 8 : LI-COR 6400-09

Protocole de mesure

L'appareil utilisé pour mesurer les échanges de CO₂ entre le sol et l'atmosphère est un LI-COR 6400-09 (Figure 8), équipement portable qui permet de mesurer les échanges de CO₂ entre plusieurs types d'interfaces et notamment l'interface sol/atmosphère. L'appareil se compose d'une « chambre sol » spécialement conçue pour mesurer la respiration du sol ainsi que d'un ordinateur pour le traitement et la mise en forme des mesures.

Dans la mesure des flux de CO₂, le risque principal susceptible d'altérer la qualité des résultats est la fluctuation de la pression et de la température à l'intérieur de la cellule. Afin de pallier ce problème, la cellule est ventilée et la pression interne est maintenue à pression atmosphérique. De même, pour limiter l'influence des conditions météorologiques extérieures, des colliers en PVC sont installés au niveau des points de mesure 24 h avant la mesure pour stabiliser et canaliser les flux de CO₂ à la surface du sol. Pour prendre en compte la présence de ces colliers lors de la mesure, une profondeur de - 1 cm est indiquée lors du paramétrage de l'appareil. La concentration en CO₂ atmosphérique est mesurée et utilisée comme référence pour déterminer la concentration en CO₂ dans la « chambre sol ». Ainsi, une concentration en CO₂ de 400 ppm a été maintenue dans la chambre lors de l'ensemble des mesures en autorisant un delta de concentration de 10 ppm.

Cinq mesures de respiration du sol par sous-parcelle sont réalisées à T0 puis à T1, suivant le même schéma que les prélèvements (Figure 4.b). Sur chaque point de mesure, l'appareil effectue 2 cycles de mesures, précédés à chaque fois d'une purge du système, en un temps compris entre 1 et 3 min suivant le temps de stabilisation de la concentration en CO₂ dans la chambre. Ce qui porte à 10 le nombre de mesures de flux réalisées par sous-placette par intervalle de temps. Le flux de CO₂ émit par le sol est quantifié par l'appareil en se basant sur le différentiel interne de la concentration.

L'évolution de plusieurs paramètres est suivie lors de la mesure :

- flux de CO₂ en µmol/m²/s,
- température du sol,
- température de l'air,
- humidité relative du sol,
- humidité relative de l'air.

3.3.4.2 Activité métabolique

Principe

A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine	A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine	A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine
B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine	B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine	B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine
C1 Tween 40	C2 i-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine	C1 Tween 40	C2 i-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine	C1 Tween 40	C2 i-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine
D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine	D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine	D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine
E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine	E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine	E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine
F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid	F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid	F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid
G1 D-Cellulose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine	G1 D-Cellulose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine	G1 D-Cellulose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine
H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine

Figure 9 : Organisation des microplaques Eco-plates 96 puits

L'activité métabolique moyenne des bactéries et champignons cultivables du sol est estimée grâce au système Biolog. Ce système utilise des microplaques (Eco-plates ; Figure 9) de 96 puits prêts à l'emploi et dont chacun contient un substrat carboné différent (31 substrats de 6 classes différentes dont des amines, hydrates de carbone, des acides aminés, des acides carboxyliques, des phosphates de carbone et des polymères). L'activité métabolique des micro-organismes se caractérise notamment par leur capacité à métaboliser un certain nombre de substrats carbonés, et par leur vitesse de métabolisation. Pour les bactéries, cette métabolisation est révélée par un indicateur coloré, le sel de tétrazolium. L'intensité de la coloration est fonction de la consommation du substrat par la bactérie. Pour les champignons, c'est la turbidité qui est utilisée comme indicateur (Preston-Mafham et al., 2002). Incapables d'utiliser le sel de tétrazolium à l'instar des bactéries, il n'y a donc pas de coloration liée à l'activité des champignons (Dobranic et al., 1999). La densité optique est mesurée toutes les 24 h environ par spectrophotométrie à 590 nm après une incubation à 20 °C des microplaquesensemencées. La mesure de la densité optique permet de calculer l'AWCD (Average Well Color Development) qui représente l'activité métabolique moyenne des bactéries et champignons cultivables des sols selon l'Eq. 2. Pour l'activité métabolique des bactéries et des champignons sont respectivement comparés l'AWCD à 48 h et à 68 h.

$$AWCD = \sum[(DO_{\text{puit}} - DO_{\text{initiale}}) / 31]$$

Eq. 2

Méthode de détermination de l'activité métabolique moyenne

Une prise d'essai d'environ 10 g de sol est mise en suspension dans 90 ml de solution stérile de pyrophosphate à 0,1 %. Le mélange est placé sur table d'agitation pendant 2 h et laissé à décanter. Pour l'estimation de l'activité métabolique des bactéries, 100 µl de la suspension sont dilués dans 9,9 ml de solution de NaCl stérile à 8 g/L. La solution est ensuite inoculée à hauteur de 125 µl dans chaque puits. Pour l'estimation de l'activité métabolique des champignons, une solution de NaCl à 8 g/L est préparée avec une combinaison de différents antibiotiques destinés à inhiber le développement des bactéries (50 µg/ml de gentamicine, 100 µg/ml de rifampicine, 50 µg/ml de streptomycine). La solution antibiotique subit une stérilisation sur membrane (filtration à 0,2 µm). Dans 9,9 ml de cette solution, 100 µl de suspension sont dilués. La solution est ensuite inoculée à hauteur de 125 µl par puits. Les plaques sont incubées à 20 °C. La densité optique est mesurée à 590 nm par spectrophotométrie (TECAN infinite M200) toutes les 24 h pendant 8 à 10 jours respectivement pour l'activité métabolique bactérienne et fongique.

3.3 Traitements statistiques

Les données sont traitées via le logiciel R (R Core Team 2015, version 3.2). Un test de Friedman pour données non paramétriques est utilisé pour comparer le profil des HAP de surface avec celui des HAP présents dans les TSP. Des tests de comparaisons de Wilcoxon pour données non paramétriques sont employés pour comparer les teneurs en HAP avant et après mise en place du couvert. Des tests de Wilcoxon sont aussi utilisés pour comparer les AWCD de T0 et de T1. Une analyse en composante principale (ACP normée) est par ailleurs réalisée à partir des paramètres pédochimiques, de concentrations pour les 16 HAP ainsi que des AWCD mesurés pour les bactéries à 48 h. Une ACP normée est une analyse statistique utilisée pour afficher des modèles de données multivariées. Cet outil descriptif vise à afficher graphiquement les positions relatives des points de données dans un graphique à 2 ou 3 dimensions permettant d'explorer les relations entre les variables.

4. Résultats et discussions

4.1 Type de sol

4.1.1 Caractéristiques hydrogéologiques

La zone d'étude repose sur des formations holocènes d'alluvions calcaires du Rhône (Figure 10). Le Rhône s'y écoule à environ 300 m et une nappe libre traverse le site en s'écoulant du nord-est vers le sud-ouest. Il s'agit de la masse d'eau des argiles bleues du Pliocène inférieur de la vallée du Rhône (FRDG531) influencée par la masse d'eau des limons et alluvions quaternaires du Bas-Rhône et de la Camargue (FRDG504) et celle des cailloutis de la Crau (FRDG104). Des prospections pédologiques ont permis d'identifier un sol limono-argileux d'alluvions calcaires du Rhône (voir Annexe 1 ; Charbonnier, 2014).

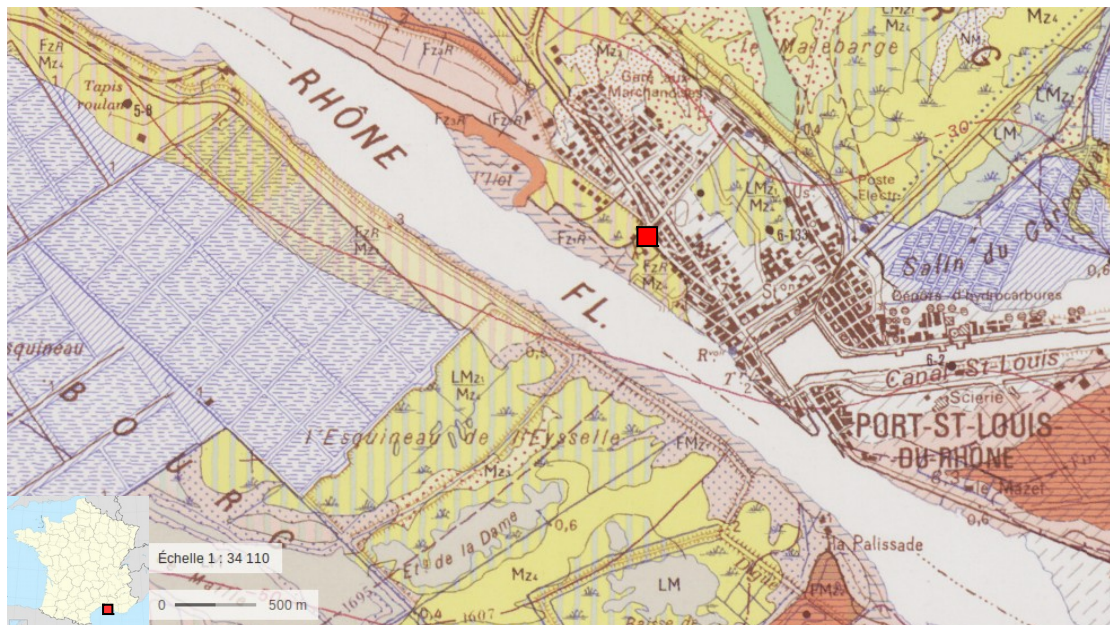


Figure 10 : Carte géologique de la zone d'étude (BRGM, 2017)

4.1.2 Paramètres pédochimiques

Les résultats de l'analyse des paramètres pédochimiques des différents horizons de sol (jusqu'à 205 cm) (Tableau 4) indiquent que le sol présente une texture fine limono-argilo-sableuse dans l'horizon de surface. La teneur en matière organique est supérieure à l'optimum pédologique estimé par Dexter et al. (2008) qui correspond à 17 % du taux d'argile, soit 3,74 % pour l'horizon de surface. Les taux élevés en matière organique et en azote total sont liés à l'apport d'amendements organiques sur le sol de jardin. Le rapport C/N indique une bonne activité microbienne dégradante et le pH supérieur à 7 pour chaque horizon témoigne d'un sol légèrement alcalin. La CEC reflète une importante disponibilité en cations et la concentration en NaO_2 indique une salinité importante pour l'ensemble des horizons, avec un gradient de concentration jusqu'à 100 cm. Tous ces paramètres sont assez homogènes à la surface des différentes parcelles, excepté la salinité, qui est plus importante à la surface de la parcelle mélange (Tableau 5), et le rapport C/N. Le rapport C/N et la teneur en azote total sur la parcelle sol nu et l'horizon de surface de la carotte de sol (réalisée à proximité de la parcelle sol nu) sont significativement différents de ceux mesurés sur les deux autres parcelles de culture. Ceci pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité du sol en matière

d'amendement en engrais azotés, d'autant plus que la parcelle expérimentale occupe une zone antérieurement divisée en plusieurs jardins tous gérés différemment.

Tableau 4 : Paramètres pédochimiques du profil de sol

Profondeur (cm)	HORIZONS DE SOL						
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100	100-145	145-205
Sable grossier(%)	4,7	1,1	0,8	2,2	0,4	0	0,8
Sable fin(%)	18,9	6	7,8	28,4	25,6	1,3	7,1
Limon grossier(%)	28,1	27,3	24,3	29,2	34,5	67,2	23,2
Limon fin(%)	26,4	37,2	36,9	25,5	23,5	12,4	31,4
Argile(%)	22	28,5	30,2	14,8	16	19,1	37,5
pH	8,5	9,1	9,2	9,4	9,5	8,8	8,8
NaO ₂ (g/kg)	0,478	0,655	0,848	0,961	1,224	0,275	0,279
MO (%)	5,7	3	2,5	1,4	1,4	1,5	2,5
Corg (%)	3,3	1,8	1,5	0,8	0,8	0,9	1,5
Ntot (g/kg)	2,76	1,26	0,81	0,46	0,38	0,42	0,68
C/N	12	14,1	18,1	18,4	21	21,1	21,9
CEC (me/100g)	14,3	11,8	9,8	6,7	6,3	11,0	14,0

Tableau 5 : Paramètres pédochimiques du sol contrôle (terreau et terre végétale TV) et du sol de surface des différentes parcelles de culture

	SURFACE			
	P. luzerne	P. mélange	P. sol nu	TV
Sable grossier(%)	5,6	7,5	5,7	20,3
Sable fin(%)	19,4	14,5	22,2	5,1
Limon grossier(%)	29,6	30,6	27	43,2
Limon fin(%)	20,8	22,4	22,1	9,2
Argile(%)	24,6	25,0	23,0	22,3
pH	8,6	8,6	8,6	7,5
NaO ₂ (g/kg)	0,485	0,741	0,52	0,539
MO (%)	4,9	5,8	5,2	17
Corg (%)	2,9	3,4	3	9,9
Ntot (g/kg)	1,46	1,64	2,19	3,3
C/N	19,6	20,5	13,8	30
CEC (me/100g)	13,4	14	12,7	47,9

4.2 Contamination aux HAP et origines

4.2.1 Contamination du sol

4.2.1.1 Répartition des teneurs en HAPtot

Les résultats de quantification des HAP totaux obtenus par GC-MS pour les prélèvements réalisés sur la carotte de sol sont présentés Figure 11. On remarque immédiatement que la distribution des HAPtot dans le sol diminue avec la profondeur. En atteignant en surface jusqu'à 5035 µg/kg, les teneurs en HAPtot dépassent largement le seuil des concentrations naturelles pour un sol de prairie, estimé entre 100 et 1000 µg/

kg par l'INERIS (2005). Les concentrations en HAP présentent une diminution significative jusqu'à 80 cm de profondeur, puis une stabilisation des concentrations à environ 239 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Cette évolution indique une contamination en HAP d'origine anthropique atteignant au moins 50 cm de profondeur au regard des teneurs mesurées. Le labour, lié aux activités de jardinage, pourrait expliquer l'importance des teneurs en HAPtot jusqu'à 50 cm de profondeur.

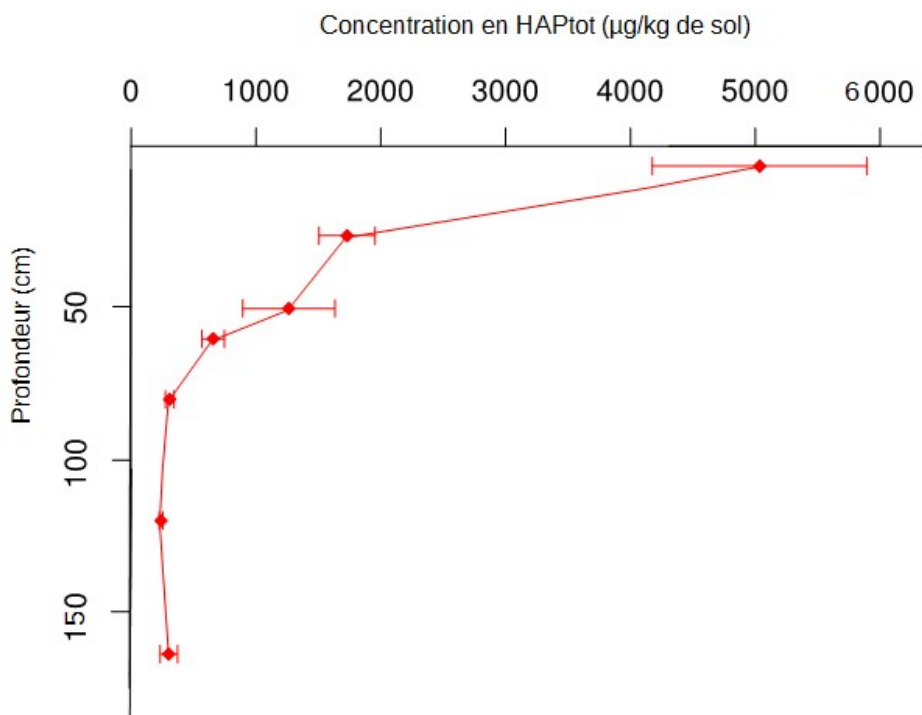


Figure 11 : Répartition des teneurs en HAPtot dans le profil de sol

Ainsi, la distribution des HAP dans le profil de sol suggère une contamination anthropique, soit historique (présence d'un ancien dépôt de carburant à quelques centaines de mètres du site, BASIAS, 2018), soit diffuse par apports atmosphériques. Les apports de limons du Rhône lors des périodes de crue peuvent aussi être considérés comme une source potentielle.

Afin de mieux caractériser la mobilité de cette contamination, la quantification des HAP lixiviables est une étape incontournable. Elle permet de déterminer le potentiel de contamination des nappes phréatiques par lixiviation et apporte des précisions sur la fraction d'HAP biodisponibles. En effet, la détermination de la fraction biodisponible des HAP a fait l'objet de nombreux travaux de recherches permettant de développer plusieurs méthodes telles que la méthode à cible biologique (Kelsey et al., 1997), la méthode d'extraction par un solvant peu agressif (Liste et Alexander, 2002) ou encore la méthode d'extraction en phase solide (Barnier, 2009). Cependant, aucune d'entre elles n'a fait consensus pour l'établissement d'une méthode normalisée (Liste et Alexander, 2002 ; Barnier, 2009) et de nombreux travaux estiment la fraction biodisponible par la capacité de lixiviation des HAP du sol. La quantification des HAP lixiviables a mis en évidence une faible capacité de lixiviation. En effet, les teneurs en HAP lixiviables n'excèdent jamais 2,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en HAPtot, quelle que soit la profondeur du prélèvement analysé. Cette faible proportion des HAP lixiviables est observée par plusieurs auteurs dans le cas de sols pollués par des HAP en condition saturée (Enell et al., 2004 ; Benhabib, 2005 ; Gujisaite, 2008). Par ailleurs, selon Pelletier (2009), l'augmentation de la salinité réduit la solubilité des HAP et favorise leur adsorption à la surface des particules solides. Enfin, la faible capacité de lixiviation des HAP peut être consécutive à l'immobilisation des composés les plus anciens par séquestration. En effet selon Bogan et al. (2003), la séquestration des HAP est d'autant plus importante que leur temps de contact avec la matrice solide est long. Ce résultat nous confirme le faible transfert des

HAP de surface vers les horizons profonds. Il semble indiquer, par ailleurs, une faible disponibilité pour la dégradation microbienne (Denis et Rollin, 2014).

4.2.1.2 Composition des HAP dans le sol

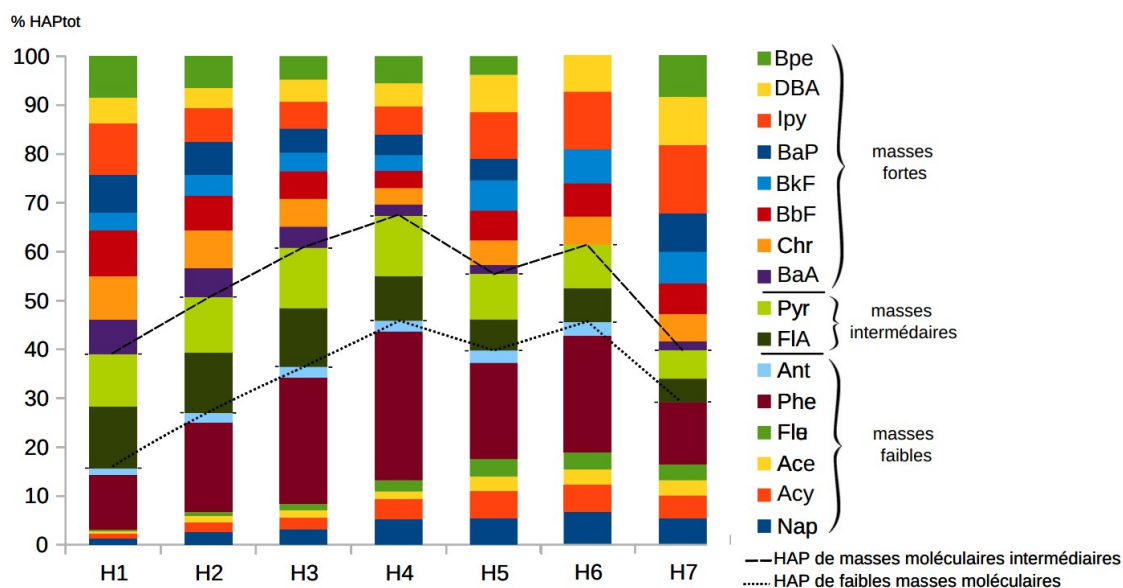


Figure 12 : Répartition relative des différents HAP dans les horizons de sol

La Figure 12 présente la répartition relative des congénères d'HAP aux différentes profondeurs analysées. On constate une évolution des répartitions des composés avec la profondeur. En effet, dans les horizons de surface, les composés de masses fortes sont majoritaires, leur proportion diminue avec la profondeur jusqu'à H6. Au contraire, la proportion de composés de faibles masses moléculaires augmente jusqu'à H6 alors que H7 présente à nouveau une dominance en HAP lourds (Tableau 6). Cette répartition des HAP, avec une prédominance des HAP de 4 à 6 cycles en surface, pourrait indiquer qu'ils proviennent de la combustion de combustibles fossiles principalement (Wang et al., 2004) apportés par dépôts atmosphériques. Par ailleurs, les HAP légers sont les plus volatils, donc potentiellement les moins persistants en surface (Wilcke, 2000). Ce sont également les HAP les plus solubles, ils ont une tendance à l'évaporation mais aussi à la dilution dans les masses d'eau (Khim et al., 2001) et donc à l'infiltration dans les couches inférieures du sol par lixiviation. Les HAP légers sont aussi les plus sensibles à la dégradation microbienne (Brion et al., 2005). De plus, les processus de biosynthèse de la matière organique, principaux processus de formation pétrogénique des HAP (Krauss, 2005), apporte principalement des HAP à 2 ou 3 cycles (Tsiart et al., 2013) rencontrés en majorité entre H4 et H6 en profondeur. La forte proportion d'HAP lourds dans H7 semble indiquer un autre type d'apport vraisemblablement d'origine hydrique.

Tableau 6 : Teneur en HAP dans les horizons de sol en µg/kg MS

µg/kg	Nap	Acy	Ace	Fle	Phe	Ant	FIA	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	lpy	DBA	Bpe	HAP tot
H1	60,8	33,6	23,2	17,9	405,9	79,9	617,6	525,0	392,5	480,3	488,4	227,5	403,2	537,9	330,5	411,3	5035,5
H2	39,9	27,9	19,3	11,5	339,1	32,7	229,3	209,6	103,4	140,2	122,2	65,4	108,9	112,4	64,3	103,2	1729,2
H3	37,6	23,9	16,9	12,5	362,9	25,4	167,7	170,7	54,4	72,8	67,9	39,2	52,3	57,8	52,6	48,0	1262,8
H4	35,4	24,5	7,4	11,5	244,2	13,7	70,7	95,8	11,3	18,9	16,3	11,8	15,7	27,5	26,4	25,4	656,5
H5	16,9	15,6	8,0	9,1	81,7	7,1	24,0	36,4	4,3	14,1	14,8	13,3	10,5	23,2	22,4	7,0	308,4
H6	16,1	10,5	4,3	5,7	79,7	5,4	20,1	25,1	0,0	12,5	13,0	12,5	0,0	21,2	12,9	0,0	238,9
H7	16,2	11,6	7,7	7,5	51,6	0,0	16,9	19,4	4,4	17,2	17,2	16,3	20,3	42,6	30,4	21,6	301,0

4.2.1.3 Origine potentielle des HAP

Dans l'environnement, les HAP ont principalement deux origines différentes : pétrogénique ou pyrolytique. Dans le premier cas, ils proviennent de phénomènes diagénétiques de dégradation de la matière organique soumise à un gradient géothermique des milieux sédimentaires profonds. Ils sont introduits dans l'environnement suite à des suintements naturels ou des déversements anthropiques de produits pétroliers bruts. Le naphthalène, le phénanthrène et leurs dérivés alkyles sont les principaux HAP présents dans ces matériaux (Wang et al., 2004). Dans le cas d'une origine pyrolytique, les HAP sont issus de la combustion à très hautes températures de matière organique. Les HAP pyrolytiques sont principalement issus de l'activité industrielle, du trafic routier ou du chauffage (Baumard et al., 1998). Des combustions naturelles telles que les feux de forêts ou des pratiques d'écobuage peuvent également en être à l'origine (Sims et al., 1983). Les HAP pyrolytiques sont constitués de composés d'une large gamme de poids moléculaires contrairement aux HAP pétrogéniques qui sont dominés par des HAP de faibles masses moléculaires (Krauss, 2005 ; Tsibart et al., 2013). En étudiant la distribution des différents HAP générés, il est possible de déterminer l'empreinte de la contamination et son origine potentielle (Baumard et al., 1998 ; Tsibart et al., 2013).

Employé par plusieurs auteurs, le rapport fHAP/FHAP (composés de faibles masses moléculaires / composés de forts poids moléculaires) se base sur la composition différentielle des HAP pyrolytiques et des HAP pétrogéniques, surtout composés de 2 ou 3 cycles (Budzinski et al., 1997, Chen et al., 2011). On considère que lorsque le rapport est supérieur à 1, l'origine est pétrogénique. La Figure 13 présente l'évolution de ce rapport avec la profondeur. Jusqu'à 50 cm de profondeur, le rapport est inférieur à 1. Or, c'est jusqu'à 50 cm que la concentration en HAP_{tot} dépasse 1000 µg/kg. Ces observations suggèrent donc que la contamination est d'origine pyrolytique. Après 70 cm, le rapport augmente jusqu'à dépasser 1, puis diminue à nouveau à 150 cm de profondeur. Les valeurs du rapport supérieures ou proches de 1 entre H4 et H6 mettent en évidence l'origine pétrogénique des HAP dont les teneurs varient de 239 à 657 µg/kg. Les écarts-types importants mesurés en H4 et H5 pourraient s'expliquer par l'influence des horizons supérieurs. La valeur d'environ 0,4 estimée pour H7 souligne l'origine pyrolytique des HAP de cet horizon semblant confirmer l'influence importante d'une autre source d'HAP. L'hypothèse la plus forte semble être un apport du Rhône par infiltration dans les couches profondes.

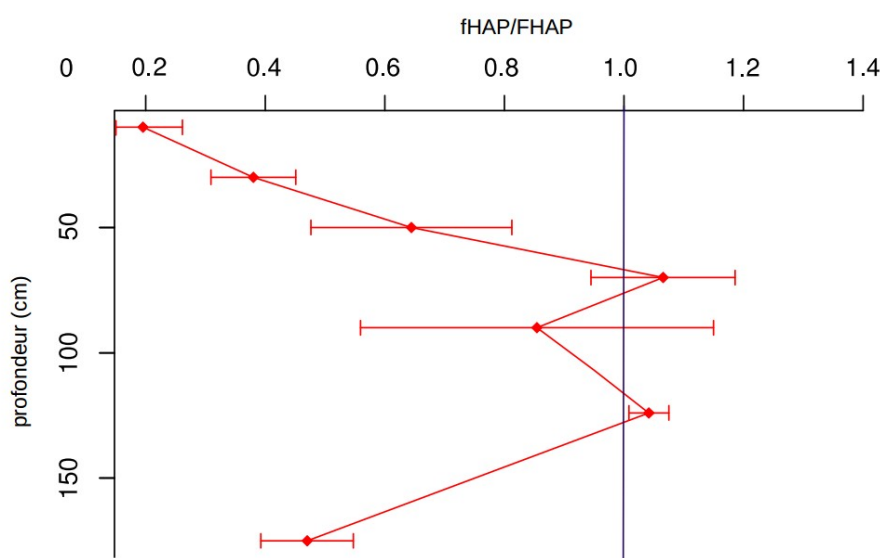


Figure 13: Evolution du rapport fHAP/FHAP avec la profondeur

4.2.2 Apports atmosphériques et hydriques

4.2.2.1 Le Rhône

Les analyses réalisées sur les eaux du Rhône (phases particulaire et dissoute) n'ont révélé aucune trace significative d'une contamination en HAP. Ceci permet d'exclure le Rhône comme une éventuelle source de contamination de surface via les épisodes de crues.

4.2.2.2 Les particules totales en suspension (TSP)

Tableau 7 : Récapitulatif des quantités totales en HAP retrouvées dans les TSP et des dépôts atmosphériques en HAP_{tot} sur les différents sites comparés

	Quantité HAP _{tot} TSP ($\mu\text{g}/\text{kg MS}$)	Dépôt atmo HAP _{tot} ($\text{ng}/\text{m}^2/\text{j}$)
TSP-PSL	849	189,32
TSP-PdB	342	45,29
TSP-FOS	2440	239,36

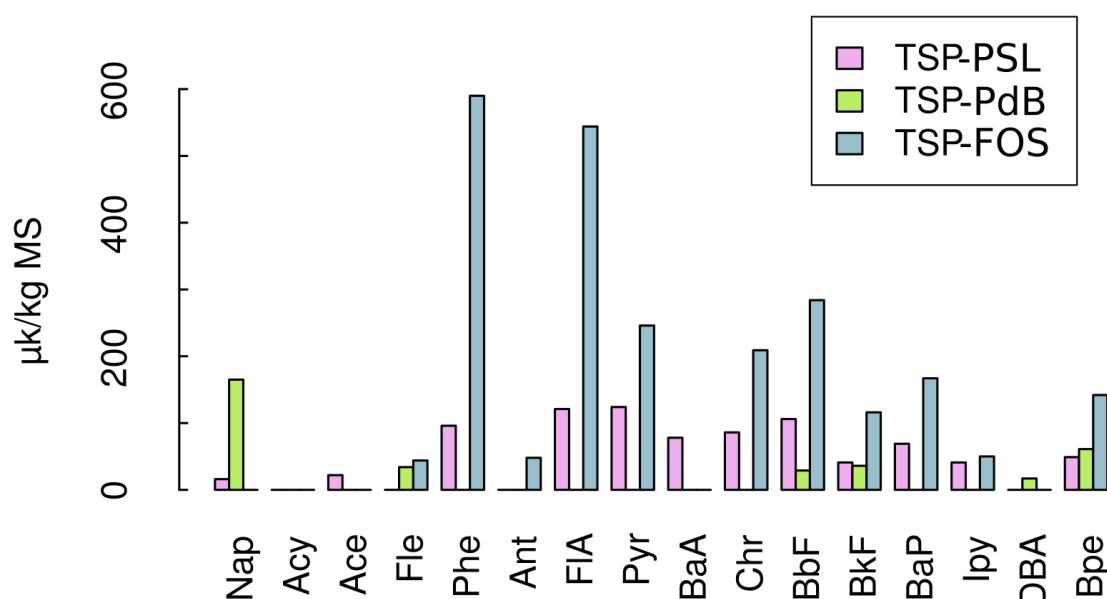


Figure 14 : Composition des TSP collectées sur différents sites : jardins de Port-Saint-Louis-du-Rhône (TSP-PSL), à proximité d'une raffinerie à Port de Bouc (TSP-PdB) et à Fos-sur-Mer (TSP-FOS)

Les analyses réalisées sur les particules totales en suspension révèlent un apport atmosphérique de particules en suspension relativement important. En effet, les prélèvements réalisés par jauges Owen ont mis en évidence un apport de TSP estimé à 223 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ sur les parcelles de culture, un empoussièrément considéré comme fort selon l'INERIS (2005). La Figure 14 présente la composition en HAP des TSP en $\mu\text{g}/\text{kg MS}$ récoltées sur les parcelles de cultures comparées à des relevés réalisés à proximité de raffineries à Fos-sur-Mer et Port-de-Bouc respectivement aux printemps 2016 et 2017. On observe que pour la majorité des composés, les TSP de Port-Saint-Louis-du-Rhône sont moins riches en HAP que celles de Fos-sur-Mer mais plus chargées en HAP que celles prélevées à Port-de-Bouc. Comme le confirme le Tableau 7, les TSP des jardins sont plus riches en HAP_{tot} que celles de Port-de-Bouc. En terme de flux (Figure 15), l'apport journalier en HAP atmosphériques sur les parcelles de jardins est plus important qu'à Port-de-Bouc, à

proximité d'une raffinerie, et ce pour presque tous les composés exceptés pour Nap, Fle, Bpe et DBA. Par ailleurs, du fait d'un apport de particules plus important à Port-Saint-Louis-du-Rhône qu'à Fos-sur-Mer, certains HAP présentent un flux plus important sur les parcelles de jardins qu'à Fos-sur-Mer où l'activité industrielle est plus intense. C'est le cas de Ace, Pyr, BaA et Ipy.

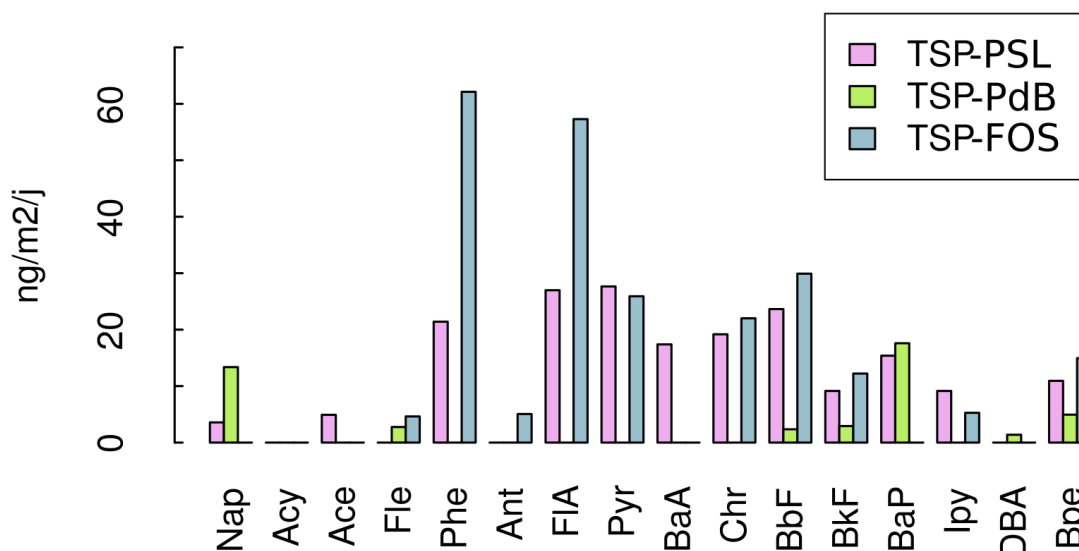


Figure 15 : Estimation du flux de dépôts atmosphériques en HAP sur différents sites : jardins de Port-Saint-Louis-du-Rhône (TSP-PSL), à proximité d'une raffinerie à Port de Bouc (TSP-PdB) et à Fos-sur-Mer (TSP-FOS)

La Figure 16 présente la composition des HAP retrouvée à la surface des sols de jardins et dans les TSP collectées. On observe que les deux distributions sont assez similaires, ce qui est confirmé par un test de Friedman pour données non paramétriques (p -value = 0,32). Cela confirme donc l'origine atmosphérique de la contamination. Il est également à noter que pour le Bpe, des problèmes lors de l'analyse ont été rencontrés. La marge d'erreur pour ce composé est donc plus élevée que pour les autres, ce qui peut expliquer les différences observées entre la composition chimique des TSP et des HAP rencontrés à la surface du sol.

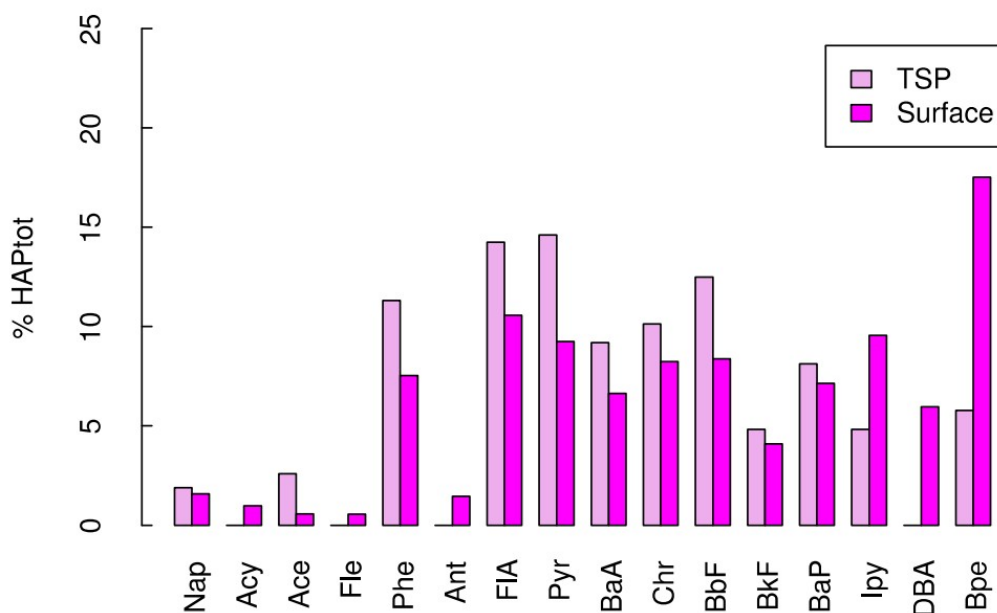


Figure 16: Composition des HAP retrouvés à la surface des sols de jardins et dans les TSP

4.3 Phytoremédiation du sol contaminé

4.3.1 Evolution des paramètres pédochimiques

Le Tableau 9 présente les différents paramètres pédochimiques analysés avant et après mise en place du couvert pour chaque condition expérimentale. En ce qui concerne la luzerne et le mélange prairial, une augmentation du carbone organique entre T0 et T1 est observée, liée à l'apport de matière organique par le couvert végétal. Une augmentation de l'azote total de plus de 40 % pour les deux cultures est aussi mesurée, encore une fois expliquée par le couvert et plus particulièrement par la luzerne et le trèfle qui sont tous deux des légumineuses qui participent à l'incorporation d'azote dans le sol. Ces modifications des teneurs en azote et en carbone expliquent la modification du rapport C/N. En effet, la revégétalisation du sol a entraîné une nette diminution de ce rapport pour les deux cultures d'environ 30 %. La diminution de ce rapport se traduit par un accroissement de la vitesse de minéralisation : les besoins en azote sont couverts. De plus, il renseigne sur l'activité biologique du sol et met en évidence une meilleure dégradation de la matière organique du sol par les micro-organismes. Ce constat peut être la conséquence d'une plus grande diversité et abondance des microorganismes du sol sous luzerne ou plantes fourragères améliorant les conditions agronomiques du sol. La salinité entre T0 et T1 pour la luzerne et le mélange diminue également, phénomène qui pourrait s'expliquer par l'effet de dilution apporté par les précipitations nombreuses au cours des neuf premières semaines de culture. En effet, presque 40 mm de pluie sont tombés sur la zone dans les jours précédents la récolte (voir Annexe 2). Par ailleurs, les plantes sont capables de capter le sodium et de l'accumuler dans leurs organes aériens dans le but de désaliniser leur substrat (Slama, 1986). Il est possible que cette stratégie d'inclusion du sodium ait eu lieu pour le sol sous couvert. De manière plus globale, on constate une amélioration des qualités agronomiques du sol après mise en place du couvert de monoculture de luzerne ou de composition prairial.

Tableau 8 : Paramètres pédochimiques du sol aux différentes conditions

	pH	NaO2 (g/kg)	MO (%)	Corg (%)	Ntot (g/kg)	C/N	CEC (mé/100g)
T0 luzerne	8,6	0,485	4,9	2,9	1,5	19,6	13,4
T1 pot sol luzerne	8,6	0,223	6,5	3,8	2,7	13,8	13,8
T1 luzerne	8,7	0,309	6,0	3,5	2,5	13,7	13,3
T0 mélange	8,6	0,741	5,8	3,4	1,6	20,5	14,0
T1 pot sol mélange	8,5	0,184	6,9	4,0	2,6	15,2	14,6
T1 mélange	8,4	0,241	6,0	3,5	2,7	13,3	14,7
T0 nu	8,6	0,520	5,2	3,0	2,2	13,8	12,7
T1 pot sol nu	8,9	0,377	5,6	3,2	2,4	13,4	13,2
T1 nu	8,6	0,545	6,3	3,7	2,4	15,2	12,4
T0 terreau	7,5	0,539	17,0	9,9	3,3	30,0	47,9
T1 luzerne terreau	7,7	0,600	49,4	24,7	6,7	3,7	70,1
T1 mélange terreau	8,0	0,382	49,4	24,7	6,7	3,7	74,8
T1 nu terreau	8,1	0,223	49,2	24,6	6,3	3,9	67,8

En ce qui concerne le sol nu, les paramètres mesurés en T0 présentent de faibles variations par rapport aux paramètres mesurés en T1, même pour la salinité. Ceci pourrait s'expliquer par la formation d'une croûte de battance sur le sol nu qui aurait empêché l'infiltration de l'eau des précipitations et donc aurait limité l'effet de dilution, d'autant plus que sans couvert végétal, il n'y a pas d'éventuelle séquestration du sodium par les plantes.

Pour le terreau, on note une variation importante des teneurs en carbone organique et azote total par rapport à T0 qui sème le doute concernant la fiabilité du résultat pour la teneur en Corg à T0. En effet, la teneur en carbone organique indiquée sur la notice du terreau et de la terre végétale était de 80 % et 5,90 % de matière sèche respectivement, proche des teneurs mesurées en T1.

4.3.2 Evolution des teneurs en HAP

La Figure 17 présente le résultat des comparaisons des concentrations totales en HAP retrouvées à T0 et T1 pour les différents couverts. Une tendance à la diminution des concentrations en HAP est constatée pour les trois conditions, elle n'est toutefois significative que dans le cas du couvert de plantes fourragères (p -value = 0,038) avec une réduction de près de 1500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ des HAP entre T0 et T1, soit 31 % de diminution. Pour le sol sous luzerne, la diminution de la concentration en HAP totaux est de 26 %, et elle est de 29 % pour le sol nu. La répartition des congénères à T0 et T1 est présentée en Figure 18. Pour le couvert de plantes fourragères, FlA, Pyr, Chr et DBA diminuent significativement entre T0 et T1. Pour le sol nu, un plus grand nombre de composés connaissent une diminution significative : Phe, Ant, FlA, Pyr, Ipy, DBA. Pour le couvert de luzerne, une diminution significative est observée pour Phe, Pyr et DBA, couplée à une augmentation significative de la concentration en Fle. Ces différentes évolutions des concentrations reflètent la dynamique des HAP dans les différentes conditions de culture.

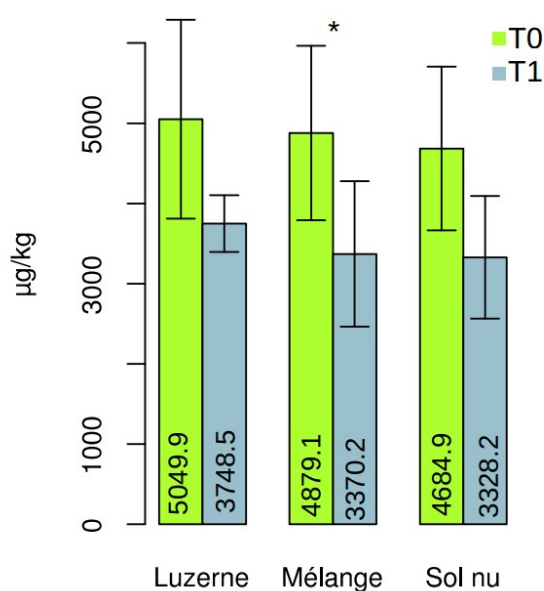
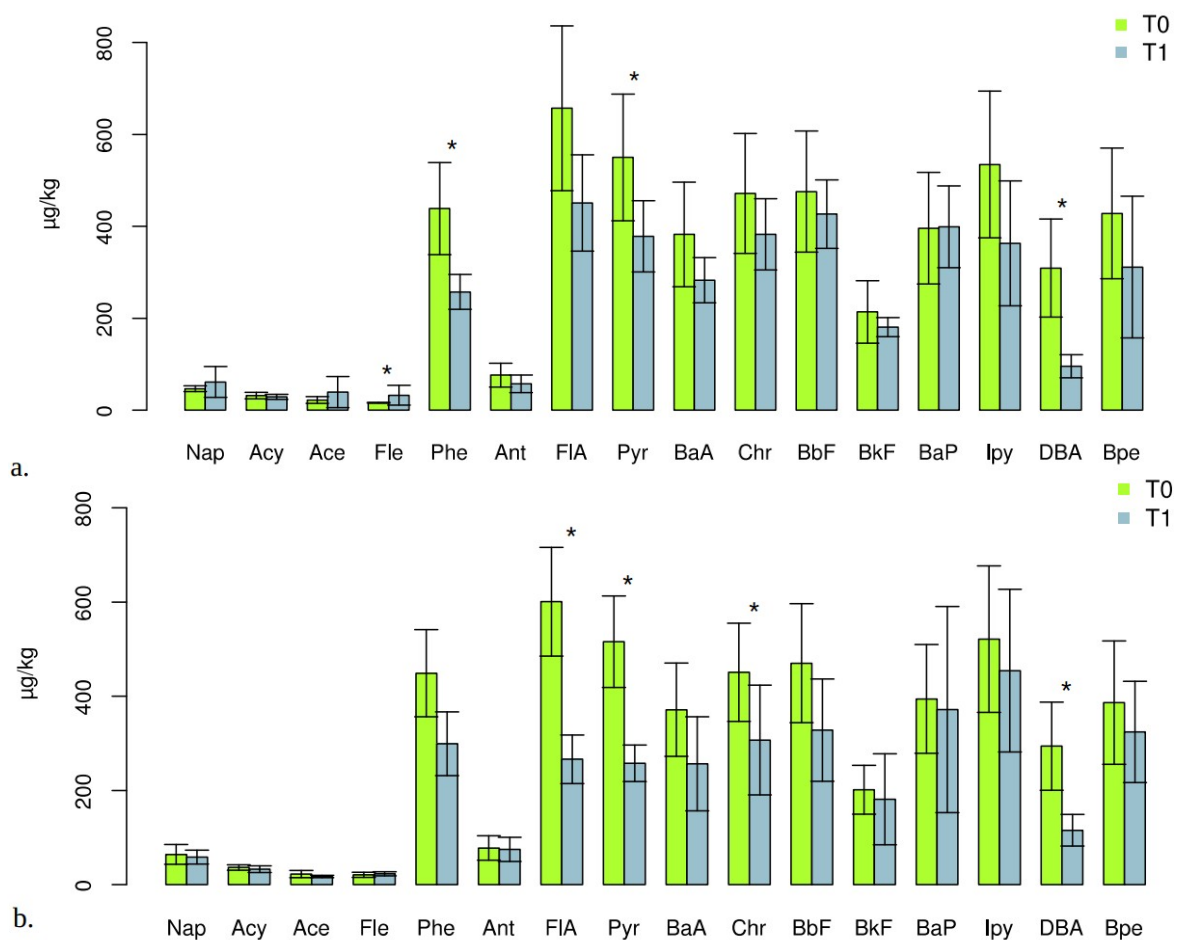


Figure 17 : Comparaison des concentrations totales en HAP dans le sol à T0 (N = 4) et à T1 (N = 6) pour la culture de luzerne, la polyculture de plantes fourragères (mélange) et le sol nu (test de Wilcoxon ; $p < 0,05$)

Dans un premier temps une évolution temporelle des concentrations est constatée, elle peut être liée à l'évolution des paramètres météorologiques. La hausse des températures (voir annexe 2) peut être responsable d'une augmentation de la volatilisation des HAP de surface, ce qui expliquerait la diminution des concentrations en HAP, notamment pour le sol nu. A ce phénomène, peut s'ajouter l'effet du couvert. Les composés à 3 et 4 cycles sont ceux qui semblent être le plus impactés pour les sols sous couverts, or les HAP ayant un petit nombre de cycles aromatiques sont ceux qui sont le plus facilement dégradés par les micro-organismes (Lei et al., 2005). Par ailleurs, pour le sol sous luzerne, une tendance à l'augmentation de la

concentration des composés les plus légers est observée, notamment de Fle qui subit une hausse significative de 50,2 %. Il pourrait s'agir ici des produits de dégradation des congénères les plus lourds.

Une diminution significative de Pyr est mesurée pour le sol sous luzerne et le sol sous mélange prairial avec respectivement des diminutions de 31 % et 50 % contre une diminution de 26 % pour le sol nu. Cette dissipation significative de Pyr pour les sols végétalisés est également observée par Liste et al. (2000) et Gao et al. (2004). Par ailleurs, on note une diminution significative du DBA sur l'ensemble des conditions et pour Ipy sur le sol nu. Sur des sols non végétalisés, plusieurs auteurs ont déjà noté la dissipation significative de composés lourds, qui n'avait pas eu lieu sur les sols sous couverts, comme c'est le cas ici pour l'Ipy (Liste et al., 2000 ; Liste et Prutz, 2006). La réduction des teneurs en DBA dans l'ensemble des conditions de culture peut être la conséquence des associations symbiotiques entre le réseau racinaire et les champignons permettant la formation de mycorhizes arbusculaires qui facilitent la dégradation de ce type de composés (Joner et al., 2001). Par ailleurs, le BaP, l'un des HAP les plus toxiques selon l'INERIS (2003), voit sa concentration se maintenir pour les trois couverts. Il ne semble donc pas être sensible au traitement de phytoremédiation à l'échelle des 9 semaines d'expérimentation. Les prélèvements et analyses de sol à T2 après 15 semaines de traitement permettront éventuellement d'observer une évolution des concentrations pour ce composé très persistant. En effet, les traitements de phytodégradation sont, dans la littérature, appliqués pendant de longues périodes (90 jours au minimum) afin d'observer des résultats concluants (Ouvrard, 2016).



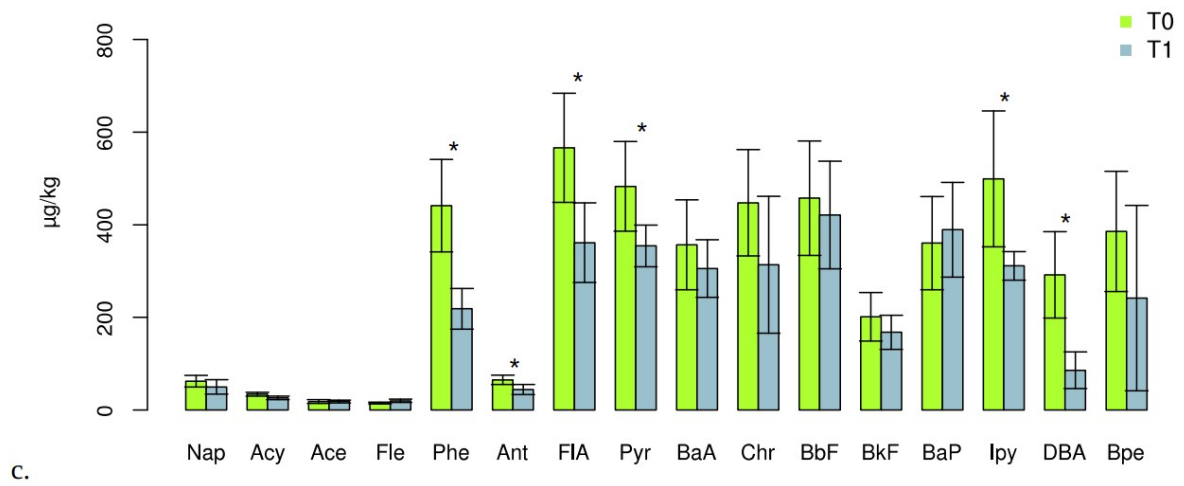


Figure 18 : Comparaison des concentrations des 16 HAP dans le sol à T0 (N = 4) et à T1 (N = 6) pour a. la culture de luzerne ; b. la polyculture de plantes fourragères ; c. le sol nu (test de Wilcoxon ; $p < 0,05$)

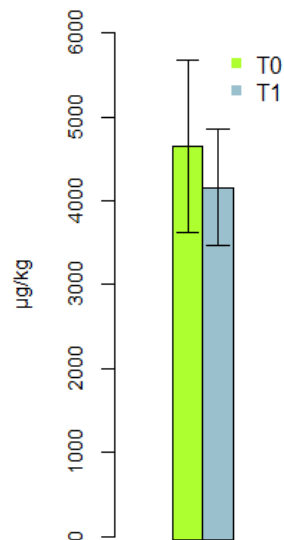


Figure 19 : Comparaison des concentrations totales en HAP dans le sol nu à T0 (N = 4) et à T1 (N = 2) dans le pot sol nu

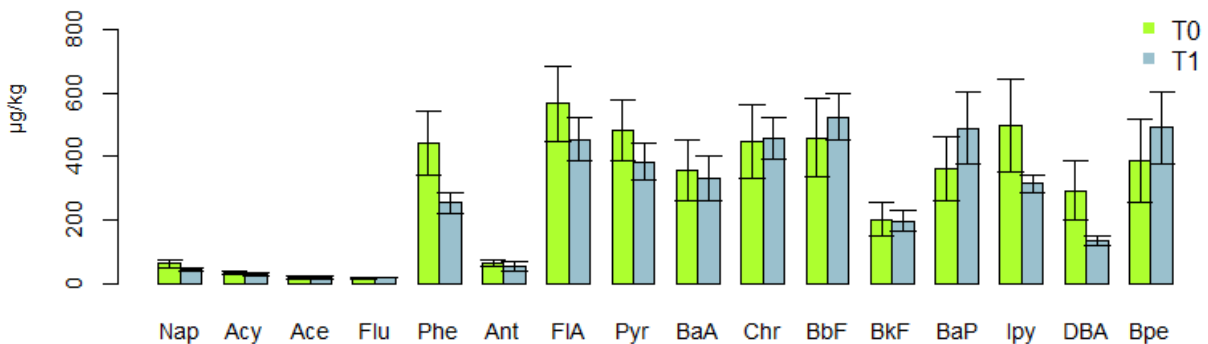


Figure 20 : Comparaison des concentrations des 16 HAP dans le sol nu à T0 (N = 4) et à T1 (N = 2) dans le pot sol nu

En plus de l'effet direct des végétaux sur les HAP, l'évolution des paramètres physico-chimiques du sol intervient forcément dans la dynamique des contaminants. En particulier, intervient l'augmentation du carbone organique que constituent les rhizodépôts, observée principalement dans les parcelles sous couverts végétaux, et qui favorise l'abondance et l'activité des micro-organismes (Corgie et al., 2004). Selon Ouvard (2016), peuvent également intervenir des modifications locales du pH et de la CEC, influencés par la production d'exsudats racinaires et de molécules organiques. Les exsudats qui peuvent avoir des propriétés complexantes ou surfactantes et favoriser l'adsorption des HAP sur la matière organique via des augmentations locales du Corg et donc réduire leur disponibilité. Il est impossible ici d'évaluer l'ampleur de ce phénomène sans quantification des HAP disponibles mais il est possible que ce processus ait eu lieu. Selon le même auteur, la concentration en HAP totaux est surtout influencée par la CEC et la teneur en limons dans le sol. En effet, les limons constituent la fraction granulométrique qui séquestre le plus les HAP, c'est pourquoi leur abondance tend à contrôler la disponibilité des HAP. Ici, la teneur en limons entre les sous-parcelles étant plutôt homogène (Tableau 5) et n'évoluant pas dans le temps, elle intervient probablement peu dans l'évolution des concentrations en HAPtot. La CEC pourrait quant à elle expliquer en partie l'efficacité du couvert de polyculture sur la dissipation des HAP totaux étant donné son augmentation entre T0 et T1.

L'ensemble de ces résultats confirme donc un effet de dissipation des HAP après 9 semaines, et ce pour l'ensemble des couverts pour plusieurs composés. Il est important de noter qu'au bout de 4 semaines d'expérimentation, il y a eu apparition d'une végétation spontanée sur la sous-parcelle de sol nu qui n'a pas été éliminée. Il est donc possible que l'effet de dissipation des HAP observé dans ce cas soit influencé par ce couvert. En comparant les teneurs en HAP à T0 sur le sol nu et à T1 sur le pot sol nu (Figure 19), qui lui a été désherbé régulièrement afin d'éviter toute colonisation par la végétation spontanée, une diminution non significative de 10 % des HAPtot est observée contre une diminution non significative de 29 % sur la parcelle de sol nu. Concernant l'évolution des concentrations des 16 HAP (Figure 20), aucune dissipation significative n'est à noter dans le pot de sol nu, mais des tendances à la diminution des concentrations de certains composés sont constatées (Phe, FIA, Ipy, DBA). Par ailleurs des tendances à l'augmentation des concentrations de certains composés comme Chr, BbF, BaP et Bpe ont été observées. Ainsi, ces résultats suggèrent un effet faible du couvert sol nu sur la dissipation des HAP et nuancent les observations réalisées sur le sol de la sous-parcelle sol nu.

4.3.3 Evolution de l'activité biologique du sol

Activité respiratoire

Le Tableau 10 présente les résultats de mesures réalisées avec le LI-COR 6400-09 avant et après mise en place du couvert sur chaque sous parcelle. Le flux de CO₂ du sol végétalisé a bondi pour les deux conditions. Pour le sol sous mélange prairial et le sol sous luzerne, il a été multiplié respectivement par 8 et par 1,7 entre T0 et T1. Pour le sol nu, le flux reste stable. Une hausse sensible de la température du sol est également à noter, passant en moyenne de 13,8 °C à T0 à 20/23 °C à T1 suivant les conditions. Selon Widen (2002), la température influence considérablement l'activité biologique en entraînant une augmentation de la respiration du sol. Ce paramètre ne pourrait toutefois pas expliquer à lui seul la hausse du flux de CO₂ n'étant pas observée pour le sol nu. L'occupation du sol conditionne aussi l'activité biologique du sol et donc sa respiration, notamment en matière de biomasse et de densité racinaire qui fournissent des sources énergétiques aux micro-organismes et qui stimulent l'activité microbiologique (Scott-Denton et al., 2003). Il semblerait donc que les couverts végétaux installés stimulent l'activité biologique du sol, surtout le couvert de polyculture fourragère qui semble avoir un effet particulièrement bénéfique.

Tableau 9 : Présentation des résultats de mesures de respiration, de température et d'humidité du sol

	EFFLUX CO ₂ (µmol/m ² /s)		T (°C) SOL		HR% SOL	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1
Luzerne	3,04	5,06	13,00	20,36	26,42	13,65
Mélange	1,37	11,73	13,97	20,99	21,19	8,80
Sol nu	4,23	4,07	14,30	22,90	22,27	11,77

Il est toutefois important de noter qu'à l'interface sol-atmosphère, le dégagement de CO₂ peut être le résultat de plusieurs processus : l'activité biologique du sol mais aussi l'oxydation chimique de composés carbonés ou la dissolution des carbonates. Comme précisé précédemment, la respiration racinaire et microbienne contribuent à hauteur de 10 à 90 % des émissions totales (Hanson et al., 2000). La distinction de tous ces phénomènes est difficile à établir, néanmoins, des indicateurs supplémentaires de l'activité biologique peuvent être estimés afin d'apporter des précisions, et notamment des indicateurs de l'activité microbiologique.

Activité métabolique de la biomasse microbienne

La Figure 21 présente les AWCD obtenues pour les bactéries et champignons à T0 et T1. On observe une tendance à l'augmentation de l'AWCD à 48 h obtenue pour les bactéries entre T0 et T1 pour chaque condition. Cette tendance est significative pour le couvert de plantes fourragères (mlg) avec une AWCD à 48 h qui passe de 0,9 à 1,3. Cette différence de l'AWCD entre T0 et T1 traduit une hausse significative de l'activité métabolique moyenne des bactéries après la mise en place du couvert prairial, ce qui confirme les observations faites précédemment concernant l'augmentation importante de la respiration du sol pour les mêmes conditions.

Les valeurs de AWCD à 68 h obtenues pour les champignons sont moins claires et présentent des écarts-types importants. Néanmoins, une tendance à l'augmentation entre T0 et T1 est mesurée, ce qui suggère une hausse de l'activité métabolique moyenne des champignons. L'augmentation de l'activité métabolique moyenne des micro-organismes après la mise en place du couvert est donc confirmée. Elle met ainsi en évidence l'influence du couvert végétal sur l'activité microbienne facilitant la dégradation des HAP.

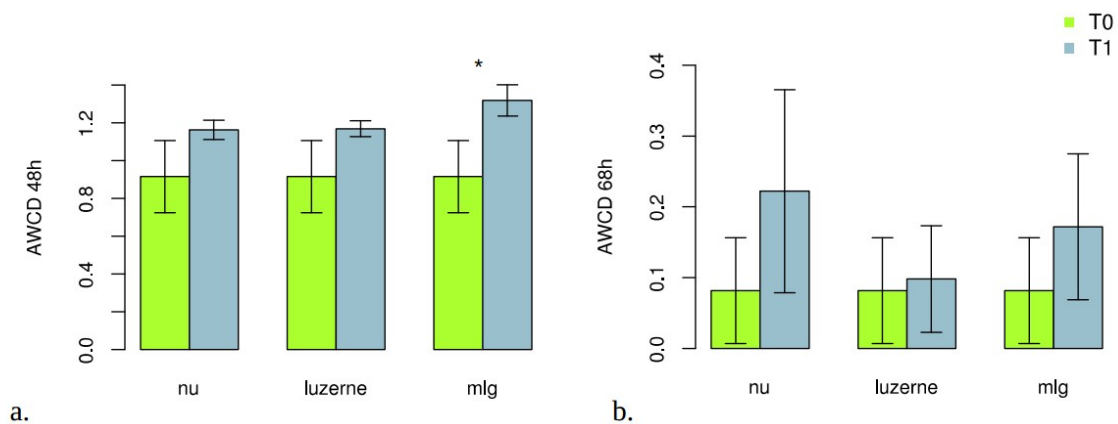


Figure 21 : Représentation des AWCD obtenus pour le sol nu (N = 4), le sol sous luzerne (N = 4) et le sol sous mélange (mlg) de plantes fourragères (N = 4) à T0 et à T1 a. estimé à 48 h pour les bactéries, b. et à 68 h pour les champignons

4.3.4 Bioaccumulation des HAP dans les végétaux

La Figure 22 présente les teneurs en HAP dans les feuilles et racines des différents végétaux après 9 semaines d'installation sur le sol de jardin. Une accumulation des HAP dans les tissus végétaux est observée. Suivant le type de couvert, l'accumulation n'est pas la même. Pour la luzerne, les HAP sont principalement stockés au niveau des feuilles. Les facteurs d'accumulation pour la luzerne sont de 0.21 pour les feuilles et de 0.11 pour les racines. Pour les plantes fourragères, l'accumulation est principalement réalisée dans les racines avec des facteurs d'accumulation pour les plantes fourragères de 0.16 pour les feuilles et de 0.37 pour les racines. L'accumulation n'est toutefois pas la même suivant les espèces. Le ray grass semble être l'espèce la moins accumulatrice, avec en moyenne 598 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les feuilles et 1438 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les racines. Le trèfle accumule de manière plus importante avec en moyenne 873 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les feuilles et 1672 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les racines. Mais c'est la fétuque qui accumule le plus avec 1144 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en moyenne dans les feuilles et 2051 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en moyenne dans les racines. Toutefois, il est difficile de dire si cette accumulation des HAP dans les plantes est bien liée à une absorption racinaire ou s'il s'agit d'une absorption foliaire. En effet, la voie d'absorption préférentielle des HAP par les végétaux est la voie aérienne et le transfert à travers les racines est très faible (Jia et al., 2018). Il est donc impossible de déterminer la part d'HAP directement prélevée dans le sol. D'autant plus que les résultats d'accumulation des végétaux cultivés en pot sur un mélange terreau/terre végétale, montrent des teneurs importantes en HAP dans les tissus végétaux qui ne peuvent pas être simplement dues à une absorption racinaire des HAP présents dans le substrat. Ces observations renforcent encore une fois l'hypothèse de la pollution diffuse d'origine atmosphérique.

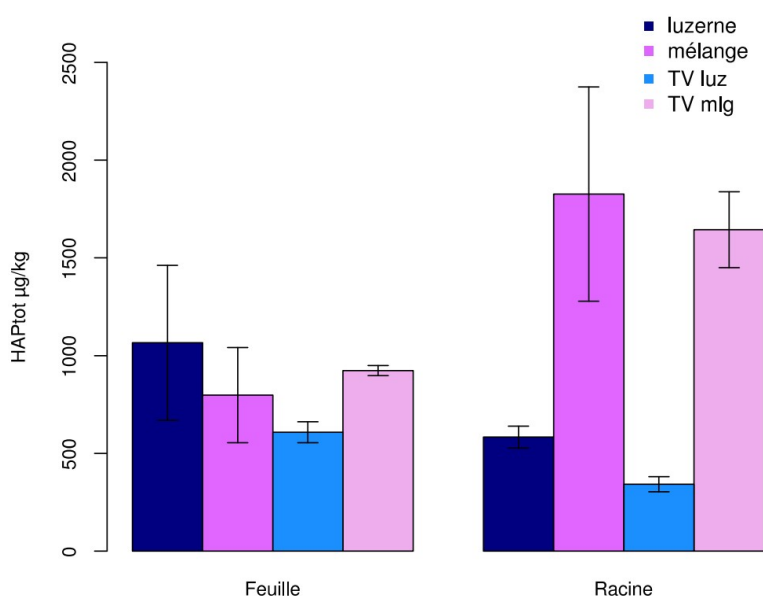


Figure 22 : Répartition des teneurs en HAP retrouvées dans les tissus végétaux du couvert de luzerne (N = 6), du couvert de mélange de plantes fourragères (N = 12), du couvert de luzerne en pot + terreau (TV luz) (N = 2) et du couvert de mélange de plantes fourragères luzerne en pot + terreau (TV mlg) (N = 2)

La mise en évidence de la bioaccumulation des HAP dans les tissus des végétaux employés ici dans le procédé de phytodégradation se présente comme une problématique supplémentaire à prendre en compte dans la gestion du couvert. En effet selon plusieurs auteurs (Krylov et al., 1997 ; Henner, 2000), les HAP présents dans les organes aériens des végétaux réagissent avec les radiations solaires pour former des radicaux libres qui initient des réactions en chaînes avec les oxydes d'azote et dont résulte un grand nombre de photoproduits toxiques comme des dérivés nitrés, halogénés, hydroxylés, etc. De plus, l'accumulation des

HAP soulève la question de l'accumulation de biomasse sous la forme d'une litière riche en HAP et qui constitue une nouvelle source de contamination. Dans l'entretien de la culture, apparaît donc le besoin d'entretenir le couvert en récoltant régulièrement la biomasse aérienne pour éviter un dépôt et une accumulation des tissus contaminés.

4.3.5 Evaluation du procédé de phytodégradation des HAP

La Figure 23 présente l'analyse en composante principale (ACP) réalisée à partir des paramètres pédochimiques, des concentrations pour les 16 HAP ainsi que de l'AWCD mesurée pour les bactéries à 48 h. Les paramètres pris en compte expliquent pour environ 75 % de la répartition des échantillons. L'axe 1, principalement impacté par l'AWCD, le rapport C/N, la salinité et la concentration de la plupart des HAP, expliquent 53,8 % des valeurs. L'axe 2, principalement impacté par le pH et la CEC, explique quant à lui pour 20,3 % des valeurs. L'AWCD des bactéries est anti-corrélée à la salinité et au rapport C/N. La salinité ayant un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne et le rapport C/N étant un indicateur permettant de rendre compte de la dynamique de la matière organique dans le sol, ces observations semblent cohérentes. En effet, une augmentation du rapport C/N suggère un ralentissement de l'activité microbienne et donc se traduit par une diminution de l'AWCD (Lauber et al., 2008). L'AWCD semble par ailleurs anti-corrélée à la plupart des 16 HAP, ce qui suggère que la flore bactérienne du sol a bien une activité dégradante pour ces contaminants. Cette donnée indique aussi que l'activité bactérienne est impactée par la contamination en HAP.

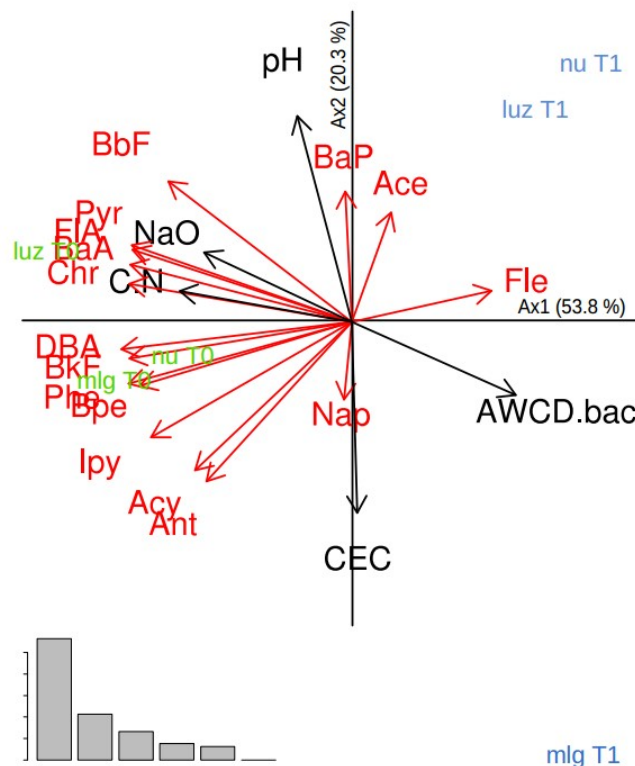


Figure 23 : Résultats de l'analyse en composante principale (ACP) des différents paramètres physico-chimiques du sol, de la concentration des 16 HAP présents dans le sol et de l'AWCD mesurée pour les bactéries à 48 h (N = 6)

On observe par ailleurs une distinction claire entre la répartition des échantillons de sol en T0 et en T1. Les échantillons en T0 se positionnent négativement sur l'axe 1 et sont corrélés à la concentration en

HAP tandis que les échantillons en T1 se positionnent positivement par rapport à l'axe qui privilégie l'AWCD. Ces répartitions suggèrent et confirment la réduction de la concentration en HAP entre T0 et T1 et l'augmentation de l'activité bactérienne qui semble corrélée à la réduction de la concentration en HAP. Par rapport à l'axe 2, les échantillons de T1 divergent dans des directions différentes alors que les échantillons de T0 sont relativement proches. Ceci confirme l'effet des couverts différents sur l'évolution des paramètres pédochimiques et sur la réaction du sol par rapport à certains congénères d'HAP comme le Nap et le BaP.

Ces résultats confirment donc l'effet du couvert sur la dynamique des HAP et sur son rôle pour leur dissipation. Les réductions des concentrations observées laissent à penser qu'une grande partie des HAP présents dans le sol est impactée par le procédé de phytodégradation. La mise en place d'un couvert dans le but de dissiper ces contaminants est donc pertinente, d'autant plus que les couverts testés ici semblent rehausser considérablement les qualités agronomiques du sol. Le couvert constitué du mélange de plantes fourragères semble être le plus efficace ici, il pourrait donc constituer un couvert végétal pertinent à implanter pendant l'hiver ou en interculture pour à la fois améliorer les qualités agronomiques du sol et dissiper les contaminants organiques présents dans le sol de jardin. Toutefois, l'élimination de ce couvert avant la période de semence est indispensable étant donné la bioaccumulation des HAP dans ces organes aériens.

La tendance à la dissipation des HAP observée sur la sous parcelle de sol nu pourrait en partie s'expliquer d'une part par des processus de volatilisation et d'autre part par l'influence de la végétation spontanée apparue au bout de 4 semaines de culture.

Ces observations constituent des résultats préliminaires qui restent à confirmer dans la poursuite de l'étude. De fait, plusieurs phases de prélèvement sont prévues pour évaluer l'évolution des différents paramètres à 18 semaines et 27 semaines. En effet, la durée minimale généralement admise pour évaluer l'efficacité d'un procédé de phytoremédiation est de 90 jours (Agnello, 2014).

5. Conclusions et perspectives

La première phase de ce travail a consisté en la caractérisation de la contamination aux HAP du sol de jardin. Les résultats ont mis en évidence une contamination de surface s'élevant en moyenne à 4871.3 µg/kg pour les 16 HAP quantifiés à la surface du sol. Des teneurs qui dépassent largement les estimations de concentrations naturelles dans les sols de prairie pour ces 16 HAP par l'INERIS, estimées entre 100 et 1000 µg/kg. Malgré l'absence totale de réglementation sur les teneurs en HAP présentes dans les sols en France, ces teneurs en HAP incitent à la plus grande prudence et à la prise en compte de cette exposition. Des risques qui ne sont pas à oblitérer, notamment du fait des concentrations élevées en BaP retrouvées en surface et qui dépassent 400 µg/kg, alors que la concentration ubiquitaire de ce composé dans les sols est de 2 µg/kg (INERIS, 2003). Ce composé étant reconnu par l'Union Européenne comme cancérigène et comme une « substance devant être assimilée à des substances altérant la fertilité dans l'espèce humaine ou causant des effets toxiques sur le développement dans l'espèce humaine », il semblerait pertinent d'adapter les activités de jardinage par rapport à cette contamination. Limiter l'exposition orale, pulmonaire et cutanée par l'usage de masque et de gants de protection lors de ces activités pourrait, par exemple, être une bonne attitude de prévention des risques.

La seconde phase de ce travail s'est attachée à déterminer la source de contamination aux HAP. Les résultats ont mis en évidence une contamination diffuse d'origine atmosphérique et pyrolytique. Une identification plus poussée des sources émettrices responsables des apports atmosphériques pourrait constituer une perspective pertinente à ce travail.

La troisième phase de ce travail a consisté à la mise en place et à l'évaluation d'un procédé de phytodégradation sur le sol de jardins. Les résultats témoignent d'un effet couvert probant sur la dissipation des HAP de surface et sur l'amélioration des qualités agronomiques du sol. La mise en place d'un couvert d'hiver ou en interculture de mélange de plantes fourragères pourraient constituer une alternative pertinente pour l'amélioration des qualités agronomiques du sol et la dissipation des contaminants organiques. Dans une moindre mesure, la mise en place d'un couvert d'hiver de luzerne ou l'utilisation de cette plante pour l'enherbement des inter-rangs pourraient également constituer des alternatives pertinentes, comme, dans une moindre mesure, la libre évolution de la végétation spontanée. Toutefois, la luzerne semble moins efficace que le mélange de plante fourragère, pour à la fois assurer une dissipation des contaminants organiques de surface et améliorer les qualités agronomiques du sol. Par ailleurs, l'élimination de la végétation après récolte est indispensable étant donné la bioaccumulation des HAP dans les tissus mise en évidence dans cette étude.

D'autre part, une prolongation de l'expérimentation est nécessaire afin d'évaluer la dynamique des contaminants à plus long terme. Cela permettrait aussi d'évaluer les possibilités de phytodégradation des composés les plus persistants, comme BaP, Ipy ou DBA. Enfin, la quantification des HAP disponibles et le suivi de leur concentration dans le temps permettraient de donner une idée plus précise sur leur toxicité et sur l'effet du couvert sur leur dynamique dans les sols et pourrait donc constituer une perspective pertinente à ce travail.

Bibliographie

Accardi-Dey, A. and P. M. Gschwend (2002). "Assessing the Combined Roles of Natural Organic Matter and Black Carbon as Sorbents in Sediments." Environmental Science & Technology **36**(1): 21-29.

Agnello, A. C., D. Huguenot, E. D. Van Hullebusch and G. Esposito (2014). "Enhanced Phytoremediation: A Review of Low Molecular Weight Organic Acids and Surfactants Used as Amendments." Critical Reviews in Environmental Science and Technology **44**(22): 2531-2576.

Allen, B. L., A. K. Cohen, Y. Ferrier and J. Lees (2017). "FOSEPSEAL* Etude participative en santé environnement ancrée localement sur le front industriel de Fos-sur-Mer et Port-Saint-Louis-du-Rhône." Rapport final, janvier.

Austruy, A., Dron, J., Charbonnier, E., Babaguela, N., Miche, H., Keller, C., Chamaret, P. (2016). Teneurs naturelles et apports anthropiques en éléments traces dans les sols à l'ouest de l'étang de Berre. Etude et gestion des sols, 23 (1), p. 125-142.

Austruy, A. (2016). "Qualité des sols et végétaux produits sur le Territoire Istres-Ouest-Provence : Évaluation des risques environnementaux et sanitaires." Rapport d'étude, IECP.

Bamforth, S. M. and I. Singleton (2005). "Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **80**(7): 723-736.

Barnier, C. (2009). "Disponibilité des HAP dans les sols de friches industrielles et influence des conditions rhizosphériques." Institut National Polytechnique de Lorraine: 212.

Baumard, P., H. Budzinski, Q. Michon, P. Garrigues, T. Burgeot and J. Bellocq (1998). "Origin and Bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from Mussel and Sediment Records." Estuarine, Coastal and Shelf Science **47**(1): 77-90.

Bayard, R., L. Tiruta-Barna, B. Mahjoub and R. Gourdon (2000). "Influence of the presence of PAHs and coal tar on naphthalene sorption in soils."

Benhabib, K. (2005). "Transport dans les sols de cokerie de HAP issus de particules de goudron de houille."

Berti, W. R. and S. D. Cunningham (2000). "Phytostabilization of metals." *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment.* New York, John Wiley & Sons, Inc: 71-88.

Bertin, C., X. Yang and L. A. Weston (2003). "The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere." Plant and Soil **256**(1): 67-83.

Bidaud, C. and C. Tran-Minh (1998). "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) biodegradation in the soil of a former gasworks site: selection and study of PAHs-degrading microorganisms." Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic **5**(1): 417-421.

Bogan, B. W. and W. R. Sullivan (2003). "Physicochemical soil parameters affecting sequestration and mycobacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil." Chemosphere **52**(10): 1717-1726.

Bogan, B. W. and V. Trbovic (2003). "Effect of sequestration on PAH degradability with Fenton's reagent: roles of total organic carbon, humin, and soil porosity." Journal of Hazardous Materials **100**(1): 285-300.

- Brimo, K., S. Ouvrard, S. Houot, F. Lafolie and P. Garnier "Modeling the dynamic of PAH added with composts in agricultural soils."
- Brion, D. and É. Pelletier (2005). "Modelling PAHs adsorption and sequestration in freshwater and marine sediments." Chemosphere **61**(6): 867-876.
- Bryselbout, C., P. Henner, J. Carsignol and É. Lichtfouse (2000). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in highway plants and soils. Evidence for a local distillation effect."
- Budzinski, H., I. Jones, J. Bellocq, C. Piérard and P. Garrigues (1997). "Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary." Marine Chemistry **58**(1): 85-97.
- Cennerazzo, J., A. de Junet, J.-N. Audinot and C. Leyval (2017). "Dynamics of PAHs and derived organic compounds in a soil-plant mesocosm spiked with ¹³C-phenanthrene." Chemosphere **168**: 1619-1627.
- Charbonnier E. (2014). "Caractérisation et interprétation des teneurs naturelles en éléments traces métalliques et métalloïdes sur le territoire du SAN Ouest Provence." Rapport de stage de M2, Université de Bourgogne.
- Chen, C.-W. and C.-F. Chen (2011). "Distribution, origin, and potential toxicological significance of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan." Marine pollution bulletin **63**(5-12): 417-423.
- Colaco, A., P. Bustamante, Y. Fouquet, S. Pierre-marie and R. Santos (2007). "Bioaccumulation of Hg, Cu, and Zn in the Azores Triple Junction hydrothermal vent field food chains."
- Colombo, J. C., E. Pelletier, C. Brochu, M. Khalil and J. A. Catoggio (1989). "Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de la Plata estuary, Argentina." Environmental Science & Technology **23**(7): 888-894.
- Corgie, S. (2004). "Biodégradation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, sélection et dynamique des populations bactériennes dans la rhizosphère en fonction de la distance aux racines."
- Corgié, S. C., T. Beguiristain and C. Leyval (2004). "Spatial Distribution of Bacterial Communities and Phenanthrene Degradation in the Rhizosphere of *Lolium perenne* L." Applied and Environmental Microbiology **70**(6): 3552.
- Corgié, S. C., E. J. Joner and C. Leyval (2003). "Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots." Plant and Soil **257**(1): 143-150.
- Cunningham, S. D., T. A. Anderson, A. P. Schwab and F. C. Hsu (1996). "Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants." Advances in agronomy **56**(1): 55-114.
- D'Orazio, V., A. Ghanem and N. Senesi (2012). "Phytoremediation of Pyrene Contaminated Soils by Different Plant Species." CLEAN – Soil, Air, Water **41**(4): 377-382.
- Deconchat, C. and J. M. Polèse (2002). "Champignons: l'encyclopédie." Editions Artémis.
- Dexter, A. R., G. Richard, D. Arrouays, E. A. Czyż, C. Jolivet and O. Duval (2008). "Complexed organic matter controls soil physical properties." Geoderma **144**(3): 620-627.
- Dobranic, J. K. and J. C. Zak (1999). "A Microtiter Plate Procedure for Evaluating Fungal Functional Diversity." Mycologia **91**(5): 756-765.

- Doornaert, B., A. Pichard and C. Gillet (2003). Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes: Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique-FET) et approche par mélanges. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes: Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR), INERIS-DRC-03-47026-ETSC-BDo-N03DR177.
- Enell, A., F. Reichenberg, P. Warfvinge and G. Ewald (2004). "A column method for determination of leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons from aged contaminated soil." *Chemosphere* **54**(6): 707-715.
- Fernández, S., C. Poschenrieder, C. Marcenò, J. R. Gallego, D. Jiménez-Gámez, A. Bueno and E. Afif (2017). "Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain." *Journal of Geochemical Exploration* **174**: 10-20.
- Gao, Y. and L. Zhu (2004). "Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils." *Chemosphere* **55**(9): 1169-1178.
- Gerhardt, K. E., X.-D. Huang, B. R. Glick and B. M. Greenberg (2009). "Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges." *Plant Science* **176**(1): 20-30.
- Goix, S., J. Dron, A. Raucau and P. Chamaret (2017). "Lancement de l'étude de biosurveillance des populations exposées aux émissions atmosphériques à proximité de la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer (INDEX)." Texte intégral.
- Gujisaite, V. (2008). "Transport réactif en milieux poreux non saturés."
- Guo, M., Z. Gong, R. Miao, D. Su, X. Li, C. Jia and J. Zhuang (2017). "The influence of root exudates of maize and soybean on polycyclic aromatic hydrocarbons degradation and soil bacterial community structure." *Ecological Engineering* **99**: 22-30.
- Haddadi, S. H., V. H. Niri and J. Pawliszyn (2009). "Study of desorption kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from solid matrices using internally cooled coated fiber." *Analytica Chimica Acta* **652**(1): 224-230.
- Han, L., K. Sun, J. Jin, X. Wei, X. Xia, F. Wu, B. Gao and B. Xing (2014). "Role of Structure and Microporosity in Phenanthrene Sorption by Natural and Engineered Organic Matter." *Environmental Science & Technology* **48**(19): 11227-11234.
- Hanson, P. J., N. T. Edwards, C. T. Garten and J. A. Andrews (2000). "Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: A review of methods and observations." *Biogeochemistry* **48**(1): 115-146.
- Haritash, A. K. and C. P. Kaushik (2009). "Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review." *Journal of Hazardous Materials* **169**(1): 1-15.
- Hatzinger, P. B. and M. Alexander (1995). "Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability." *Environmental Science & Technology* **29**(2): 537-545.
- Hegde, R. S. and J. S. Fletcher (1996). "Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology." *Chemosphere* **32**(12): 2471-2479.
- Henner, P. (2000). "Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques" Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.
- INERIS (2003). Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), Rapport final, DRC-03-47026-ETSC-Bdo-N03DR177. doc.

- Jang, K.-Y., S.-M. Cho, S.-J. Scok, W.-S. Kong, G.-H. Kim and J.-M. Sung (2009). "Screening of Biodegradable Function of Indigenous Ligno-degrading Mushroom Using Dyes." *Mycobiology* **37**(1): 53-61.
- Jia, H., D. Hou, M. Dai, H. Lu and C. Yan (2018). "Effects of root exudates on the mobility of pyrene in mangrove sediment-water system." *CATENA* **162**: 396-401.
- Johnsen, A. R., L. Y. Wick and H. Harms (2005). "Principles of microbial PAH-degradation in soil." *Environmental Pollution* **133**(1): 71-84.
- Johnsen, T. and A. Sundfjord (2003). "Resipientgransking i Lurefjorden 2002."
- Johnson, D. L., K. L. Maguire, D. R. Anderson and S. P. McGrath (2004). "Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: the impact of a rhizobial inoculum." *Soil Biology and Biochemistry* **36**(1): 33-38.
- Joner, E. J. and C. Leyval (2001). "Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons." *Mycorrhiza* **10**(4): 155-159.
- Jones, D. L., A. Hodge and Y. Kuzyakov (2004). "Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition." *New Phytologist* **163**(3): 459-480.
- Kelsey, J. W. and M. Alexander (2009). "Declining bioavailability and inappropriate estimation of risk of persistent compounds." *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**(3): 582-585.
- Khim, J. S., K. T. Lee, K. Kannan, D. L. Villeneuve, J. P. Giesy and C. H. Koh (2001). "Trace Organic Contaminants in Sediment and Water from Ulsan Bay and Its Vicinity, Korea." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **40**(2): 141-150.
- Kipopoulou, A., E. Manoli and C. Samara (1999). "Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area."
- Krauss, M., W. Wilcke, C. Martius, A. G. Bandeira, M. V. Garcia and W. Amelung (2005). "Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment."
- Krylov, S. N., Huang, X. D., Zeiler, L. F., Dixon, D. G., & Greenberg, B. M. (1997). "Mechanistic quantitative structure-activity relationship model for the photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons: I. Physical model based on chemical kinetics in a two-compartment system." *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**(11), 2283-2295.
- Lasat, M. M. and S. United (2000). "The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soils." U.S. Environmental Protection Agency.
- Lauber, C. L., M. S. Strickland, M. A. Bradford and N. Fierer (2008). "The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types." *Soil Biology and Biochemistry* **40**(9): 2407-2415.
- Leigh, M. B., J. S. Fletcher, X. Fu and F. J. Schmitz (2002). "Root Turnover: An Important Source of Microbial Substrates in Rhizosphere Remediation of Recalcitrant Contaminants." *Environmental Science & Technology* **36**(7): 1579-1583.
- Leung, D. W. M. (2013). "Recent advances towards improved phytoremediation of heavy metal pollution." *Bentham Science Publishers*.
- Liste, H.-H. and M. Alexander (2000). "Plant-promoted pyrene degradation in soil." *Chemosphere* **40**(1): 7-10.

- Liste, H.-H. and M. Alexander (2002). "Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil." Chemosphere **46**(7): 1011-1017.
- Liste, H.-H. and I. Prutz (2006). "Plant performance, dioxygenase-expressing rhizosphere bacteria, and biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soil." Chemosphere **62**(9): 1411-1420.
- Liu, P., D. Zhu, H. Zhang, X. Shi, H. Sun and F. Dang (2008). "Sorption of polar and nonpolar aromatic compounds to four surface soils of eastern China."
- Liu, Y., N. Zhang, M. Qiu, H. Feng, J. M. Vivanco, Q. Shen and R. Zhang (2014). "Enhanced rhizosphere colonization of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by pathogen infection." FEMS microbiology letters **353**(1): 49-56.
- Margesin, R. (2000). "Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils." International Biodeterioration & Biodegradation **46**(1): 3-10.
- McCutcheon, S. C. and S. E. Jørgensen (2008). "Phytoremediation."
- Mori, T., M. Watanabe, H. Taura, T. Kuno, I. Kamei and R. Kondo (2015). "Degradation of chlorinated dioxins and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and remediation of PAH-contaminated soil by the entomopathogenic fungus, *Cordyceps militaris*." Journal of Environmental Chemical Engineering **3**(4, Part A): 2317-2322.
- Nwoko, C. O. (2010). "Trends in phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants." African journal of biotechnology **9**(37): 6010-6016.
- OCDE (2008). "Examens environnementaux de l'OCDE Examens environnementaux de l'OCDE : Hongrie 2008", OECD Publishing.
- Olson, P. E., A. Castro, M. Joern, N. M. DuTeau, E. A. H. Pilon-Smits and K. F. Reardon (2007). "Comparison of plant families in a greenhouse phytoremediation study on an aged polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil." Journal of environmental quality **36**(5): 1461-1469.
- Ouvrard, S., E.-D. Ripamonti-Chenot, J.-F. Masfarau and C. Schwartz (2012). "Soils contaminated with PAH: a long term natural attenuation assessment".
- Ouvrard, S. (2016). "Phytoremédiation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols industriels : de la rhizodégradation à la rhizoatténuation" Habilitation à diriger des recherches, Université de Lorraine, FRA. 81 p.
- Parmar, S. and V. Singh (2015). "Phytoremediation approaches for heavy metal pollution: a review." J Plant Sci Res **2**(2): 135.
- Parrish, Z. D., M. K. Banks and A. P. Schwab (2004). "Effectiveness of Phytoremediation as a Secondary Treatment for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Composted Soil." International Journal of Phytoremediation **6**(2): 119-137.
- Pelletier, É., I. Desbiens, P. Sargian, N. Côté, A. Curtosi and R. St-Louis (2009). "Présence des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les compartiments biotiques et abiotiques de la rivière et du fjord du Saguenay." Revue des sciences de l'eau **22**(2): 235-251.
- Pernot, A., S. Ouvrard, P. Leglize, F. Watteau, D. Derrien, C. Lorgeoux, L. Mansuy-Huault and P. Faure (2014). "Impact of fresh organic matter incorporation on PAH fate in a contaminated industrial soil."

- Poschenrieder, C. and J. B. i Coll (2003). "Phytoremediation: principles and perspectives." Contributions to science: 333-344.
- Pradhan, S. P., J. R. Conrad, J. R. Paterek and V. J. Srivastava (1998). "Potential of Phytoremediation for Treatment of PAHs in Soil at MGP Sites." Journal of Soil Contamination 7(4): 467-480.
- Preston-Mafham, J., L. Boddy and P. F. Randerson (2002). "Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique." FEMS Microbiology Ecology 42(1): 1-14.
- Rajakaruna, N., K. M. Tompkins and P. G. Pavicevic (2006). "Phytoremediation: an affordable green technology for the clean-up of metal contaminated sites in Sri Lanka." Ceylon J Sci 35: 25-39.
- Raoux, C. (1991). "Modélisation du mécanisme de contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques HAP des sédiments marins côtiers de Méditerranée : conséquences sur la biodisponibilité des HAP dans le milieu marin."
- Ressler, B. P., H. Kneifel and J. Winter (1999). "Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and formation of humic acid-like residues during bacterial PAH degradation." Applied Microbiology and Biotechnology 53(1): 85-91.
- Richnow, H. H., A. Eschenbach, B. Mahro, R. Seifert, P. Wehrung, P. Albrecht and W. Michaelis (1998). "The use of ¹³C-labelled polycyclic aromatic hydrocarbons for the analysis of their transformation in soil." Chemosphere 36(10): 2211-2224.
- Richnow, H. H., R. Seifert, J. Hefter, M. Link, W. Francke, G. Schaefer and W. Michaelis (1997). "Organic pollutants associated with macromolecular soil organic matter: Mode of binding." Organic Geochemistry 26(11): 745-758.
- Saadoun, I. M. K. and Z. D. Al-Ghzawi (2005). "Bioremediation of petroleum contamination." Biorem Aquat Terr Ecosyst 132: 173-212.
- Schwab, P. and K. Banks (1999). "Phytoremediation of petroleum-contaminated soils." Bioremediation of contaminated soils(bioremediation): 783-795.
- Scott-Denton, L. E., K. L. Sparks and R. K. Monson (2003). "Spatial and temporal controls of soil respiration rate in a high-elevation, subalpine forest." Soil Biology and Biochemistry 35(4): 525-534.
- Semple, K. T., A. W. J. Morriss and G. I. Paton (2003). "Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis." European journal of soil science 54(4): 809-818.
- Shayler, H., M. McBride and E. Harrison (2018). Sources and Impacts of Contaminants in Soils.
- Shen, Q. (2018). "An investigation of organic matter quality and quantity in acid soils as influenced by soil type and land use."
- Sicre, M. A., J. C. Marty, A. Saliot, X. Aparicio, J. Grimalt and J. Albaiges (1987). "Aliphatic and aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean Sea: Occurrence and origin." Atmospheric Environment (1967) 21(10): 2247-2259.
- Sims, R. C. and M. R. Overcash (1983). "Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems." Residue Reviews, New York, NY, Springer New York.
- Slama, F. (1986). "Intervention des racines dans la sensibilité ou la tolérance à NaCl de plantes cultivées." Agronomie 6(7): 651-658.

- Souza, V., R. F. B. Sousa, L. C. Offemann and V. Vaz (2014). "Alternatives for remediation and decontamination of soils from Brazil." African Journal of Agricultural Research **9**(43): 3197-3204.
- Sreelal, G. and R. Jayanthi (2017). "Review on phytoremediation technology for removal of soil contaminant." Indian J. Sci. Res **14**(1): 127-130.
- Sugiura, Y., T. Kanasashi, Y. Ogata, H. Ozawa and C. Takenaka (2016). "Radiocesium accumulation properties of *Chengiopanax sciadophylloides*." Journal of Environmental Radioactivity **151**: 250-257.
- Tian, W., J. Zhao, Y. Zhou, K. Qiao, X. Jin and Q. Liu (2017). "Effects of root exudates on gel-beads/reeds combination remediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons." Ecotoxicology and Environmental Safety **135**: 158-164.
- Tsibart, A. S. and A. N. Gennadiev (2013). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils: Sources, behavior, and indication significance (a review)." Eurasian Soil Science **46**(7): 728-741.
- Vinichuk, M., A. Mårtensson and K. Rosén (2013). "Inoculation with arbuscular mycorrhizae does not improve ¹³⁷Cs uptake in crops grown in the Chernobyl region." Journal of Environmental Radioactivity **126**: 14-19.
- Wang, G., H. W. Mielke, V. Quach, C. Gonzales and Q. Zhang (2004). "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and trace metals in New Orleans soils and sediments." Soil & Sediment Contamination **13**(3): 313-327.
- Wenzel, W. W. (2009). "Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils." Plant and Soil **321**(1): 385-408.
- Widén, B. (2002). "Seasonal variation in forest-floor CO₂ exchange in a Swedish coniferous forest." Agricultural and Forest Meteorology **111**(4): 283-297.
- Wilcke, W. (2000). "Synopsis polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil—a review." Journal of plant nutrition and soil science, **163**(3), 229-248.
- Winquist, E., K. Björklöf, E. Schultz, M. Räsänen, K. Salonen, F. Anasonye, T. Cajthaml, K. Steffen, K. Jørgensen and M. Tuomela (2014). "Bioremediation of PAH-contaminated soil with fungi – From laboratory to field scale."
- Xing, B. and J. J. Pignatello (1996). "Time-dependent isotherm shape of organic compounds in soil organic matter: Implications for sorption mechanism." Environmental Toxicology and Chemistry **15**(8): 1282-1288.
- Xu, S. Y., Y. X. Chen, W. X. Wu, K. X. Wang, Q. Lin and X. Q. Liang (2006). "Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation." Science of The Total Environment **363**(1): 206-215.

Annexes

Annexe 1: Profil de sol

Parcelle cadastrale : B0417 - +00015

Occupation du sol : Cordon rivulaire – pâturage chevaux

Situation : Port-Saint-Louis-du-Rhône – berge du Rhône

Altitude : 24 m

Coordonnées géographiques : N 43°23'56.9" E 004°47'15.5"

Météo : Ensoleillé

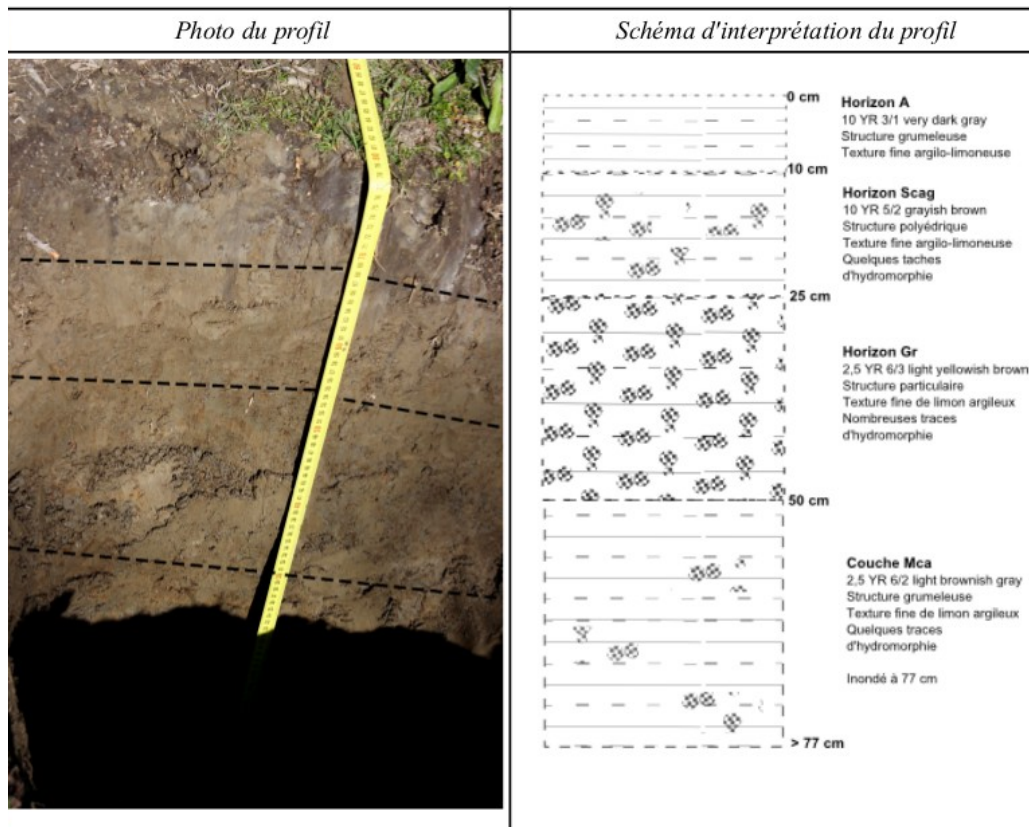
Température de l'air : 15 °C

Végétation : Prairiale arbustive

Description synthétique du profil : Sol limono argileux d'alluvions calcaires du Rhône

Roche mère : Alluvions calcaires holocènes du Rhône

Présence ou non d'une nappe/profondeur : oui / > 70 cm



Annexe 2: Suivi météorologique

	T°C moy	T°C max	T°C min	Vent moy (km/h)	Rafales (km/h)	Direction	Précipitations (mm)
12/03/18	12,70	16,80	8,20	21,30	59,00	O	0,00
13/03/18	10,41	15,50	6,00	17,45	44,00	ONO	0,00
14/03/18	10,62	16,40	3,30	16,17	59,00	ESE	0,00
15/03/18	13,25	16,00	9,60	27,25	69,00	ESE	9,90
16/03/18	11,83	17,70	6,50	8,63	28,00	Brise	0,00
17/03/18	10,00	15,00	5,60	13,33	55,00	O	15,50
18/03/18	9,53	13,20	6,00	25,79	64,00	NNO	0,00
19/03/18	8,75	14,60	3,60	21,00	60,00	NO	0,00
20/03/18	6,32	8,60	4,10	41,08	104,00	N	0,00
21/03/18	6,17	10,10	3,40	43,67	91,00	N	0,00
22/03/18	7,18	12,10	1,60	39,54	98,00	NNO	0,00
23/03/18	9,83	15,30	6,70	36,13	121,00	NNO	0,00
24/03/18	10,22	14,30	4,90	18,25	45,00	ESE	0,00
25/03/18	10,60	15,10	6,80	11,08	39,00	O-N	0,00
26/03/18	11,59	18,10	5,80	31,83	79,00	NO	0,00
27/03/18	11,20	15,40	7,20	21,79	49,00	ONO	0,00
28/03/18	13,80	18,90	8,20	29,01	45,00	ONO	0,00
29/03/18	13,65	19,20	10,50	7,17	30,00	Brise	0,80
30/03/18	13,00	16,00	9,40	23,87	73,00	ESE	0,00
31/03/18	11,60	17,00	7,60	20,50	69,00	O-NO	0,20
01/04/18	10,37	16,80	4,50	19,33	45,00	O	0,00
02/04/18	11,50	16,40	6,60	17,75	56,00	ESE	0,00
03/04/18	15,40	19,90	12,00	25,75	66,00	E	0,00
04/04/18	14,90	17,00	12,30	30,33	74,00	SE	0,00
05/04/18	13,97	20,20	8,30	17,13	50,00	ONO	0,00
06/04/18	13,48	18,80	9,00	16,63	53,00	S-ESE	0,20
07/04/18	15,76	22,90	8,40	14,83	57,00	ESE	0,00
08/04/18	16,66	20,40	11,10	24,04	79,00	ESE	0,00
09/04/18	14,53	17,70	12,70	22,90	59,00	SSE	1,40
10/04/18	13,88	16,30	11,70	30,96	61,00	SSE	10,30
11/04/18	11,01	12,90	8,00	25,13	72,00	E	57,40
12/04/18	9,83	14,10	8,40	15,54	41,00	NE	24,20
13/04/18	13,30	17,40	9,70	20,50	47,00	ESE	0,00
14/04/18	14,30	18,30	11,70	17,70	41,00	NNO	0,80
15/04/18	15,30	21,70	9,20	12,50	40,00	E-NE	0,00
16/04/18	17,60	22,60	12,60	20,70	50,00	NNO	0,00
17/04/18	18,60	26,40	11,70	10,20	33,00	N-S	0,00
18/04/18	18,50	24,80	11,90	12,10	37,00	S-NE	0,00
19/04/18	18,40	24,20	12,00	12,30	35,00	S-NE	0,00
20/04/18	18,70	25,20	12,10	11,20	35,00	S-NE	0,00
21/04/18	17,60	27,30	11,70	11,00	35,00	S-N	0,00
22/04/18	17,40	23,90	11,70	9,00	28,00	SE	0,00
23/04/18	16,90	21,60	11,00	10,20	36,00	S	0,20
24/04/18	19,30	26,90	13,00	13,20	42,00	NO	0,20
25/04/18	18,70	25,50	12,60	10,10	38,00	O	0,00
26/04/18	18,90	23,20	15,90	35,50	77,00	NO	0,00
27/04/18	17,10	22,30	10,60	11,10	39,00	SE	0,00
28/04/18	16,80	21,60	12,10	17,60	47,00	S	0,00
29/04/18	16,90	20,80	12,10	29,90	68,00	SE	13,80
30/04/18	14,00	18,10	8,80	14,50	46,00	S	0,00
01/05/18	13,60	15,90	10,20	12,00	33,00	N	0,20
02/05/18	15,31	20,40	10,80	24,38	65,00	NNO	0,00
03/05/18	15,10	19,30	14,40	38,04	70,00	NNO	0,00
04/05/18	18,10	22,20	15,50	20,90	60,00	NNO	0,00
05/05/18	18,60	24,60	13,60	8,80	34,00	SO	1,00
06/05/18	19,50	25,90	14,10	7,20	28,00	SO	2,80
07/05/18	18,80	23,50	14,40	8,50	35,00	S	0,40
08/05/18	19,30	24,90	15,00	8,70	31,00	E	0,00
09/05/18	19,10	25,20	13,80	11,25	36,00	O	3,40
10/05/18	18,60	23,80	14,40	24,04	64,00	NO	0,20
11/05/18	17,30	22,60	11,30	12,70	44,00	O	0,00
12/05/18	16,90	21,20	12,10	17,50	44,00	SE	0,20
13/05/18	10,20	15,90	8,40	29,30	77,00	O	25,60
14/05/18	10,80	15,50	8,10	21,17	50,00	O	7,30
15/05/18	15,38	21,30	9,80	21,08	60,00	O	0,20

Annexe 3: Quantification des HAP (en µg/kg MS) pour les différentes conditions expérimentales

	Nap		Acv		Ace		Fle		Phe		Ant		FIA		Pyr		BaA		Chr		BbF		BkF		BaP		Ipy		DBA		Bpe		HAProt	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1		
Couvert	46,9	61,4	32,0	29,2	22,3	39,5	16,3	32,7	438,6	257,3	76,3	57,5	656,8	450,7	500,0	378,3	382,4	282,7	471,5	382,6	475,6	426,7	213,8	180,7	453,4	398,9	534,5	363,0	359,4	95,8	428,1	311,4	5049,9	3748,5
Luzerne	64,3	58,5	36,7	33,1	22,4	17,3	21,1	23,2	449,0	299,0	77,9	74,9	600,8	266,3	516,0	258,0	371,5	256,8	451,0	307,2	470,3	328,2	201,5	181,4	394,5	371,8	521,3	454,3	294,2	115,6	386,5	324,5	4879,1	3370,2
Mélange	62,3	49,9	34,1	26,2	18,2	18,3	15,0	19,8	441,2	218,4	65,1	44,0	566,1	361,3	482,9	354,3	356,5	305,6	447,5	313,5	457,4	421,1	201,3	167,7	360,4	389,3	499,2	311,2	291,8	85,9	385,6	241,7	4684,4	3328,2
Nu																																		

Contamination aux HAP d'un sol de culture et phytodégradation

Résumé

Dans le cadre d'une étude menée en 2016 sur la qualité des sols et des végétaux produits sur le Territoire Istres-Ouest-Provence, l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions a mis en évidence une contamination en HAP dans plusieurs sols de la région. Parmi les sols contaminés, ceux d'un jardin communautaire, "les Jardins Partagés du Poti'Rhône", situé à Port-Saint-Louis-du-Rhône une commune proche de la zone industrialo-portuaire de Fos. Pour faire suite à ces premiers travaux, cette étude consiste à (i) caractériser plus finement la contamination en HAP, (ii) déterminer la source de cette contamination, (iii) mettre en place et évaluer l'efficacité d'un procédé de phytodégradation, dans le but de limiter l'exposition des jardiniers aux HAP. Pour répondre à ces objectifs, une parcelle expérimentale a été mise en place sur le sol des jardins. Des prélèvements de sol ont été réalisés sur une carotte de 2 m de profondeur pour observer la répartition des HAP. Des jauges Owen ont été installées pour collecter les retombées atmosphériques et trois conditions de couverts ont été mises en place, un couvert de luzerne, un couvert de mélange de plantes fourragères (ray grass, fétuque méditerranéenne, trèfle violet) et un sol nu. La concentration en HAP de ce sol avant et après mise en place de la végétation a été analysée. Les résultats révèlent une contamination de surface s'élevant en moyenne à 4871.3 µg/kg pour les 16 HAP quantifiés. L'analyse des retombées atmosphériques révèle par ailleurs une contamination d'origine atmosphérique avec un apport de 223 mg/m²/j de TSP sur les sols de jardins contenant 849 µg/kg MS d'HAP. Le procédé de phytodégradation mis en place sur le sol des jardins montre des résultats probants sur la dissipation des HAP de surface et sur l'amélioration des qualités agronomiques et microbiologiques du sol notamment en présence d'une végétation prairiale. A également été mis en évidence une bioaccumulation des HAP dans les tissus végétaux.

Mots clés : HAP, phytodégradation, sol de culture, contamination atmosphérique, Métropole Aix-Marseille-Provence

PAH contamination of culture soil and phytodegradation

Abstract

As part of a study conducted in 2016 on the quality of soils and vegetables produced in the Aix-Marseille-Provence Metropole (France), the "Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions" has revealed PAH contamination in several soils of the region. Among the contaminated soils, those of a community garden, "les Jardins du Poti'Rhône", located in Port-Saint-Louis-du-Rhone, a local municipality close to the industrial-port zone of Fos. To follow up on these first works, the aim of this study were (i) to characterise the PAH contamination of culture soil, (ii) to determine the contamination source, (iii) to apply and evaluate the efficiency of a phytodegradation process, in order to limit gardener exposure to PAHs. To achieve these objectives, an experimental plot is set up on the culture soil. Soil samples were taken with a manual auger to measure the PAH distribution in the soil. Owen gauges were installed to collect atmospheric deposition and two different plant covers were set up (i) alfalfa monoculture (*Medicago sativa*), (ii) mix of prairie plants (*Festuca arundinacea*, *Lolium multiflorum* and *Trifolium pratense*) accompanied by a condition bare ground. The PAH concentration of the soil before and after setting up the covers was analyzed. The results was revealed an average surface contamination of 4871.3 µg/kg for the 16 quantified PAHs. The analysis of the atmospheric deposition was highlighted a contamination of atmospheric origin with an input of 223 mg/m²/j of TSP containing 849 µg/kg MS of PAHs. The phytodegradation process apply was showed convincing results on the dissipation of surface PAHs and on the improvement of the agronomic and microbiological qualities of the soil. The PAH bioaccumulation in plant tissues was also highlighted.

Key words: PAHs, phytodegradation, culture soil, atmospheric contamination, Aix-Marseille-Provence Metropole (France)