

# Utilisation d'un bioindicateur lipidique végétal sur le site agricole de Feucherolles : Effets de divers amendements sur les végétaux cultivés

M. Le Guédard<sup>(1)</sup>, G. Bodineau<sup>(2)</sup>, S. Houot<sup>(2)</sup> et J-J. Bessoule<sup>(1)</sup>

- 1) Université Victor Segalen Bordeaux 2, CNRS Laboratoire de Biogenèse Membranaire, CNRS UMR5200, 146, rue Léo Saignat - BP 92 - 33076 Bordeaux cedex, France
- 1) INRA UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures Equipe Sol - 78850 Thiverval-Grignon, France

## RÉSUMÉ

La présente étude vise au développement du biomarqueur lipidique d'exposition, utilisé avec succès pour l'évaluation de l'écotoxicité de matrices complexes (sols) au laboratoire. Il s'agit maintenant de l'appliquer in situ et d'évaluer ses performances sur des végétaux prélevés sur le terrain. Le site expérimental de Feucherolles (78) a pour objectif d'étudier la valeur agronomique et les impacts environnementaux de différents composts d'origine urbaine appliqués régulièrement dans un système de grande culture. La présente étude concerne des parcelles du site de Feucherolles (4 par traitement) ayant reçu, en plus d'un apport en engrais azoté, du compost d'ordures ménagères résiduelles (OMR) ou du co-compost de déchets verts et boue (DV + B), 4 parcelles « témoin » ayant seulement reçu un apport d'engrais minéral azoté et 4 parcelles « témoin » sans apport d'engrais minéral azoté. Les analyses ont été réalisées lors de deux campagnes de prélèvement, en 2006 et en 2007 où respectivement du blé et de l'orge avaient été semés sur les parcelles. Les résultats obtenus mettent notamment en évidence un effet engrais de l'apport de compost de boue (augmentation de la biomasse), mais les valeurs du biomarqueur lipidique semblent indiquer un léger effet de ce compost de boue sur les plants d'orge.

## Mots clés

Bioindicateur, sol agricole, boue de station d'épuration, lipide végétal.

**SUMMARY****USE OF A PLANT LIPID BIOMARKER AT THE EXPERIMENTAL AGRICULTURAL SITE OF FEUCHEROLLES:****Effects of various composts on crop plants**

*This study aims at the development of a lipid biomarker, successfully used for assessing the ecotoxicity of complex matrices (soil) in the laboratory. The following step is to use it in situ and to evaluate its performance on plants collected from the experimental site. The aim of the experimental site of Feucherolles (78) is to study the agronomic value and the environmental impacts of different composts of urban origin regularly applied on arable crops. This study concerns plots at the Feucherolles site (4 per treatment) which received added mineral nitrogen plus (i) compost from household waste or (ii) compost from green waste + sludge, 4 control plots with added mineral nitrogen alone, and 4 control plots without added mineral nitrogen. The analysis was conducted on two sampling campaigns in 2006 and 2007, respectively, where wheat and barley were sown on the plots. The results particularly identified the positive effect of sludge compost on plant biomass, but the values of lipid biomarker suggest a slight effect of this sludge compost on barley plants.*

**Key-words**

*Bioindicator, cultivated soil, Sewage sludge compost, plant lipids.*

**RESUMEN****USO DE UN BIO-INDICADOR LIPÍDICO VEGETAL EN EL SITIO AGRÍCOLA DE FEUCHEROLLES:****Efectos de diversas enmiendas sobre los vegetales cultivados**

*El presente estudio apunta el desarrollo de un biomarcador lipídico de exposición, usado con suceso para la evaluación de la ecotoxicidad de matrices complejas (suelos) en laboratorio. Se trata ahora aplicarlo in situ y evaluar sus resultados sobre vegetales muestreados en el campo. El sitio experimental de Feucherolles (78) tiene como objetivos estudiar el valor agronómico y los impactos ambientales de diferentes compostes de origen urbano aplicados regularmente en un sistema de grandes cultivos. El estudio presente concierne parcelas del sitio de Feucherolles (4 por tratamiento) que recibieron además de un aporte de fertilizante nitrogenado, un compost de basuras domésticas residuales (OMR) o de co-compost de desechos verdes y lodos (DV + B), 4 parcelas "testigo" que recibieron solamente un aporte de fertilizante mineral nitrogenado y 4 parcelas "testigo" sin aporte de fertilizante mineral nitrogenado. Se realizaron análisis durante las dos campañas de muestreos, en 2006 y en 2007 donde respectivamente se sembró trigo y cebada en las parcelas. Los resultados obtenidos ponen en evidencia en particular un efecto fertilizante del aporte de compost de lodo (aumento de la biomasa), pero los valores del biomarcador lipídico parecen indicar un pequeño efecto de este compost de lodo sobre las plantas de cebada.*

**Palabras clave**

*Bioindicador, suelos agrícolas, lodos de estaciones de depuración, lípidos vegetales.*

Les travaux précédemment réalisés ont montré que la composition en acides gras (et plus précisément la valeur du rapport  $C_{18:3}/(C_{18:0} + C_{18:1} + C_{18:2})$ ) des feuilles de végétaux (laitue, tomate) présente les caractéristiques d'un biomarqueur métabolique d'effet et d'exposition aux métaux (mais aussi aux polluants organiques). Ces résultats ont été obtenus en faisant varier: la teneur des contaminants dans le sol (et par conséquent l'exposition), l'origine des sols et les types de contaminants. Les résultats des études *ex situ* précédentes ont notamment permis de mettre en évidence les avantages suivants de ce biomarqueur « lipidique »:

- lorsque le taux de germination est utilisé comme « descripteur d'effet », les réserves de certaines graines peuvent masquer les effets négatifs de l'exposition à des contaminants. Il est par ailleurs souvent observé des taux de germination comparables sur sols pollués et non-pollués (Le Guédard *et al.*, 2005, 2007, 2008);

- les résultats obtenus soulignent l'intérêt des marqueurs « biochimiques » par rapport aux marqueurs « biométriques » comme la mesure de la croissance des plantes. En effet, il est souvent constaté une totale absence de corrélation entre biomasse et contamination des sols (sûrement imputable à des différences dans les qualités « agronomiques » des sols). En revanche, les valeurs prises par le biomarqueur lipidique sont généralement étroitement corrélées à la présence de contaminants dans le sol, et ce, de manière dose-dépendante (Verdoni *et al.*, 2001; Bessoule et Mench, 2002; Le Guédard *et al.*, 2005, 2007, 2008);

- avec des sols contaminés ou non, que ce soit avec la tomate ou la laitue, en conditions de culture similaires, la valeur mesurée pour le biomarqueur ne diffère pas significativement d'une expérience à l'autre même quand ces expériences sont réalisées avec plusieurs mois d'écart. Les mesures du biomarqueur lipidique s'avèrent donc très reproductibles (Le Guédard *et al.*, 2005, 2007, 2008);

- une série d'expérimentations avec des feuilles de laitue a été menée en modifiant les conditions opératoires « standards » nécessaires à la détermination de la composition en acides gras des feuilles. La valeur mesurée pour le biomarqueur sur un même végétal est identique lorsque la température de transestérification est modifiée de quelques degrés, le temps de chauffage de quelques minutes ou la quantité d'acide sulfurique utilisé de 0.5 %. En plus d'être reproductible, facilement réalisable et peu onéreux, le test semble donc robuste (Le Guédard *et al.*, 2007, 2008).

Il apparaît donc d'après ces résultats que la composition en acides gras des feuilles de laitue et de tomate, et plus précisément la valeur du rapport  $C_{18:3}/(C_{18:0} + C_{18:1} + C_{18:2})$ , constitue un outil de choix pour indiquer la présence et la disponibilité de contaminants (notamment métalliques) dans les sols. La présente étude vise au développement du biomarqueur lipidique d'exposition, utilisé avec succès pour l'évaluation de

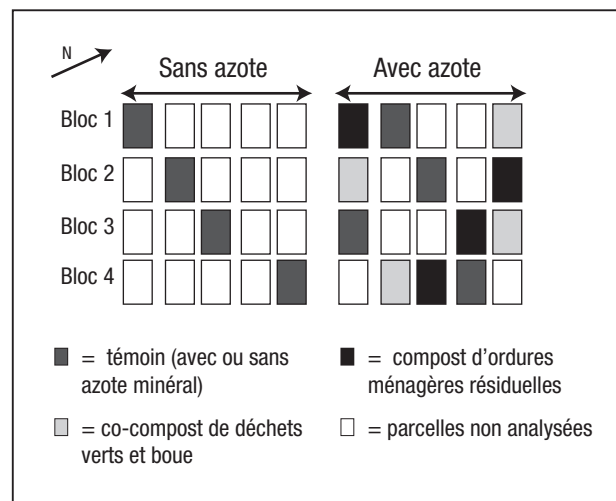
l'écotoxicité de matrices complexes (sols) au laboratoire. Il s'agit maintenant de l'appliquer *in situ* et d'évaluer ses performances sur des végétaux prélevés sur le terrain. Un premier essai concluant avait été réalisé au démarrage du développement de cet outil sur le site expérimental de la Bouzule (54) dans le cadre du programme VADETOX de l'ADEME (Bessoule et Mench 2002), ce qui laisse présager la possibilité d'adapter la mesure *in situ*. Dans le cadre du présent programme de recherche, des expérimentations ont donc été planifiées pour analyser la réponse du biomarqueur lipidique chez des végétaux cultivés sur un site agricole divisé en parcelles sur lesquelles ont été apportés divers types d'amendements (avec présence de parcelles « témoins » sans amendement).

## PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le site expérimental de Feucherolles (78) présentant une superficie de 6 ha a été mis en place en 1998 sur un luvisol typique d'Ile-de-France développé sur limon loessique (collaboration INRA-VEOLIA Environnement R&D). Il a pour objectif d'étudier la valeur agronomique et les impacts environnementaux de différents composts d'origine urbaine comparés à un amendement de référence, un fumier de bovins dans un système de grande culture. Les amendements sont apportés tous les 2 ans, en début d'automne, sur chaume de blé. Les doses d'apport sont calculées afin d'apporter la même quantité de carbone organique dans tous les traitements soit 4 t/ha de carbone organique. Le site (figure 1) est divisé en 4 blocs de parcelles correspondant aux différents traitements (fumier, compost d'ordures ménagères résiduelles, co-compost de déchets verts et boue...).

**Figure 1** - Le site de Feucherolles: le dispositif au champ.

**Figure 1** - Spatial organization of the experimental site located in Feucherolles.



La présente étude concerne les parcelles (1 par bloc soit 4 par traitement) ayant reçu en plus d'un apport minéral azoté (122 kg d'azote minéral/hectare) du compost d'ordures ménagères résiduelles (OMR) ou du co-compost de déchets verts et boue (DV + B). Il s'agit de comparer les résultats obtenus sur ces parcelles avec ceux obtenus sur 8 parcelles « témoin » (sans apport d'amendement organique): 4 parcelles « témoin » sans apport minéral azoté et 4 parcelles « témoin » avec apport minéral azoté. Les analyses ont été réalisées lors de deux campagnes de prélèvement, en 2006 et en 2007 où respectivement du blé et de l'orge avaient été semés sur les parcelles.

Les plants de blé ont été prélevés le 28 avril 2006 afin d'analyser au moment de la montaison la composition en acides gras foliaires des blés semés à l'automne 2005. Etant donné le calendrier d'épandage réalisé sur ce site, nos prélèvements et analyses ont donc eu lieu environ 18 mois après épandage. Cinq plants de blé ont été prélevés sur chaque parcelle à analyser. Dans chaque parcelle, ces prélèvements ont été réalisés aléatoirement. La masse des plants prélevés a été déterminée. Pour la détermination de la composition en acides gras foliaires, c'est systématiquement l'extrémité (2 à 3 cm) de la feuille la plus longue (la plus « âgée ») qui a été prélevée (5 analyses par parcelle, soit 20 analyses par traitement, soit 80 analyses au total). Ce choix a été guidé par le fait que lors de nos travaux en enceinte phytotronique (Verdoni *et al.*, 2001 ; Bessoule et Mench, 2002 ; Le Guédard *et al.*, 2005, 2007, 2008), c'est la première feuille des plantules qui a été analysée. En effet, par définition, c'est la feuille qui est présente aux stades de développement les plus précoces et de plus, parmi les premières feuilles, c'est souvent avec la feuille la plus âgée que les écarts-types enregistrés pour le biomarqueur lipidique sont les plus réduits (moins de variation relative dans la durée d'exposition à la lumière). La feuille la plus âgée a donc aussi été choisie pour mesurer le biomarqueur lipidique des plantes cultivées en champ.

Les plants d'orge ont été prélevés le 12 mars 2007 afin d'analyser au moment de la montaison la composition en acides gras foliaires d'orge semée le 16 octobre 2006. Ces prélèvements ont été faits 6 mois après le dernier épandage de compost en septembre 2006. Comme pour le blé, 5 plants d'orge ont été prélevés aléatoirement sur chaque parcelle à analyser et la masse des plants a été déterminée. C'est d'habitude la composition en acides gras foliaires de la feuille la plus âgée qui est déterminée. Mais sur cette campagne de prélèvements, il s'est avéré que la quasi-totalité des plantes n'avait pas eu une croissance optimale, et que les feuilles les plus âgées étaient souvent jaunies voire desséchées (l'apport d'azote n'a été effectué que 4-5 jours avant le prélèvement). Dans quelques cas, des « décolorations » ponctiformes dues à des attaques de pathogènes pouvaient même être observées. C'est donc systématiquement la feuille la plus jeune (bien « verte et sans trace visible d'attaque ») qui a été prélevée sur chaque plant. Pour le blé comme pour l'orge, les feuilles prélevées sont placées dans 1 ml de méthanol contenant

2,5 % d'acide sulfurique pour analyser la composition en acides gras selon le protocole décrit dans Le Guédard *et al.* (2008).

Les analyses statistiques des résultats sont le plus souvent réalisées (par bloc ou par traitement) grâce à une analyse statistique de la variance (ANOVA), et grâce au *t*-test quand il s'agit de ne comparer que deux populations de résultats.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Analyses des plants de blé

#### Analyse visuelle

Lors de notre visite sur le site, la population de plants de blé a semblé homogène, sans grande variation de taille ou de couleur d'une parcelle à l'autre. Ceci était vrai pour toutes les parcelles ayant reçu un apport d'azote (122 kg d'azote minéral/hectare), mais de toute évidence, sur les parcelles sans apport azoté, les plants de blé étaient plus petits, d'un vert moins « soutenu » et plus clairsemés.

#### Analyse de la biomasse

Dans la *figure 2*, sont représentés par traitement et par bloc la moyenne et l'écart type des masses des plants prélevés sur chaque parcelle. Les apports de compost de déchets verts et boue (traitement 1) et d'ordures ménagères résiduelles (traitement 2) semblent entraîner une augmentation de la masse moyenne des plants de blé, et qu'un manque d'azote (traitement 4) induit une diminution de la croissance du blé. L'analyse de la variance faite sur ces résultats montre qu'il existe une variabilité significative de biomasse entre les blocs ( $p < 0,05$ ). Mais il apparaît surtout qu'il y a un effet très significatif des traitements T1 à T4 sur la biomasse des plants de blé ( $p < 2.10^{-6}$ ). Cela n'est pas surprenant puisque les plants de blé cultivés sur les parcelles « témoin sans azote » étaient plus petits que les plants cultivés sur les autres parcelles.

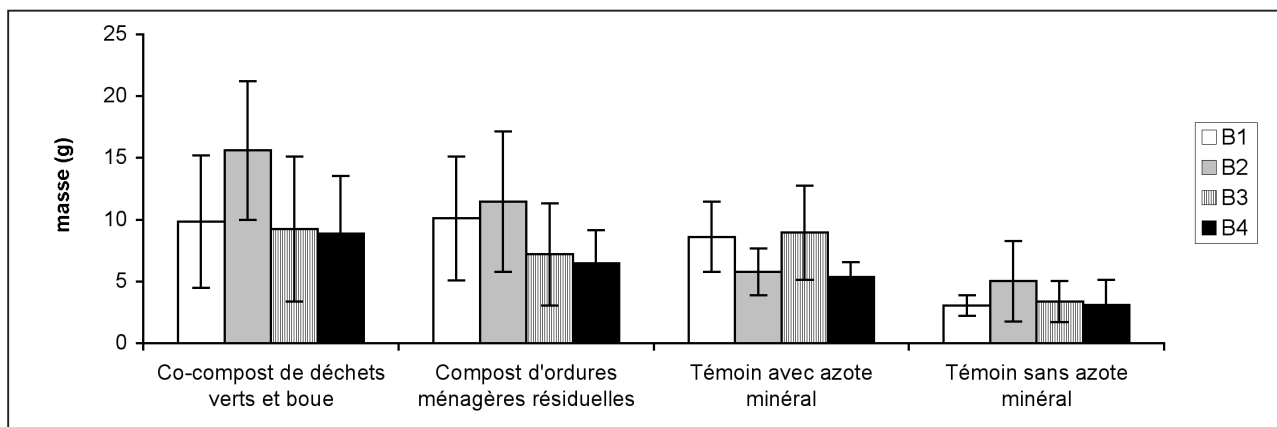
Cependant, l'existence de différences significatives entre les biomasses en fonction du traitement ne résulte pas uniquement de l'effet « azote ». En effet, l'effet du traitement sur la biomasse reste significatif ( $p < 0,034$ ) même en ne considérant que les parcelles ayant reçu un complément minéral azoté (T1 à T3). Les apports de composts de déchets verts et boue et d'ordures ménagères entraînent donc une augmentation significative de la masse moyenne des plants de blé par rapport au témoin avec azote.

#### Analyse du biomarqueur lipidique

Comme mentionné plus haut, l'extrémité (2 à 3 cm) de la feuille la plus longue (la plus « âgée ») de chaque plant de blé prélevé a été utilisée pour déterminer la composition en acides gras des feuilles. Comme dans les études précédentes (Bessoule

**Figure 2** - Biomasse (g) des plants de blé prélevés selon les traitements (1 à 4) et selon les blocs. *Traitement 1 = co-compost de déchets verts et boue; traitement 2 = compost d'ordures ménagères résiduelles; traitement 3 = témoin avec azote minéral; traitement 4 = témoin sans azote minéral.*

**Figure 2** - Fresh weight (g) of wheat plants as a function of blocks and treatments (1 to 4).



et Mench, 2002; Le Guédard *et al.*, 2005), pour analyser les résultats obtenus, le rapport « teneur en acide linoléique (18 :3)/ teneur en acides gras 18 :0 +18 :1 + 18 :2 » a été pris en considération.

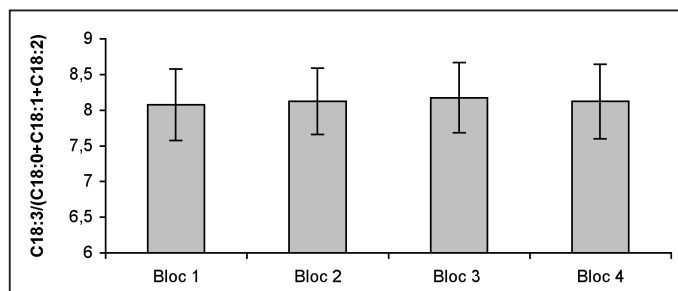
La *figure 3* montre la moyenne des valeurs du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/ (18 :0 +18 :1 + 18 :2)) obtenue en considérant l'ensemble des plants de blé récoltés sur un bloc donné. Rappelons ici qu'un bloc est constitué de 4 parcelles topographiquement alignées ayant reçu des traitements différents (compost de déchets verts et boue; compost d'ordures ménagères résiduelles; témoin avec azote minéral; témoin sans azote minéral), et que le champ est constitué de 4 blocs. Il est à remarquer que les valeurs du biomarqueur lipidique sont remarquablement constantes tant en valeur absolue que dans les écarts-types mesurés ( $n = 20$ ):  $8,08 \pm 0,5$ ;  $8,13 \pm 0,46$ ;  $8,17 \pm 0,49$  et  $8,12 \pm 0,52$  pour les blocs 1 à 4 respectivement. Une analyse de la variance inter-blocs confirme qu'il n'y a absolument pas de différence significative ( $p > 0,9$ ) entre les valeurs prises par le biomarqueur lipidique d'un bloc à l'autre. En admettant que tous les blocs sont équivalents, ces résultats suggèrent fortement que :

- les prélèvements réalisés au hasard sont bien représentatifs;
- le biomarqueur lipidique prend des valeurs identiques quand il n'y a pas de différence de traitements. Il semble donc plus représentatif que la biomasse pour laquelle des variations significatives entre blocs ont été observées.

Les valeurs prises par le biomarqueur lipidique ont été également analysées en comparant les résultats traitement par traitement. La *figure 4* représente la valeur du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/ (18 :0 +18 :1 + 18 :2)) obtenue en considérant l'ensemble des plants de blé récoltés sur les parcelles ayant reçu un traitement donné. Les valeurs prises par le biomarqueur lipidique sont :  $8,34 \pm 0,52$ ;  $8,30 \pm 0,44$ ;  $8,10 \pm 0,32$

**Figure 3** - Valeurs moyennes du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2)) des plants de blé selon les blocs.

**Figure 3** - Lipid biomarker values (18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2) ratio) of wheat plants as a function of blocks.



et  $7,75 \pm 0,44$  pour les traitements 1 à 4 respectivement. Comme précédemment, les écarts-types sont relativement faibles. Ceci souligne, pour un traitement donné, la reproductibilité des résultats obtenus. Ces différences entre traitements sont très significatives ( $p < 0,0002$ ). Cela est sans doute en lien direct avec les différences visuelles observées sur le terrain où les plants de blé des parcelles « témoin sans azote » étaient d'un vert moins « soutenu » que les plants correspondant aux autres traitements. En d'autres termes, de manière attendue, il apparaît que le blé étudié a besoin d'un apport azoté conséquent (122 kg d'azote minéral/hectare) pour croître dans des conditions optimales, et que sans apport, les plants sont stressés.

Pour déterminer si, en faisant abstraction de la différence induite par l'apport d'azote, les valeurs du biomarqueur lipidique varient significativement, une autre analyse de variance (ANOVA) a été réalisée en ne prenant en compte que les 3 premiers traitements recevant une fertilisation minérale azotée

équivalente (compost de déchets verts et boue; d'ordures ménagères résiduelles; témoin avec azote minéral). Il apparaît qu'aucune différence significative ( $p > 0,15$ ) n'existe entre ces 3 traitements. Deux explications peuvent être avancées pour expliquer cet état de fait :

- le blé peut être peu sensible à la contamination apportée par les amendements;
- la contamination apportée par les divers amendements est trop faible pour induire un effet sur la composition en acide gras des feuilles.

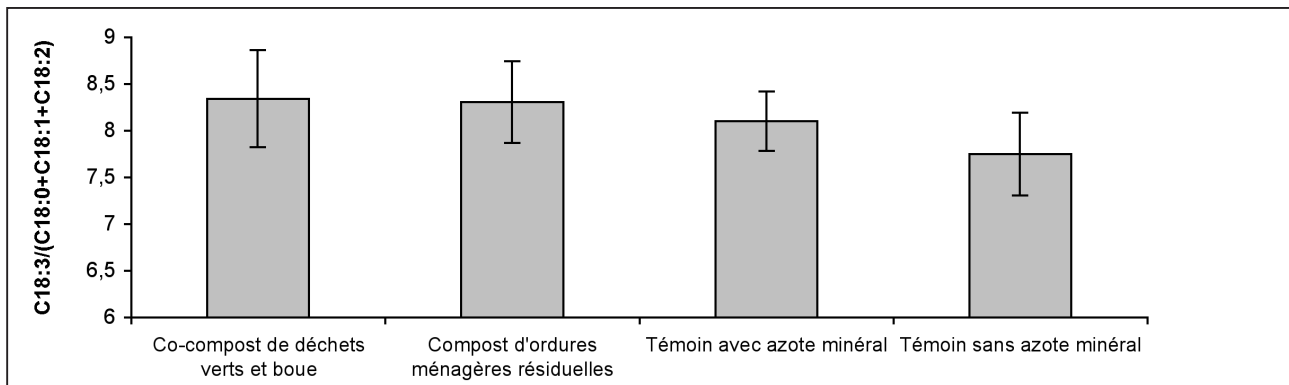
## Les plants d'orge du site de Feucherolles

### Analyse de la biomasse

Dans la *figure 5* est représentée par traitement et par bloc la moyenne des masses des plants prélevés le 12 mars 2007 sur chaque parcelle.

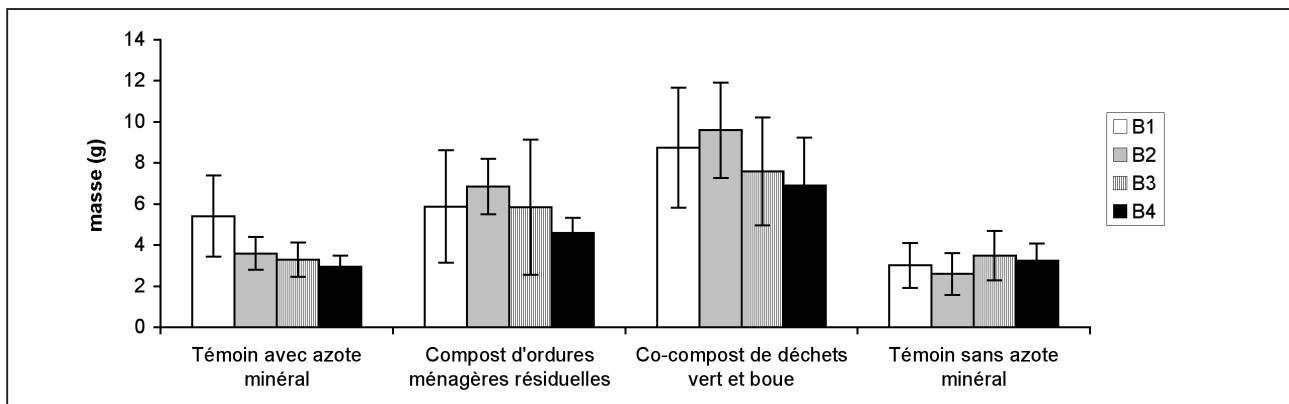
**Figure 4** - Valeurs moyennes du biomarqueur lipidique (rapport  $18 :3/(18 :0 + 18 :1 + 18 :2)$ ) des plants de blé selon les traitements. Traitement 1 = co-compost de déchets verts et boue; traitement 2 = compost d'ordures ménagères résiduelles; traitement 3 = témoin avec azote minéral; traitement 4 = témoin sans azote minéral.

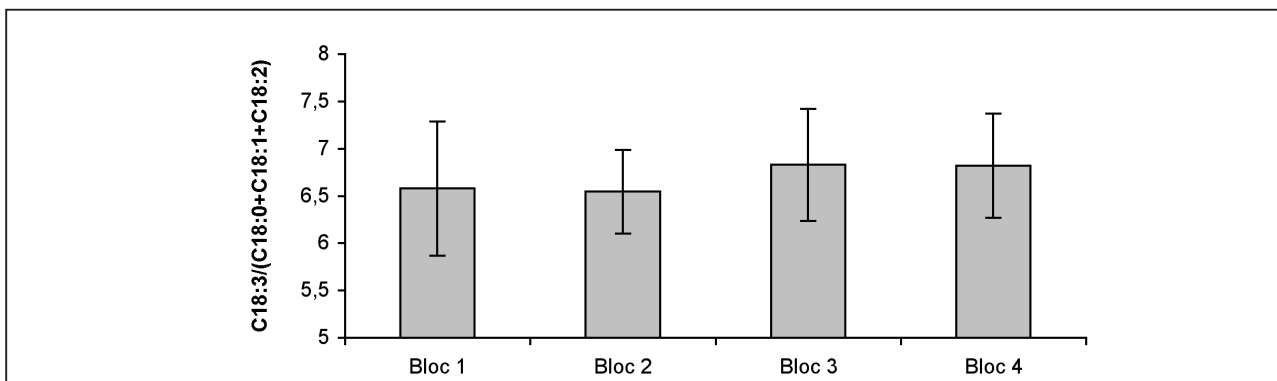
**Figure 4** - Lipid biomarker values ( $18 :3/(18 :0 + 18 :1 + 18 :2)$  ratio) of wheat plants as a function of treatments.



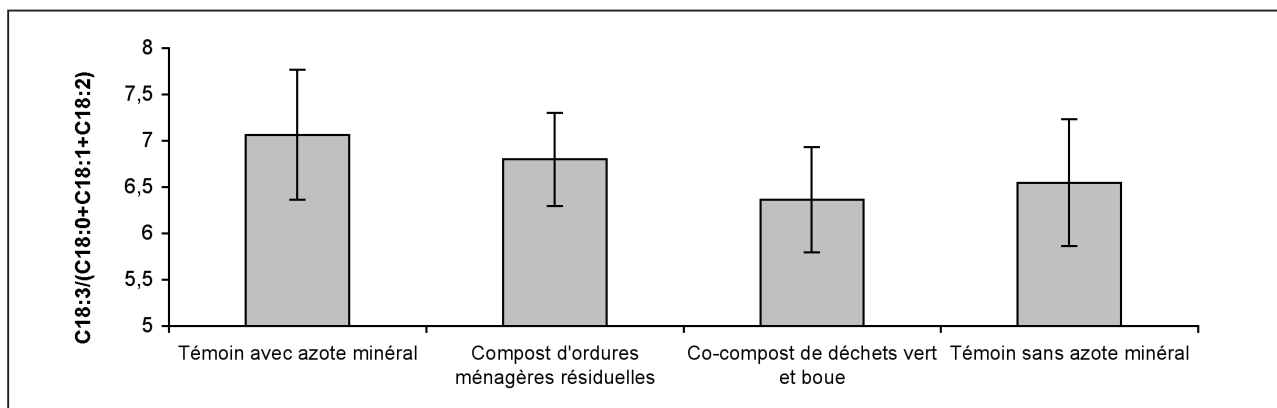
**Figure 5** - Biomasse (g) des plants d'orge prélevés selon les traitements et selon les blocs. OMR: compost d'ordures ménagères résiduelles. DV + B: compost de déchets verts et boue.

**Figure 5** - Fresh weight (g) of barley plants as a function of blocks and treatments (1 to 4).



**Figure 6** - Valeurs moyenne du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2)) des plants d'orge selon les blocs.**Figure 6** - Lipid biomarker values (18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2) ratio) of barley plants as a function of blocks.**Figure 7** - Valeurs moyenne du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2)) des plants d'orge selon les traitements.

OMR: Compost d'ordures ménagères Résiduelles. DV + B: compost de déchets verts et boue.

**Figure 7** - Lipid biomarker values (18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2) ratio) of barley plants as a function of treatments.

### Analyse du biomarqueur lipidique

Comme mentionné plus haut, la feuille la plus jeune (bien verte et sans trace visible d'attaque) a été utilisée pour déterminer la composition en acides gras des feuilles. Comme pour l'étude sur le blé (cf. plus haut), et comme dans les études précédentes (Bessoule et Mench, 2002; Le Guédard *et al.*, 2005), les résultats obtenus ont été analysés en considérant le rapport « teneur en acides linoléique (18 :3) / teneur en acides gras 18 :0 +18 :1 + 18 :2 ».

La *figure 6* montre la valeur moyenne du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/ (18 :0 +18 :1 + 18 :2)) obtenue en considérant l'ensemble des plants d'orge récoltés sur un bloc donné. Il apparaît que la valeur du biomarqueur ne varie quasiment pas d'un bloc à l'autre: 6,58 ± 0,71; 6,55 ± 0,44 ; 6,83±0,59 et 6,82± 0,55 pour les blocs 1 à 4 respectivement. L'analyse de la variance confirme qu'il n'y a pas de différence significative ( $p > 0,3$ ) entre blocs. En estimant que les blocs sont équivalents, ces résultats suggèrent que les prélèvements réalisés au hasard sont bien représentatifs.

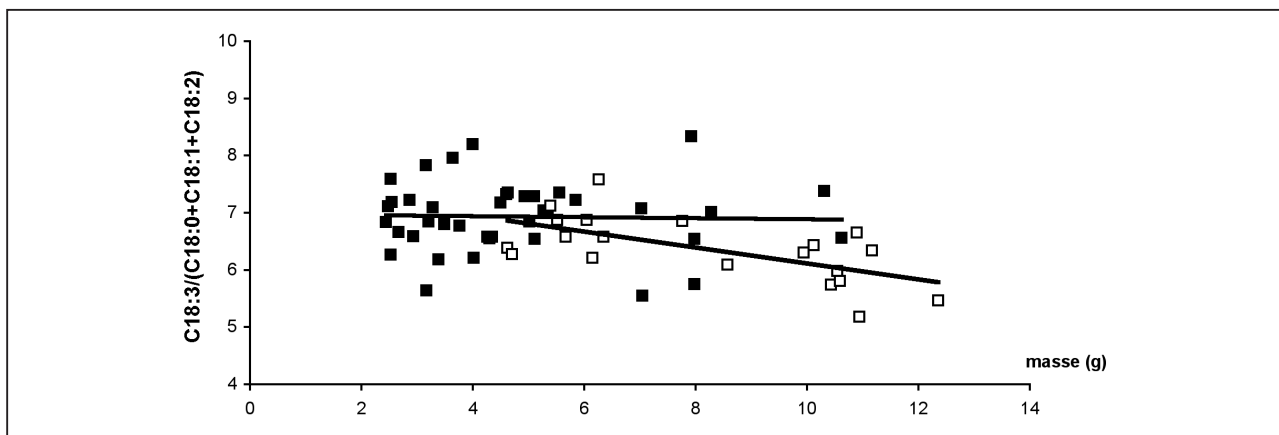
Les valeurs prises par le biomarqueur lipidique ont été également analysées en comparant les résultats traitement par traitement. La *figure 7* représente la valeur moyenne du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/ (18 :0 +18 :1 + 18 :2)) obtenue pour l'ensemble des plants d'orge récoltés sur les parcelles ayant reçu un traitement donné. Ces valeurs sont respectivement: 7,06 ± 0,70; 6,80 ± 0,50 ; 6,55 ± 0,69 et 6,36 ± 0,57 pour les traitements « témoin avec azote », « compost d'ordures ménagères résiduelles », « témoin sans azote » et « compost de déchets verts et boue ». L'effet « traitement » est très significatif ( $p < 0,005$ ). En revanche, cette analyse ne renseigne en rien sur les traitements induisant ces différences significatives.

Etant donné qu'il n'y a pas de différence significative entre les blocs, un *t*-test des valeurs prises par le biomarqueur lipidique a été réalisé en comparant, tous blocs confondus, les traitements 2 à 2. Il apparaît:

- une différence significative entre témoin avec et témoin sans azote ( $p < 0,023$ ), rappelant ainsi les résultats obtenus

**Figure 8** - Valeurs individuelles du biomarqueur lipidique (rapport 18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2)) en fonction de la biomasse des plants d'orge. Carrés blancs : Témoin avec azote minéral, Carrés noirs : co-compost de déchets verts et boue.

**Figure 8** - Lipid biomarker values (18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2) ratio) as a function of Fresh weight (g) of barley plants.



l'année précédente avec le blé: le manque d'azote induit une diminution significative des valeurs du biomarqueur lipidique;

- des différences significatives entre « compost de déchets verts et boue » et les 2 autres traitements avec « apport azoté » (« témoin avec azote » ( $p = 0,001$ ) et « compost d'ordures ménagères résiduelles » ( $p = 0,015$ )) qui, eux, ne diffèrent pas significativement ( $p = 0,192$ ) l'un de l'autre. A apport azoté égal, un effet « négatif » de l'apport de boue est donc mis en évidence.

- une absence de différence significative entre « compost de déchets verts et boue » et « témoin sans azote » ( $p = 0,366$ ): l'effet négatif de l'apport de compost de boue est « masqué » par le manque d'azote. Il est intéressant de noter que ce « masquage d'effet » est observé entre les 2 traitements pour lesquels la plus forte différence des biomasses est observée (cf. ci-dessus).

## CONCLUSION

Il apparaît donc d'après nos travaux que l'apport de boue entraîne à la fois une augmentation de la biomasse (effet « engrais » du co-compost de déchets verts et boue) et une diminution des valeurs du biomarqueur lipidique dans les feuilles d'orge. La *figure 8* souligne le fait que plus l'effet « engrais » est important, plus la valeur du biomarqueur lipidique décroît (pente égale à  $-0,14$ ). Ces variations observées pour les différentes plantes analysées correspondent probablement à une exposition aux déchets verts et boue variant légèrement d'une plante à l'autre. Il est cependant important de noter que ces variations du biomarqueur lipidique ne sont probablement pas directement liées à la variation de biomasse, puisque sur les parcelles « témoins avec azote minéral », le rapport 18 :3/(18 :0 +18 :1 + 18 :2) ne dépend pas de la croissance des plantes (pente

inférieure à  $-0,01$ ; *figure 8*). Ces résultats sont en accord avec ce qui a été observé avec des plants de *Lactuca seriola* chez lesquels il n'existait aucune corrélation entre taille des plantes et valeurs du biomarqueur, que ce soit en présence ou en absence de contaminants (Le Guédard et Bessoule, 2007). Par ailleurs, comme mentionné plus haut, il s'est avéré que la quasi-totalité des plants d'orge analysés au cours de la présente étude n'avait pas eu une croissance optimale, et que les feuilles les plus âgées étaient souvent jaunies voire desséchées (l'apport d'azote n'a été effectué que 4-5 jours avant le prélèvement). Dans quelques cas, des « décolorations » ponctiformes dues à des attaques de pathogènes pouvaient même être observées. Il serait donc intéressant de refaire une campagne d'analyses avec l'orge pour tenter de confirmer ou d'infirmer nos résultats avec des plants n'ayant pas connu certains problèmes de croissance/développement/maladies. Enfin, vu l'influence de l'apport d'azote sur la valeur du biomarqueur lipidique, il serait également souhaitable de mesurer sur chaque plant analysé la teneur en azote dans la sève. Il ne peut être en effet exclu que l'apport de déchets verts et boue ait eu un effet dépréciatif sur l'absorption d'azote au début de la culture, ou un relargage beaucoup plus lent que dans le cas d'apport du compost d'ordures ménagères résiduelles et/ou de l'engrais minéral.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé en partie grâce au soutien de l'ADEME.



## BIBLIOGRAPHIE

- Bessoule J-J., et Mench M., 2002 - Sols et déchets - Biomarqueurs métaboliques d'effet et d'exposition des végétaux aux métaux traces : candidats lipidiques. Rapport Convention ADEME / Université de Bordeaux 2 n° 9975 010.
- Le Guédard M., Larrieu I., Bessoule J-J., 2005 - Sols et déchets - utilisation des acides gras foliaires comme biomarqueurs métaboliques d'effet et d'exposition des végétaux aux métaux traces. Rapport Convention ADEME / Université de Bordeaux 2 n° 0372C0048.
- Le Guédard M., Bessoule J.J., 2007 - Utilisation des acides gras foliaires comme biomarqueurs des végétaux comme biomarqueurs d'effet et d'exposition sur des sols d'un site agricole (épandage de composts/boues) et d'un site industriel (métaux traces). Rapport Convention ADEME / Université de Bordeaux 2 n° 0672C0011.
- Le Guédard M., Guillemette-Pilette A., Bessoule J-J., 2008 - Mise en place d'essais inter-laboratoires afin de permettre la normalisation AFNOR du protocole de détermination de la composition en acides gras de feuilles de *Lactuca sativa* après croissance des plantes en enceinte phytotronique sur différents sols avec et sans amendement organique. Rapport Convention ADEME / Université de Bordeaux 2 n° 0675C0060.
- Le Guédard M., Schraauwers B., Larrieu I., Bessoule J-J., 2008 - Development of a biomarker for metal bioavailability: the lettuce fatty acid composition. *Environ Toxicol Chem*, 27, pp. 1147-1151.
- Verdoni N., Mench M., Cassagne C., Bessoule J-J., 2001 - Fatty acid composition of tomato leaves as biomarkers of metal-contaminated soils. *Environ Toxicol Chem.*, 20, pp. 382-388.

