

# Pertinence d'indicateurs biochimiques de l'impact du Cr sur le vivant en polyculture irriguée en zone périurbaine.

Françoise ELSASS<sup>1\*</sup>, Nathalie CHEVIRON<sup>1</sup>, Jeanne-Chantal THOISY-DUR<sup>1</sup>, Virginie GRONDIN<sup>1</sup>,  
Christelle MARRAULD<sup>1</sup>, Sébastien BREUIL<sup>1</sup>, Christian MOUGIN<sup>1</sup>,  
Aziza KOUCHOU<sup>2</sup>, Naoual RAIS<sup>2</sup>, Naïma EL GHACHTOULI<sup>2</sup>, Mustapha IJJAALI<sup>2</sup>,  
Joelle Duplay<sup>3</sup>, Malika GHAZI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> : UR 0251 PESSAC, INRA, RD10 78026 Versailles, France, [françoise.elsass@versailles.inra.fr](mailto:françoise.elsass@versailles.inra.fr)

<sup>2</sup> : FST, USMBA, Route d'Imouzzer, BP 2202, 30000 Fès, Maroc, [naoualrais@yahoo.fr](mailto:naoualrais@yahoo.fr)

<sup>3</sup> : UMR 7517 LHyGeS, CNRS/UdS, 1 rue Blessig 67084 Strasbourg, France, [jduplay@unistra.fr](mailto:jduplay@unistra.fr)

\*Contact : Françoise ELSASS [françoise.elsass@versailles.inra.fr](mailto:françoise.elsass@versailles.inra.fr)

## Résumé

Les eaux de surface utilisées pour l'irrigation de sols de la plaine fertile du Saïss (Maroc) sont affectées par une pollution significative en éléments traces métalliques (ETM), principalement en chrome. Une étude physico-chimique et biologique a été menée afin d'évaluer l'impact de cette contamination en chrome sur les fonctionnalités biogéochimiques des sols irrigués par les eaux de l'Oued Fès et l'Oued Sebou. Les analyses biochimiques (7 activités enzymatiques : laccase, arylsulfatase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase, phosphatase, arylamidase et uréase) de 6 sites d'étude ont permis d'établir des corrélations et des anti-corrélations entre différents paramètres mesurés et de mettre en évidence la particularité biochimique des sites étudiés. Les analyses des ETM devraient permettre d'étudier l'existence d'éventuelles corrélations entre la particularité biochimique de ces sites et leur contamination par les ETM, particulièrement le chrome VI. La perspective est de sélectionner des activités enzymatiques comme bioindicateur pertinent de la qualité des sols et pour améliorer les diagnostics de sols, notamment dans le cas des sites pollués.

## Introduction

Au Maroc, le plan Maroc Vert place l'irrigation comme pivot principal dans le développement agricole et socio-économique du pays. De ce fait, dans la région Fès-Meknès, la plaine de Saïss riche en ressources en eaux et en sols fertiles est amenée à connaître une grande extension de terres irriguées. Cependant, l'environnement général de la plaine est affecté d'une façon alarmante par la croissance démographique et industrielle de la ville de Fès qui engendre une pollution organique et inorganique des eaux de surface de la plaine de Saïss utilisables pour l'irrigation (Oued Fès et Oued Sebou). En effet, des teneurs élevées en ETM et principalement en chrome ont été mesurées dans ces eaux de surface [1,2]. Par conséquent, l'utilisation de ces eaux pour l'irrigation constitue une source de contamination des sols irrigués situés sur les deux rives des deux oueds [3]. De nombreuses études ont montré que les métaux lourds avaient un impact négatif sur les activités enzymatiques des sols. Ce sont des indicateurs qui sont considérés comme sensibles aux polluants, et qui ont déjà été proposés comme des indicateurs de qualité de fonctionnement des sols [4]. Les quelques études spécifiques sur l'impact du chrome, portent essentiellement sur des oxydoréductases [5,6] et la phosphatase [7]. Elles ont mis en évidence une modification significative des activités.

Afin d'évaluer l'impact de cette contamination sur les fonctionnalités biogéochimiques des sols, des échantillons de sols prélevés sur les rives des deux oueds ont fait l'objet d'une étude physico-chimique et biologique. Nous avons choisi d'explorer la réponse des enzymes liées aux quatre cycles biogéochimiques (arylsulfatase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase, phosphatase, arylamidase et uréase) et d'une oxydoréductase connue pour sa sensibilité aux métaux lourds, la laccase.

## Matériel et méthodes

Six sites ont été sélectionnés en fonction d'un gradient de contamination en ETM. Ils sont localisés sur des terres agricoles irriguées par les eaux de l'Oued Fès (S8) et de l'Oued Sebou en amont (S3) et en aval (S5 et S6), et au niveau de leur point de confluence (S4). Un site non irrigué (S0) sur la rive de l'Oued Sebou très en amont de la confluence est pris comme témoin (Figure1).

Pour chaque site, 5 prélèvements de terre ont été faits entre 0 et 10 cm. Trois aliquotes par échantillon ont été analysés à l'INRA PESSAC, France. Sept activités enzymatiques, le taux d'humidité, le carbone organique dissous (COD) et l'aromaticité ont été mesurés.

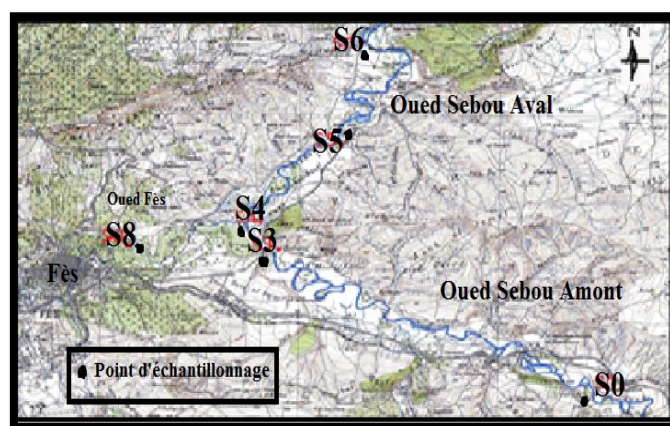


Figure 1 : Localisation des sites d'échantillonnage

Les activités Arylsulfatase (AryS),  $\beta$ -Galactosidase ( $\beta$ GAL), Phosphatase (PHOS) et Uréase (URE) sont mesurées suivant le protocole de [8]. L'Arylamidase (AryN) et la  $\beta$ -Glucosidase (bGLU) et la laccase (LACA) sont mesurées selon des protocoles modifiés de [9,10,11].

Une démarche d'analyse statistique des données après mesures sur 210 prélèvements de terre a été mise en œuvre. La détermination des coefficients de variation (CV%) de chaque activité enzymatique a permis de fixer une valeur totalement acceptable de la variabilité des mesures biologiques *in situ*. Ceci étant acquis, le tracé des réponses des activités enzymatiques pour chaque site par des figures de type boxplot (sous R) permet une description des valeurs centrales et de la variabilité des prélèvements. Les réponses des activités enzymatiques étant très différentes selon les sites, une comparaison des moyennes par tests non paramétriques (sous R) suivie d'un scoring du résultat du test a été menée. Cet outil permet un début d'interprétation des réponses biologiques, afin de proposer des hypothèses sur l'impact des contaminants et des pratiques agricoles telles que l'irrigation sur le fonctionnement biologique du sol.

### Résultats et discussion

Les principaux résultats des caractérisations physique, physico-chimique, géochimique et microbiologique des terres agricoles de la région de Fès montrent que les sols échantillonnés présentent des caractéristiques pédotexturales et minéralogiques comparables (sols peu évolués d'apport alluvial, limoneux calcaires). Leur étude géochimique corrobore le fait que les échantillons les plus proches de la source de pollution (Oued Fès, en aval des rejets de tannerie) montrent des teneurs en ETM, comme le Cr mais aussi Ni-Cu-Zn-Pb, anormalement élevées.

La caractérisation microbiologique est basée sur le dénombrement de la microflore totale : des actinomycètes, des champignons et des bactéries résistantes au Cr(VI). Elle a montré que la pollution a affecté la taille et la biodiversité des populations de ces microorganismes.

Si nous prenons en compte l'ensemble des mesures d'activités enzymatiques, cela nous permet de différencier la localisation des prélèvements en fonction de leur position par rapport au point de rejet des contaminants : le site S8 proche du point de rejet d'une tannerie, S0-S3 en amont de la confluence, le site S4 à la confluence, les sites S5-S6 après la confluence.

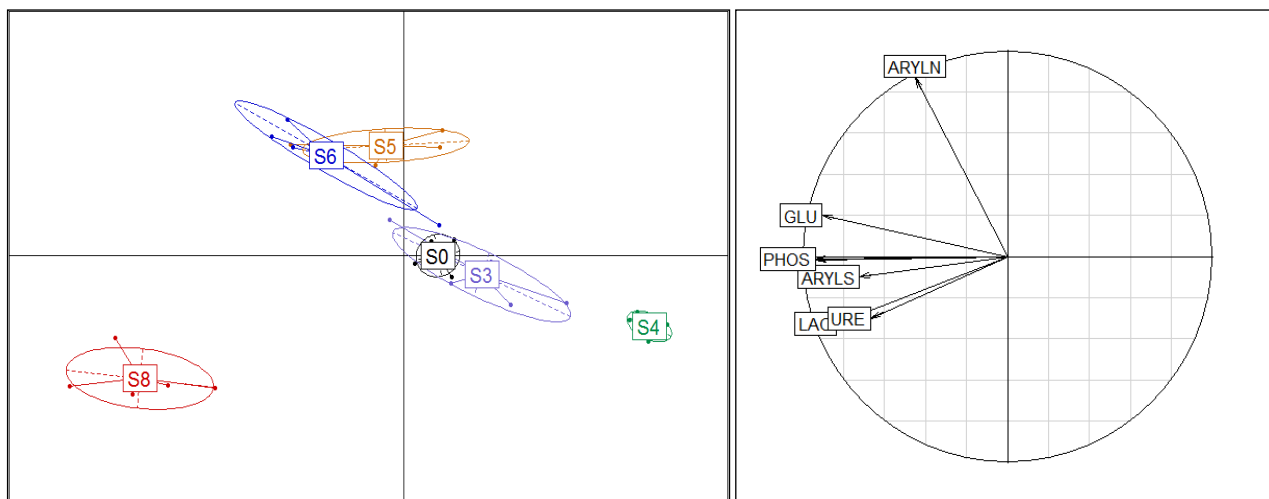
Tableau 1. Matrice de corrélation des variables biochimiques analysés dans les sols.

Variables	LACA	AryN	$\beta$ GAL	bGLU	PHOS	AryS	URE	THUM	AROM	COD
LACA	1	0.341	0.717	0.705	0.676	0.748	0.353	0.193	-0.336	0.810
AryN	0.341	1	0.417	0.500	0.507	0.537	0.138	-0.414	0.438	0.404
$\beta$ GAL	0.717	0.417	1	0.970	0.773	0.794	0.579	-0.237	-0.193	0.622
bGLU	0.705	0.500	0.970	1	0.774	0.783	0.502	-0.276	-0.077	0.596
PHOS	0.676	0.507	0.773	0.774	1	0.954	0.577	-0.341	-0.135	0.800
AryS	0.748	0.537	0.794	0.783	0.954	1	0.615	-0.239	-0.147	0.833
URE	0.353	0.138	0.579	0.502	0.577	0.615	1	-0.462	-0.231	0.341
THUM	0.193	-0.414	-0.237	-0.276	-0.341	-0.239	-0.462	1	-0.270	0.122
AROM	-0.336	0.438	-0.193	-0.077	-0.135	-0.147	-0.231	-0.270	1	-0.409
COD	0.810	0.404	0.622	0.596	0.800	0.833	0.341	0.122	-0.409	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0.05$

La matrice de corrélation des variables analysés (activités enzymatiques, taux d'humidité THUM, carbone organique dissous COD, aromaticité AROM) au niveau des sols échantillonnés nous permet de décrire différents niveaux de corrélations et des anti-corrélations (Tableau 1).

- Les corrélations fortes supérieures à 0.8 :  $\beta$ GAL/GLU, COD/LACA, COD/PHOS et COD/AryS.
- Les bonnes corrélations entre 0.6 et 0.8 : LACA/ $\beta$ GAL, LACA/bGLU, LACA/PHOS, LACA/AryS,  $\beta$ GAL/PHOS,  $\beta$ GAL/AryS, bGLU/PHOS et bGLU/AryS.
- Les corrélations moyennes sont comprises entre 0.4 et 0.6 : AryN/ $\beta$ GAL, AryN/bGLU, AryN/PHOS, AryN/AryS, URE/ $\beta$ GAL, URE/bGLU, URE/PHOS, URE/AryS, AROM/AryN, COD/AryS, COD/ $\beta$ GAL et COD/bGLU.
- Les anti-corrélations généralement modérées entre -0.4 et -0.5 : THUM/AryN, THUM/URE et COD/AROM.



**Figure 2 : Cercle des corrélations et représentation graphique des individus sur les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales des mesures d'activités enzymatiques**

L'analyse en composantes principales réalisée à partir des différentes activités enzymatiques (Figure 2) permet de distinguer et de caractériser 3 groupes.

Le premier groupe est constitué des prélèvements du site S8 le plus fortement contaminé qui se trouve en aval de rejets de tanneries dans l'Oued Fès ; ce site est caractérisé par des valeurs les plus élevées en activités enzymatiques (LACA,  $\beta$ GAL, bGLU, URE, AryS, PHOS) et le COD.

Le second groupe est constitué des prélèvements du site S4 qui représente le point de confluence entre les deux oueds ; ce site est caractérisé par un taux d'humidité plus élevé et des activités enzymatiques plus faibles par rapport à tous les autres sites.

Le troisième groupe est constitué des sites S0 (non irrigué), S3 (Amont Oued Sebou), S5 (Aval Oued Sebou 4 km après la confluence), et S6 (Aval Oued Sebou 10 km après la confluence) ; ce groupe est caractérisé par une activité AryN plus importante et une aromaticité plus élevée.

### Conclusions et perspectives

Cette étude a permis de distinguer des corrélations et des anti-corrélations entre les paramètres mesurés, et de définir trois groupes avec une particularité biochimique bien définie au niveau de chaque groupe. Une analyse en tenant compte des contaminants, de leur biodisponibilité, des itinéraires de culture, des données pédologiques permettra certainement de comprendre les variations globales et plus spécifiques pour l'interprétation des modifications observées pour l'ensemble des activités enzymatiques.

Les résultats de ce travail seront exploités dans le cadre d'une analyse du cycle de vie, pour évaluer les impacts sur les sols liés aux activités industrielles et agricoles de la région de Fès. Il s'agira d'analyser la contribution des émissions locales en ETM à l'écotoxicité terrestre, avec des facteurs de caractérisation spécifiques. Concernant Cr plus particulièrement, il sera pertinent de prendre en compte le potentiel des microorganismes à modifier sa spéciation (CrVI en CrIII) et à diminuer ainsi sa toxicité [12]. Cet aspect important permettra une meilleure appréciation de la qualité biologique des sols agricoles et par conséquent du degré d'impact de l'irrigation sur les sols et la chaîne trophique.

### Références

- [1] Koukal, B., Dominique, J., Vignati D., Arpagaus, P., Santiago, S., Ouddane, B., Benaabidate, L. (2004). Assessment of water quality and toxicity of polluted rivers Fez and Sebou in the region of Fez (Morocco). *Environmental Pollution*, 131,163-172.
- [2] Perrin, J.-L., Bellarbi, M., Lombard-Latune, R., Rais, N., Chahinian, N., Ijjaali, M. (2010). Spatial and temporal variation of the water quality of an intermittent river, Oued Fez (Morocco). In E. Servat, S. Demuth, A. Dezetter & T.

- Daniell (Eds.). Global Change: Facing Risks and Threats to Water Resources. *Proceedings of the Sixth World FRIEND Conference, Fez, Morocco*, IAHS Publisher, pp. 390-397.
- [3] Bellarbi, M., Rais, N., Mouaddine, A., Elsass, F., Duplay, J. (2011). Caractérisation physique et chimique des sols de Fès-Ouest. 21<sup>ème</sup> Colloque International des Bassins Sédimentaires, Fès, Maroc. Affiche.
- [4] Trasar-Cepeda, C. Leiros M.-C., Seoane, S., Gil-Sotres, F. (2000). Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, 1867-1875.
- [5] Stepniewska, Z., Wolińska, A., Ziomek, J. (2009). Response of soil catalase activity to chromium contamination. *Journal of Environmental Sciences*, 21, 1142-1147.
- [6] Polti, M.-A., Amoroso, M.-J., Abate, C.-M. (2010). Chromate reductase activity in *Streptomyces* sp. MC1. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 56, 11-18.
- [7] Raman, N., Srinivasan, V., Ravi, M. (2002). Effect of Chromium on the Axenic Growth and Phosphatase Activity of Ectomycorrhizal Fungi, *Laccarria laccata* and *Suillus bovinus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 68, 569-575.
- [8] de Santiago-Martin, A., Cheviron, N., Quintana, J.-R., Gonzalez, C., Lafuente, A.-L., Mougín, C. (2013). Metal Contamination Disturbs Biochemical and Microbial Properties of Calcareous Agricultural Soils of the Mediterranean Area. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64, 388-398.
- [9] Eivazi, F., Tabatabai, M.-A., (1990). Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 891-897.
- [10] Tabatabai, M.-A., Garcia-Manzanedo, A.-M., Acosta-Martinez, V. (2002). Substrate specificity of arylamidase in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 34, 103-110.
- [11] Anastasi, A., Coppola, T., Prigione V., Varese, G.-C. (2009). Pyrene degradation and detoxification in soil by a consortium of basidiomycetes isolated from compost: Role of laccases and peroxidases. *Journal of Hazardous Materials*, 165, 1229–1233
- [12] Desjardin, V., Bayard, R., Huck, N., Manceau, A., Gourdon, R. (2002). Effect of microbial activity on the mobility of chromium in soils. *Waste Management*, 22, 195-200.

### **Remerciements**

Travaux soutenus par le Ministère des Affaires étrangères : Programme de Recherches en Agronomie pour le Développement (PRAD).