

ÉTUDE PRELIMINAIRE

REGENERATION

4.1 Contexte : quid des semences non germées ?

Cela peut paraître trivial, mais les tests écotoxicologiques comme le test de germination peuvent se révéler être problématiques, dans la mesure où la germination peut être considérée comme un critère non léthal, par opposition aux tests ou les indicateurs meurent. Les semences végétales sont l'organe le plus résistant d'une plante, pouvant rester en dormance en attendant le retour de conditions environnementales plus propices à la germination (Vleeshouwers *et al.*, 1995 ; Khan *et al.*, 2001). Les réponses écotoxicologiques de la laitue dépendent, entre autres, de la composition du rejet, de la solution testée. Au cours de ce doctorat, si certains RITS étaient légèrement pollués, d'autres étaient particulièrement toxiques. Une question peut alors se poser : les semences non germées¹ étaient-elles *mortes* ? Cette étude préliminaire avait donc pour but de tester la capacité de régénération des semences, arrosées, et restées 7 jours en contact avec un RITS.

4.2 Matériel & Méthodes

4.2.1 Protocole

Le protocole présenté en Section I ([Figure II.12](#)) a subi de légères modifications pour cette étude. En effet, si la première partie du test reste classique, les semences arrosées avec du rejet non germées après 7 jours ont été replacées sur des disques de papier filtre neufs, dans des boîtes de Pétri neuves (15 par boîte), mises en contact avec uniquement de l'eau osmosée et remises 7 jours à l'obscurité.

¹ Ici les semences non germées sont les semences qui ne présentent aucune différence morphologique avec les semences avant le début du test.

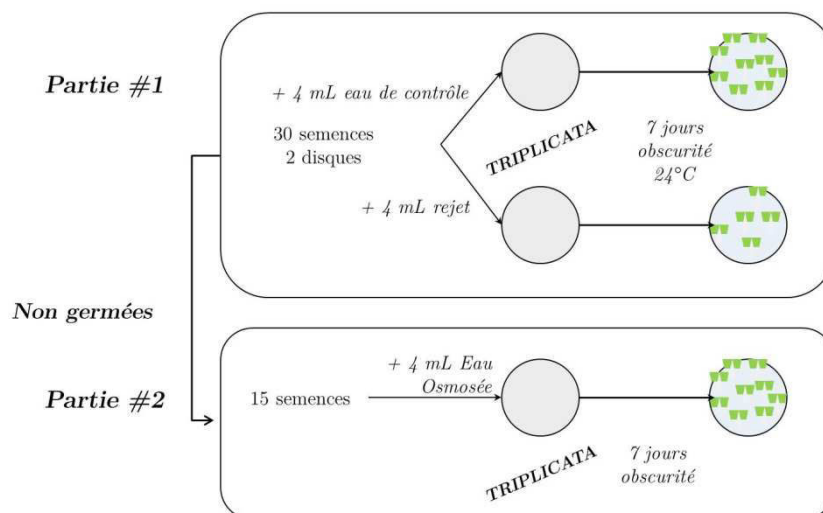


Figure II.14. Protocole de l'étude préliminaire II.

4.2.2 Rejet

La première partie du protocole (*cf.* Figure II.14) implique l'utilisation d'un RITS. L'analyse de ce rejet est présentée dans le [tableau suivant](#).

Tableau II.18. Analyse du RITS testé dans cette étude.

Paramètre / Substance	Valeur	Unité	Paramètre / Substance	Valeur	Unité
pH	8,2		DCO NF T 90-101	584	mg/L O2
Indice hydrocarbure	< 0,1	mg/L	MES filtre Millipore AP40	25	mg/L
Chrome	0,25	mg/L	Azote Kjeldahl	50,2	mg/L N
Chrome hexavalent	< 0,01	mg/L	Azote Global – calcul -	217	mg/L N
Cuivre	< 0,004	mg/L	Nitrates	663	mg/L NO3
Cyanures oxydables au chlore	< 0,02	mg/L	Nitrates exprimés en N	149,8	mg/L N
Fer	1,3	mg/L	Nitrites	57,1	mg/L NO2
Fluorures	0,35	mg/L	Nitrites exprimés en N	17,36	mg/L N
Nickel	0,64	mg/L	Phosphore total	0,16	mg/L P
Zinc	1,9	mg/L	Chlore libre	0,217	mg/L

4.2.3 Remarques

Les tests de germination ont été réalisés avec des semences de Batavia dorée de printemps. Seul le taux de germination GR a été calculé pour cette étude.

4.3 Résultats & Discussion

Dans un premier temps, il convient de considérer le taux de germination du rejet non dilué (Tableau II.19). Sa charge métallique était relativement faible (Tableau II.18), ce qui peut expliquer le taux de germination relativement élevé dans la mesure où l'on ne peut calculer aucune CE_{50} . On note que la différence avec les résultats témoins n'est pas largement significative puisque $p = 0,05$. Le rejet a eu un effet suffisant pour inhiber la germination de semence et permettre la réalisation de la partie 2 du protocole.

Tableau II.19. Résultats de germination des tests réalisés des parties 1 et 2 de l'étude.

Protocole	GR [%]
Partie 1	Témoins : 100
	Rejet pur : $68,88 \pm 12,57$
Partie 2	100 %

Intuitivement, on ne s'attend pas à voir les semences germer : “elles n'ont pas germé, elles sont *mortes*.” Si la résistance et la capacité de régénération des semences végétales est testée, vérifiée et particulièrement étudiée pour les espèces végétales halophytes et/ou soumises à des conditions environnementales et climatiques extrêmes (Ungar, 1962, 1978, 1982 ; Pujol *et al.*, 2000 ; Koorneef *et al.*, 2002 ; Nichols *et al.*, 2009 ; Ahmed & Khan, 2010), cette courte étude préliminaire montre que les semences de laitues “considèrent” la mise en contact avec un RITS comme des conditions hostiles. Une fois que ces conditions reviennent à la normale (contact avec de l'eau osmosée “propre”), la germination se déroule normalement (100 % de germination).

4.4 Conclusions & Perspectives

Il apparaît nécessaire de nuancer mon propos, et surtout les interprétations qui pourraient en découler. Ces résultats ne remettent en aucun cas en cause la pertinence et la validité de l'utilisation de semences végétales, *a fortiori* celles de laitues, lors de tests écotoxicologiques. Au même titre que les tests réalisés grâce à des indicateurs animaux ou microorganismes, le test “laitue” fournit une certaine gamme de résultats et d'informations qu'il faut manipuler et interpréter avec le recul nécessaire à tout diagnostic scientifique.

Un complément de recherche pourrait être réalisé en suivant le protocole présenté par la **Figure II.15** ci-dessous, tout en gardant à l'esprit la possibilité de réaliser ces tests sur différentes variétés de laitues. On pourrait également utiliser un autre RITS dans la partie 2.

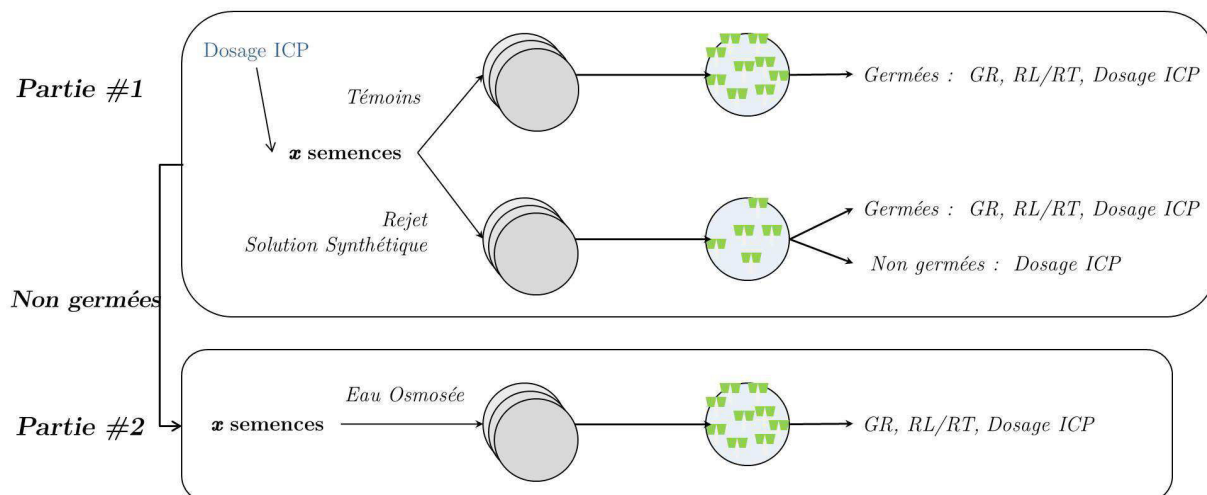
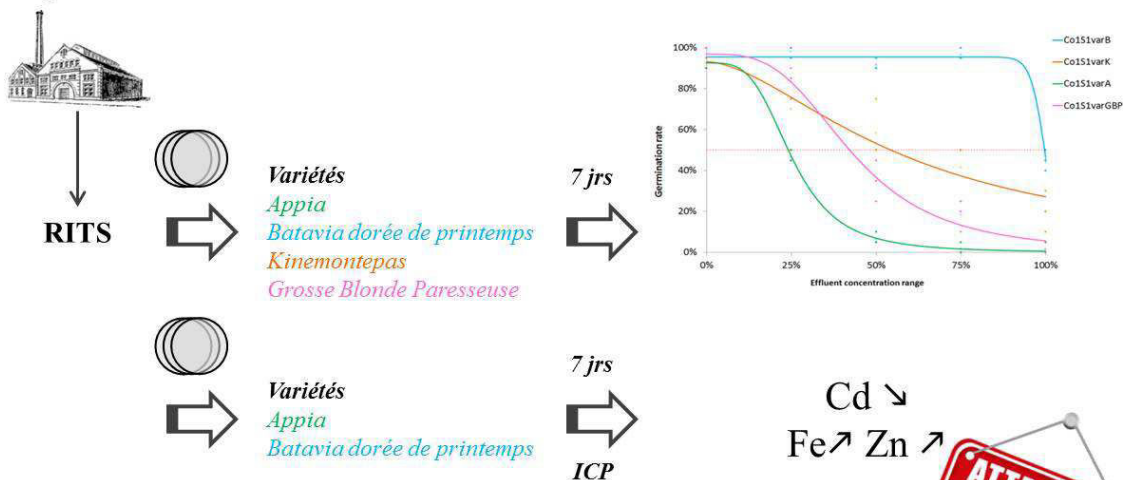


Figure II.15. Perspectives d'approfondissement de l'étude préliminaire II.

BILAN DE LA SECTION II

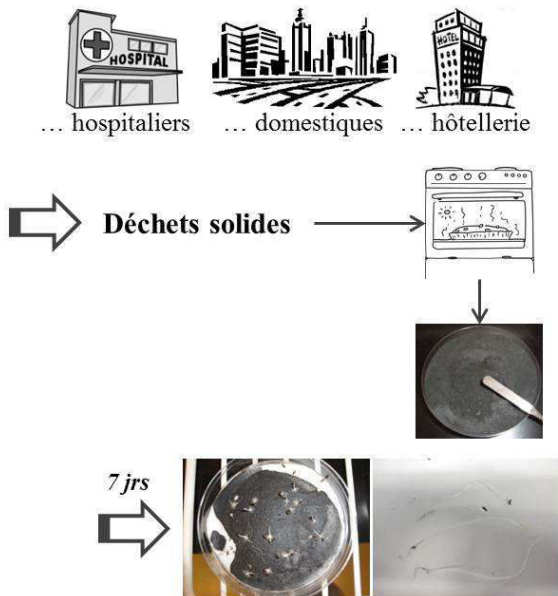
Chapitres 1 & 2



Conclusions

- Sensibilité différentielle (*du plus au moins résistant*)
 - GR: B > K > GBP > A
 - GI: B > K ~ GBP > A
- Tendances semblables mais Accumulation différentielle (*du plus au moins riche*)
 - A > B

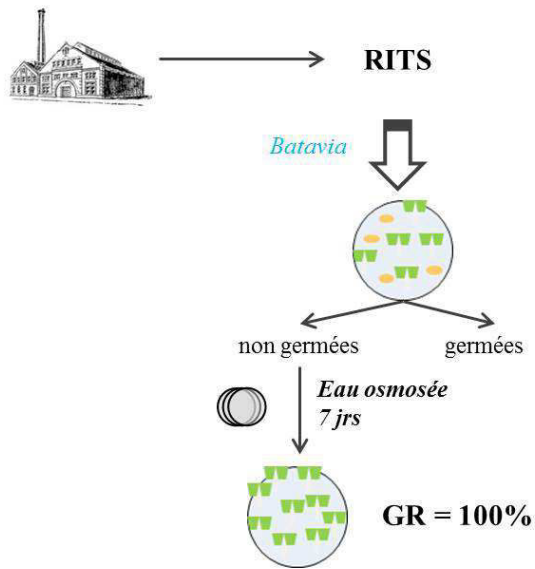
Chapitre 3



Conclusions

- $CE_{50} \sim 150 \text{ g L}^{-1}$
- Effets sur la germination et la longueur racinaire

Chapitre 4



Conclusion

- Très fort potentiel de régénération des semences de laitue

BIBLIOGRAPHIE¹

- Ahmed MZ, Khan MA.** 2010. Tolerance and recovery responses of playa halophytes to light, salinity and temperature stresses during seed germination. *Flora*, 205:764-771.
- Al-Lahham O, El Assi NM, Fayyad M.** 2003. Impact of treated wastewater irrigation on quality attributes and contamination of tomato fruit. *Agr Wat Manage*, 61:51-62.
- Alexander PD, Alloway BJ, Dourado AM.** 2006. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. *Environ Pollut*, 144:736-745.
- Azizian A, Amin S, Maftoun M, Emam Y, Noshadi M.** 2011. Response of lettuce to Cd-enriched water and irrigation frequencies. *Afr J Environ Sci Technol*, 5:884-893.
- Bahri A, Brissaud F.** 1996. Wastewater reuse in Tunisia: assessing a national policy. *Water Sci Technol*, 33:87-94.
- Baker AJ.** 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J Plant Nut*, 3:643-654.
- Barbagallo S, Cirelli GL, Indelicato S.** 2001. Wastewater reuse in Italy. *Water Sci Technol*, 43:43-50.
- Barbosa B, Costa J, Fernando AL, Papazoglou EG.** 2014. Wastewater reuse for fiber crops cultivation as a strategy to mitigate desertification. *Ind Crop Prod*, *In press*.
- Barrera-García A, O'Hara T, Galván-Magaña F, Méndez-Rodríguez LC, Castellini JM, Zenteno-Savín T.** 2012. Oxidative stress indicators and trace elements in the blue shark (*Prionace glauca*) off the east coast of the Mexican Pacific Ocean. *Comp Biochem Phys C*, 156:59-66.
- Bixio D, Thoeye C, De Koning J, Joksimovic D, Savic D, Wintgens T, Melin T.** 2006. Wastewater reuse in Europe. *Desalination*, 187:89-101.
- Blanck H.** 1984. Species dependent variation among aquatic organisms in their sensitivity to chemicals. *Ecol Bull*, 36:107-119.
- Blévin P, Tartu S, Angelier F, Leclaire S, Bustnes JO, Moe B, Herzke D, Gabrielsen GW, Chastel O.** 2014. Integument colouration in relation to persistent organic pollutants and body condition in arctic breeding black-legged kittiwakes (*Rissa tridactyla*). *Sci Total Environ*, 470:248-254.
- Brungs WA.** 1973. Effects of residual chlorine on aquatic life. *J Water Pollut Con F*, 45:2180-2193.
- Carravieri A, Cherel Y, Blévin P, Brault-Favrou M, Chastel O, Bustamante P.** 2014. Mercury exposure in a large subantarctic avian community. *Environ Pollut*, 190:51-57.
- Charles J, Sancey B, Morin-Crini N, Badot PM, Degiorgi F, Trunfio G, Crini G.** 2011. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. *Ecotoxicol Environ Saf*, 74:2057-2064.
- Chen Y, Wang C, Wang Z.** 2005. Residues and source identification of persistent organic pollutants in farmland soils irrigated by effluents from biological treatment plants. *Environ int*, 31:778-783.

¹ Cette partie regroupe les références bibliographiques citées dans cette section *hors* articles.

- Clemens S.** 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88:1707-1719.
- Cloutier-Hurteau B, Turmel MC, Mercier C, Courchesne.** 2014. The sequestration of trace elements by willow (*Salix purpurea*) – which soil properties favor uptake and accumulation? *Environ Sci Pollut Res*, 21:4759-4771.
- Di Salvatore M, Carafa AM, Carratù G.** 2008. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. *Chemosphere*, 73:1461-1646.
- Dutka BJ.** 1989. Methods for microbiological and toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments. National Water Research Institute (NWRI), Environment Canada.
- Fatta-Kassinos D, Kalavrouziotis IK, Koukoulakis PH, Vasquez MI.** 2011. The risks associated with wastewater reuse and xenobiotics in the agroecological environment. *Sci Total Environ*, 409:3555-3563.
- Guo Q, Brown JH, Valone TJ, Kachman SD.** 2000. Constraints of seed size on plant distribution and abundance. *Ecology* 81:2149-2155.
- Haugland E, Brandsaeter LO.** 1996. Experiments on bioassay sensitivity in the study of allelopathy. *J Chem Ecol*, 22:1845-1859.
- Huertas E, Salgot M, Hollender J, Weber S, Dott W, Khan S, Schäfer A, Messalem R, Bis B, Aharoni A, Chikurel H.** 2008. Key objectives for water reuse concepts. *Desalination*, 218:120-131.
- John MK, van Laerhoven CJ.** 1976. Differential effects of cadmium on lettuce varieties. *Environ Pollut*, 10:163-173.
- Jung K, Jang T, Jeong H, Park S.** 2014. Assessment of growth and yield components of rice irrigated with reclaimed wastewater. *Agr Water Manage*, 138:17-25.
- Kalavrouziotis IK.** 2011. Basic principles of treated wastewater reuse planning in ecologically sensitive areas. *Water Air Soil Poll*, 221:159-168.
- Kennedy CD, Gonsalves FAN.** 1987. The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H⁺, efflux of excised roots. *J Exp Bot*, 38:800-817.
- Khan S, Khan NN.** 1983. Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and egg-plant (*Solanum melongena*). *Plant Soil*, 74:387-394.
- Koepe DE.** 1977. The uptake, distribution, and effect of cadmium and lead in plants. *Sci Total Environ*, 7:197-206.
- Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H.** 2002. Seed dormancy and germination. *Curr Opin Plant Biol*, 5:33-36.
- Kranner I, Colville L.** 2011. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environ Exp Bot*, 72:93-105.
- Libralato G, Ghirardini Annamaria V, Francesco A.** 2010. How toxic is toxic? A proposal for wastewater toxicity hazard assessment. *Ecotoxicol Environ Saf*, 73:1602-1611.
- Logan TJ, Lindsay BJ, Goins LE, Ryan JA.** 1997. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops: Sludge rate response. *J Environ Qual*, 26:534-550.
- Lopez A, Pollice A, Lonigro A, Masi S, Palese AM, Cirelli GL, Toscano A, Passino R.** 2006. Agricultural wastewater reuse in southern Italy. *Desalination*, 187:323-334.

- Lubello C, Gori R, Nicese FP, Ferrini F.** 2004. Municipal-treated wastewater reuse for plant nurseries irrigation. *Water Res*, 38:2939-2947.
- Mahler RJ, Bingham FT, Page AL.** 1978. Cadmium-enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: Effect on yield and cadmium uptake by lettuce and chard. *J Environ Qual*, 7:274-281.
- Malinga M, Szefer P, Gabrielsen GW.** 2010. Age, sex and spatial dependent variations in heavy metals levels in the Glaucous Gulls (*Larus hyperboreus*) from the Bjørnøya and Jan Mayen, Arctic. *Environ Monit Assess*, 169:407-416.
- Mapanda F, Mangwayana EN, Nyamangara J, Giller KE.** 2005. The effect of long-term irrigation using wastewater on heavy metal contents of soils under vegetables in Harare, Zimbabwe. *Agr Ecosyst Environ*, 107:151-165.
- Mattsson B, Cederberg C, Blix L.** 2000. Agricultural land use in life cycle assessment (LCA): case studies of three vegetable oil crops. *J Clean Prod*, 8:283-292.
- Miller WE, Peterson SA, Greene JC, Callahan CA.** 1985. Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous waste sites. *J Environ Qual*, 14:569-574.
- Mohsen MS, Jaber JO.** 2003. Potential of industrial wastewater reuse. *Desalination*, 152:281-289.
- Moïse JA, Han S, Gudynaite-Savitch L, Johnson DA, Miki BL.** 2005. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *Cell Dev Biol-Plant*, 41:620-644.
- Nan Z, Li J, Zhang J, Cheng G.** 2002. Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *Sci Total Environ*, 285:187-195.
- Pablos MV, Fernández C, del Mar Babín M, María Navas J, Carbonell G, Martini F, García-Hortigüela P, Vicente Tarazona, J.** 2009. Use of a novel battery of bioassays for the biological characterization of hazardous wastes. *Ecotoxicol Environ Saf*, 72:1594-1600.
- Pandard P, Devillers J, Charissou AM, Poulsen V, Jourdain MJ, Féraud JF, Grand C, Bispo A.** 2006. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Sci Total Environ*, 363:114-125.
- Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, Sharma A.** 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environ Exp Bot*, 52:199-223.
- Pujol JA, Calvo JF, Ramirez-Diaz L.** 2000. Recovery of germination from different osmotic conditions by four halophytes from southeastern Spain. *Ann Bot-London*, 85:279-286.
- Ramos R, González-Solís J, Forero MG, Moreno R, Gómez-Díaz E, Ruiz X, Hobson KA.** 2009. The influence of breeding colony and sex on mercury, selenium and lead levels and carbon and nitrogen stable isotope signatures in summer and winter feathers of *Calonectris* shearwaters. *Oecologia*, 159:345-354.
- Raskin I, Kumar PBA, Dushenkov S, Salt DE.** 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr Opin Biotech* 5:285-290.
- Renoux AY, Tyagi RD, Samson R.** 2001. Assessment of toxicity reduction after metal removal in bioleached sewage sludge. *Water Res* 35:1415-1424.
- Repetto G, Jos A, Hazen MJ, Molero ML, Del Peso A, Salguero M, del Castillo P, Rodríguez-Vicente, Repetto M.** 2001. A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol. *Toxicol in Vitro*, 15:503-509.

- Salgot M, Huertas E, Weber S, Dott W, Hollender J.** 2006. Wastewater reuse and risk: definition of key objectives. *Desalination*, 187:29-40.
- Semenzin E, Temminghoff EJ, Marcomini A.** 2007. Improving ecological risk assessment by including bioavailability into species sensitivity distributions: An example for plants exposed to nickel in soil. *Environ Pollut*, 148:642-647.
- Seregin IV, Kozhevnikova AD.** 2005. Physiological role of nickel and its effects on higher plants. *Russian J Plant Physiol*, 53:257-277.
- Siedlecka A.** 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Soc Botanicorum Poloniae*, 64:265-272.
- Sloff W, Canton JH, Hermens JLM.** 1983. Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (Sub)acute toxicity tests. *Aquat Toxicol*, 4:113-128.
- Ungar IA.** 1962. Influence of salinity on seed germination in succulent halophytes. *Ecology*, 43:763-764.
- Ungar IA.** 1978. Halophyte seed germination. *Bot Rev*, 44:233-264.
- Ungar IA.** 1982. Germination ecology of halophytes. *In Contributions to the Ecology of Halophytes*. Sen DN, Rajpurohit KS (Eds.), Springer, Netherlands, 143-154.
- Vazquez-Montiel O, Horan NJ, Mara DD.** 1996. Management of domestic wastewater for reuse in irrigation. *Wat Sci Tech*, 33:355-362.
- Vleeshouwers LM, Bouwmeester HJ, Karszen CM.** 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *J. Ecol*, 83: 1031-1037.
- Wang W, Freemark K.** 1995. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicol Environ Saf*, 30:289-301.
- Wängberg SÅ, Bergström B, Blanck H, Svanberg O.** 1995. The relative sensitivity and sensitivity patterns of short-term toxicity tests applied to industrial wastewaters. *Environ Toxicol Water Qual*, 10:81-90.
- Weidenhamer JD, Morton TC, Romeo JT.** 1987. Solution volume and seed number: often overlooked factors in allelopathic bioassays. *J Chem Ecol*, 13:1481-1491.
- White EP, Ernest SKM, Kerkhoff AJ, Enquist BJ.** 2007. Relationships between body size and abundance in ecology. *Trends Ecol Evol*, 22:323-330.
- Woodward G, Ebenman B, Emmerson M, Montoya JM, Olesen JM, Valido A, Warren PH.** 2005. Body size in ecological networks. *Trends Ecol Evol*, 20:402-409.
- Zhou Q, Wu Y, Xiong X.** 1994. Compound pollution of Cd and Zn and its ecological effect on rice plant. *Chin J Appl Ecol*, 5:428-441 (in Chinese).
- Zorrig W, El Khouni A, Ghnaya T, Davidian JC, Abdelly C, Berthomieu P.** 2013. Lettuce (*lactuca sativa*) : a species with with a high capacity for cadmium (Cd) accumulation and growth stimulation in the presence of low Cd concentrations. *J Hortic Sci Biotech*, 88:783-789.

