

Oméga 3

M. Le Guédard, J.-J. Bessoule / LEB Aquitaine Tranfert / ADERA ;
UMR CNRS 5200, Villenave d'Ornon
Contact : marina.leguedard@u-bordeaux2.fr



DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Oméga 3 : les acides gras des végétaux outils de diagnostic et de surveillance de la pollution des sols.

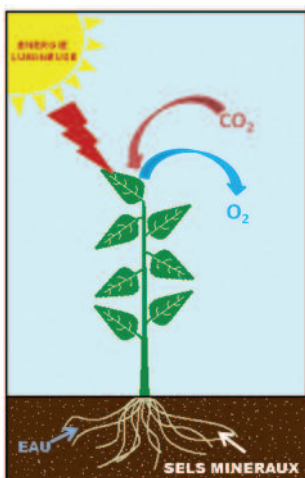


Figure 1

Rôle écologique de l'organisme testé : Dans l'écosystème terrestre, les plantes sont des producteurs primaires car elles sont complètement indépendantes du reste de la biosphère pour leur alimentation en carbone et en énergie. Elles fabriquent leur propre matière organique grâce à la photosynthèse uniquement en consommant de la lumière et de la matière minérale (eau, CO₂ et sels minéraux, Fig 1). La réaction de photosynthèse permet ainsi la croissance des plantes et entraîne aussi la libération d'oxygène indispensable à notre vie.

Outre leur rôle de producteur d'oxygène, les plantes apportent aussi la matière organique servant de source énergétique et de source de carbone nécessaire aux autres niveaux trophiques et forment ainsi le premier maillon de la chaîne alimentaire. Elles servent ainsi d'abris et de nourriture à la faune. Elles apportent aussi les éléments nécessaires aux bactéries du sol qui participent à l'amélioration de la fertilité des sols. Elles assurent ainsi la pérennité de l'écosystème terrestre. De plus, par leurs réseaux racinaires, les plantes aèrent, structurent et protègent le sol en limitant l'érosion et la battance.

Type d'indicateur : L'indice Oméga 3 est un biomarqueur biochimique permettant de mettre en évidence une exposition des végétaux à divers contaminants du sol (métaux et organiques). Plus précisément, cet indice rend compte de l'état de dégradation des lipides chloroplastiques en présence de contaminants dans le sol. En fait, les chloroplastes (Fig 2) présents dans les cellules des feuilles des végétaux supérieurs assurent la photosynthèse, et contiennent la majorité des lipides (60% à 70% des lipides foliaires). Ces lipides assurent l'intégrité des membranes chloroplastiques et jouent un rôle très important dans le bon fonctionnement de l'activité photosynthétique. L'acide gras majoritairement associé aux lipides chloroplastiques est l'acide linoléique (C18:3). Les chloroplastes contiennent ainsi jusqu'à 90% de cet acide gras Oméga 3. La dégradation lipidique induite par la présence de contaminant(s) est évaluée en mesurant la composition en acide gras des feuilles des végétaux et en calculant l'indice Oméga 3, représenté par le rapport de la teneur en C18:3 sur celle des autres acides gras à 18 atomes de carbone. Cet indice diminue en présence de contaminants (Fig 3). L'indice Oméga 3 peut être utilisé en laboratoire (norme AFNOR XP-X31 233) ou sur le terrain. Il permet une appréciation globale de l'état de santé de l'écosystème, une évaluation intégrée dans le temps et dans l'espace des polluants phytodisponibles ainsi qu'une détection précoce des effets des contaminants. Les effets mesurés sur les végétaux sont observés même avec des contaminants présents à des doses « subaiguës », n'altérant ni la germination ni la croissance des plantes, voire n'entraînant aucun phénotype « visuel » particulier (chlorose, jaunissement des feuilles...).

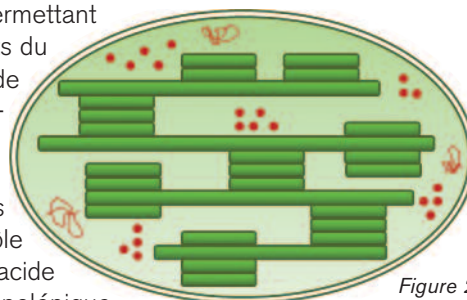


Figure 2

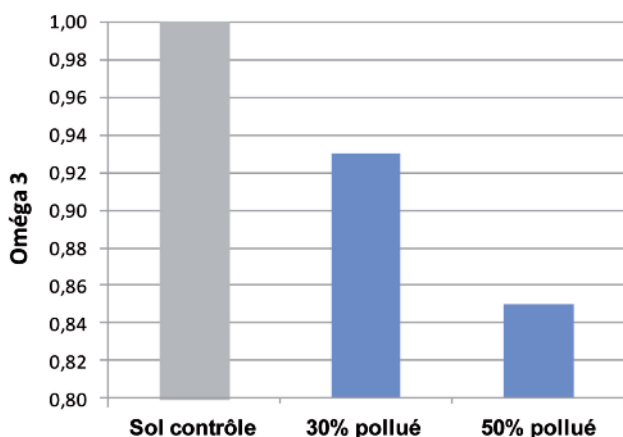


Figure 3

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Normes et/ou protocoles de référence : Norme de la méthode d'analyse : AFNOR XP-X31 233 - Qualité du sol - Effets des sols contaminés sur la composition en acides gras foliaires de *Lactuca sativa*.

Plan et méthode d'échantillonnage : L'échantillonnage est facilement réalisable par des personnes non spécialistes, il peut durer de ½ journée à 1 journée selon le nombre de modalités (i.e. parcelles) à étudier. Les différentes modalités étudiées sont prospectées et 4 à 6 espèces, dans la mesure du possible, communes à toutes les modalités sont identifiées. Il est important de réaliser les prélèvements en évitant d'échantillonner des feuilles visiblement stressées par des stress hydriques (sécheresse) ou biotiques (pathogènes).

Un morceau de feuille (5mm²) de chaque espèce végétale ainsi identifiée est découpé à l'aide d'un ciseau (Fig 4) et les tissus foliaires prélevés sont placés dans des tubes en verre contenant 1 ml de méthanol et 2,5% d'acide sulfurique (Fig 5). Si la feuille est mouillée à cause de la rosée ou de la pluie, il faut l'essuyer avant de la mettre dans le tube.

Figure 4



Figure 4

Stockage et pré-traitement des échantillons : Les échantillons sont stockés dans la solution de méthanol/acide sulfurique à température ambiante. Les échantillons peuvent rester plusieurs jours dans cette solution avant d'être analysés.

Description simplifiée de la méthode de mesure : A condition de disposer d'une chromatographie en phase gazeuse (environ 30 000 €), la méthode est peu onéreuse, rapide (2 jours) et facilement réalisable par des personnes non spécialistes.



Figure 7

Figure 8

Les échantillons sont chauffés 1h à 80°C (Fig 6). Ensuite, les tubes sont refroidis rapidement dans la glace et, après ajout de 0,75 ml d'hexane et 1,5 ml d'eau, ils sont agités et centrifugés. La phase hexane (phase supérieure verte, Fig 7) est alors prélevée, et les esters méthyliques sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (Fig 8).

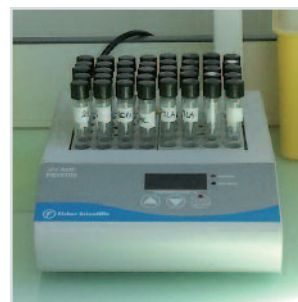


Figure 6

Paramètres mesurés

Les pourcentages de chaque acide gras sont ensuite déterminés pour chaque plante puis le rapport « (C18:3)/(C18:0 + C18:1 + C18:2) » est calculé. Ce rapport est ensuite normalisé à 1 pour toutes les espèces. Pour cela, les valeurs du rapport des individus d'une espèce donnée sont divisées par la valeur individuelle la plus élevée obtenue pour cette même espèce sur l'ensemble du site (toutes modalités confondues). Pour déterminer si les différences observées entre les modalités sont significatives des tests statistiques sont réalisés. Si la distribution suit une loi normale alors un t-test (2 modalités) ou une ANOVA (k modalités) sont réalisés. Si la distribution ne suit pas une loi normal alors des tests non paramétriques sont réalisés (Mann-Whitney (2 modalités) ou Kruskal-Wallis (k modalités) suivi si nécessaire du test de comparaison 2 à 2 de Tukey).



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Nécessité d'un référentiel local :

L'indice Oméga 3 varie de 0 à 1, 1 étant la modalité qui a le moins d'effet. Les données acquises sont ainsi interprétées par rapport à une situation de référence choisie sur le site étudié. Si, dans le meilleur des cas, une modalité témoin a pu être identifiée alors les données sont comparées à la modalité témoin qui doit avoir une note relative de 1. S'il n'y a pas de modalité témoin alors les données sont comparées à la modalité sur laquelle l'indice Oméga 3 est le moins sensible et qui doit avoir une note relative de 1. Cet indice permet ainsi de classer les modalités entre elles.

D'après notre expérience, les notes relatives obtenues pour une modalité sont interprétées de la façon suivante : Par rapport à la modalité ayant la note relative de 1 :

- $1 > \text{Note relative} > 0,93$: Pas d'effet de la modalité
- $0,93 \geq \text{Note relative} \geq 0,85$: Effet moyen de la modalité
- $\text{Note relative} > 0,85$: Effet fort de la modalité

D'après les données acquises dans le programme BIO2 (Fig 9), l'indice Oméga 3 a une gamme de variation de 0,89 à 1 sur les sites agricoles et de 0,74 à 1 sur les sites pollués. Ces résultats montrent que l'indice Oméga 3 est sensible à certaines pratiques culturales (ex : type de labour) et à la pollution (métalliques et organiques).

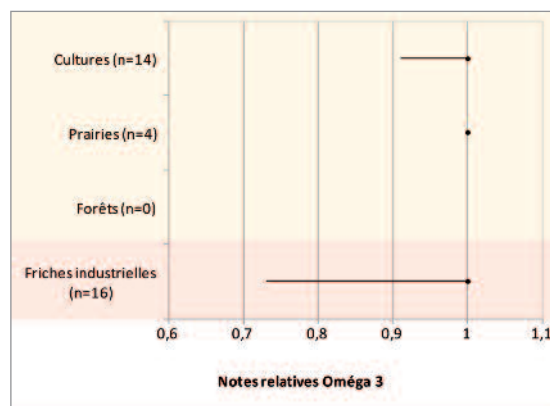


Figure 9

EXEMPLE D'APPLICATION

Site d'Auzon : 7 modalités étudiées sur cet ancien site d'une usine de fabrication de produits phytosanitaires.

Localisation	Modalité	Paramètres de distribution	As	Pb	Sb
À l'extérieur du site	CtW	Médiane MAD	123 ^a 3	60 ^a 1	12 ^a 1
	CtG	Médiane MAD	115 ^a 8	52 ^{a,b} 2	7 ^a 1
À l'intérieur du site	CoW	Médiane MAD	339 ^b 23	104 ^a 4	38 ^b 7
	CoWW	Médiane MAD	3285 ^a 1490	4575 ^a 2800	3930 ^{d,e} 2827
	CoWa	Médiane MAD	1087 ^{d,e} 530	1834 ^a 1448	2222 ^d 1864
	CoWH	Médiane MAD	661 ^c 216	282 ^c 145	176 ^c 100

Tableau 1 : Teneurs totales (mg/kg) en As, Pb et Sb contenus dans les sols des différentes modalités étudiées. Dans une même colonne, les lettres indiquent les différences significatives entre les modalités ($p < 0,05$, test de Tukey).

Comme attendu, les teneurs totales en As, Pb et Sb sont significativement plus élevées dans les sols des modalités situées à l'intérieur de l'enceinte de l'ancienne usine que dans les sols des modalités situées à l'extérieur du site. D'après ces

analyses, à l'intérieur du site, il semble que les modalités CoWW et CoWa sont fortement contaminées en As, Pb et Sb, tandis que les modalités CoW et CoWH sont moyennement contaminées.

Concernant l'indice Oméga 3, les notes relatives obtenues sont très significativement plus faibles sur les modalités situées à l'intérieur (en rouge, Fig 10) de l'enceinte de l'ancienne usine que sur celles situées à l'extérieur (en vert). Cet indice vient ainsi confirmer les résultats des analyses physico-chimiques puisqu'il permet la distinction entre les modalités contaminées et les modalités non contaminées. Cependant, le classement des différentes modalités en fonction du degré de contamination mesuré soit avec les teneurs totales en As, Pb et Sb, soit avec l'indice

Oméga 3 n'est pas tout à fait le même. En effet, parmi les modalités contaminées, la modalité qui a le plus fort effet sur l'indice Oméga 3 est CoW alors que celle-ci est faiblement contaminée en As, Pb et Sb d'après les teneurs totales dans les sols. Les résultats ainsi obtenus par l'indice Oméga 3 peuvent s'expliquer par la présence dans les sols de la modalité CoW de teneurs en herbicides (notamment di ATR, fénuron et isoproturon) supérieures aux autres modalités. Ces résultats peuvent aussi s'expliquer par le fait que l'indice Oméga 3 évalue l'état de stress global de l'environnement en intégrant notamment les effets combinés de synergie ou d'antagonisme possibles entre les contaminants qui ne sont pas pris en compte par les analyses physico-chimiques.

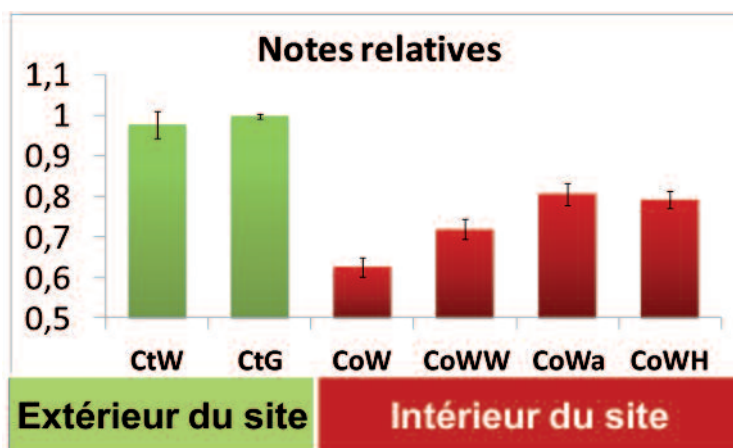


Figure 10

Ces résultats soulignent ainsi l'intérêt de l'indice Oméga 3 en complément des analyses physico-chimiques du sol.

INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

Intérêt de l'indice Oméga 3 :

- Permet d'évaluer la « qualité des sols » agricoles et pollués ;
- Permet de classer les modalités les unes par rapport aux autres ;
- Indice complémentaire aux analyses physico-chimiques ;
- Test sensible : la composition en acide gras est altérée pour des doses de contaminants (organiques et métalliques) n'entraînant aucun phénotype visuel ;
- Méthode d'analyse robuste, répétable et reproductible ;
- Méthode peu onéreuse, rapide et facilement réalisable par des personnes non spécialistes.

Limites de l'indice Oméga 3 :

- L'indice Oméga3 est un outil de comparaison. Il n'est donc pas utilisable sur un site ne comportant qu'une modalité ;
- Uniquement pour les sites agricoles : nécessité de cultiver le même végétal sur toutes les modalités testées ;
- Dates de prélèvements dépendantes de la présence de végétaux sur les modalités, et de végétaux avec des feuilles non altérées par les stress hydriques et biotiques.



LEB Aquitaine Transfert est une cellule de transfert de technologie gérée par l'ADERA (Association pour le Développement de l'Enseignement et des Recherches en Aquitaine) et adossée au Laboratoire de Biogenèse Membranaire (UMR 5200 CNRS-Université de Bordeaux). LEB Aquitaine Transfert propose aux industriels, opérateurs publics et collectivités des prestations technologiques adaptées à leur demande et innovantes en matière d'évaluation des impacts environnementaux par les lipides. Notamment, LEB Aquitaine Transfert met à disposition ses outils de surveillance, de diagnostic et d'aide à la décision (Norme AFNOR XP X31 233) à tout acteur soucieux de contribuer à la qualité environnementale de son territoire et désireux de développer une procédure écologique de contrôle et de suivi. Pour accompagner le développement de projets R&D, LEB Aquitaine Transfert, toujours en quête d'innovation, s'appuie sur les compétences performantes des équipes de recherche et sur le matériel scientifique de son laboratoire d'adossment.

CONTACT

marina.leguedard@u-bordeaux2.fr