



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE D'AGRONOMIE ET DES INDUSTRIES ALIMENTAIRES

ÉCOLE DOCTORALE RESSOURCES, PROCÉDÉS, PRODUITS ET ENVIRONNEMENT

LABORATOIRE SOLS ET ENVIRONNEMENT UMR 1120 UL (ENSAIA)/INRA

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Sciences agronomiques

par

Lucie LOVY

Hyperaccumulation du cadmium par *Noccaea caerulescens* : cinétique, répartition et prédiction

Soutenue publiquement le 29 octobre 2012

MEMBRES DU JURY :

Laurence DENAIX	Directeur de recherche	INRA, Bordeaux	Rapportrice
Camille DUMAT	Professeur	INPT/CNRS, Toulouse	Rapportrice
Hélène FRÉROT	Maître de Conférences	Université de Lille 1/CNRS, Lille	Examinatrice
Nausicaa NORET	Professeur-Assistante	Université Libre de Bruxelles	Invitée
Thibault STERCKEMAN	Ingénieur de recherche HDR	INRA, Nancy	Directeur



Goy

Noctua caerulea

Ce travail de thèse a été réalisé grâce à l'attribution d'une allocation de recherche du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR) dans le cadre de l'école doctorale RP2E.

Remerciements

Ces quatre années, et plus généralement toutes mes années d'études ont été l'occasion de rencontres toutes plus enrichissantes les unes que les autres. Merci à toutes les personnes qui ont croisé mon chemin et qui ont contribué à faire de moi ce que je suis aujourd'hui !

Je tiens en premier lieu à remercier Thibault STERCKEMAN pour m'avoir accordé sa confiance tout au long de la thèse, pour sa disponibilité, son écoute et pour m'avoir transmis un peu de son savoir et de sa rigueur scientifique. Merci pour tout Thibault !

Merci également à Jean-Louis MOREL de m'avoir accueillie au sein du Laboratoire Sols et Environnement, qui fût un peu ma seconde maison durant ces 4 années... Merci aux membres du jury, Laurence DENAIX, Camille DUMAS, Hélène FRÉROT et Nausicaa NORET, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Je souhaiterais exprimer ma reconnaissance à François BARTOLI, pour toutes ces discussions toujours enrichissantes, mais également à Guillaume ECHEVARRIA, Christophe ROBIN et Thierry SIMONNEAU pour avoir contribué à l'avancée de ce travail via les comités de pilotage.

Je voudrais remercier chaleureusement l'ensemble du personnel du LSE, pour la bonne ambiance générale qui règne au sein du laboratoire et pour tous ces moments partagés ! Un grand merci tout d'abord aux Colin's pour m'avoir fabriqué de si belles plaques en PVC et un beau système de culture aéronique pour pouvoir faire pousser mes petits *Noccaea*. Merci également à Romain pour toutes les minéralisations et broyages. À tous les techniciens, je vous remercie d'avoir si patiemment trié avec moi mes petites «salades». Merci à Catherine, la reine de l'ancien ICP et à Stéphanie pour l'initiation à JChess. Merci de même aux secrétaires, Séverine, Isabelle et Sylvia. Un grand merci également à Déborah, ma stagiaire, pour son aide précieuse et sa bonne humeur.

Une thèse c'est également de merveilleuses rencontres avec des gens de tous horizons. Tout d'abord, Fab je pense à toi, mon «jumo de date», on a commencé la thèse en même temps, mais tu m'as devancé de quelques mois ensuite... Merci mec de m'avoir accompagnée durant ces quelques années ! Merci aussi à celles qui ont partagé mon bureau, les hauts et les bas d'une telle aventure, je pense tout d'abord à toi MF, copine de bio bureau ! Merci également à toi Élodie, que j'ai pu faire un peu rêver grâce à mes voyages. Hermine, je ne te remercierai jamais assez ! Toi qui a été ma voisine ces derniers mois, pour les sorties bota et macro fleurs et pour ta curiosité scientifique et politique à toute épreuve ! Merci également à Shildos et Sophie G pour les séances de ciné passionnantes, les petits tours dans vot' pays alsacien ou l'initiation au cirque. Je pense aussi aux «anciens» du labo, Jérôme, Tanegmart, Clémence, Chouffe, Barbich', Dave (et ses femmes) et Ben. Merci pour toutes les soirées jeux et pour votre patience devant ma construction de stratégie interminable... Merci aussi aux «petits nouveaux», JM, Nouhou, Sarah, Audrey, Cédric, Joan, Sophie J, Lucia, Pierre le stagiaire (mon voisin VTTiste du massif

Jurassien), Robin... Mais puisqu'une thèse c'est également très physique et qu'il faut savoir tenir sur la longueur, merci à toi Noële pour ces séances de gym effrénées ! Stéphane, c'est grâce à toi que j'ai pu goûter à la joie de monter sur les planches, avec une régisseuse pro (Adeline), merci à vous deux. Sophie L, je te remercie pour tous ces conseils L^AT_EX-iens, R-iens, info-iens, vélo-iens... À tous ceux qui ont participé à cette alchimie autour de la prise de conscience décroissante et de l'envie de construire un monde nouveau (dont toi Alain !).

Merci également à toutes les fabuleuses personnes que j'ai rencontré à Nancy et qui ont égayé ce ciel souvent gris ! Emma, c'est à toi que je pense en premier, on se retrouve à Gre ou dans le Lot dans quelques années ! Gaby et Noé, vous qui savez ce qu'on endure en thèse, pour tous ces moments passés ensemble ! Patrice, Jenny, Jean-Aimé, on se fait un tarot dimanche soir ? Une petite pensée à toi Oliv, si j'ai pu rouler jusqu'à Győr en Hongrie c'est grâce à toi !

Enfin, merci à ma famille et mes amis, pour avoir toujours été là pour moi. Sophie et Pierre, mes binômes de la forêt de Chaux et bien plus ! Babou, Lilou, Ghis, copines de bio et... vive la haute-patate ! J'ai une pensée pour toi mamy, qui est partie il y a quelques mois. Pour terminer, Brigitte je te remercie pour la confiance que tu m'as toujours accordé, pour avoir toujours été fière de moi, pour tes encouragements et ton soutien pendant ces années d'intenses joies et préoccupations.

Cette thèse est à présent terminée, c'est aussi grâce à vous.

Planter un arbre, c'est une prise de conscience. Nous ne sommes rien sans notre environnement.

Il faut arrêter de croire que notre espèce est la plus importante.

Wangari Maathai

La nature ne se presse pas, pourtant tout est accompli.

Lao Tseu

À mes grands parents,
pour avoir su si tôt me faire découvrir les merveilles de la nature.

Sommaire

Table des figures	
Liste des tableaux	
Liste des symboles et abréviations	
Introduction générale	1
1 Mécanismes du transfert sol-plante de Cd : contexte scientifique et approche adoptée	5
1.1 Le cadmium	7
1.1.1 Propriétés chimiques générales	7
1.1.2 Problématique environnementale	7
1.1.2.1 Toxicité et écotoxicité	7
1.1.2.2 Origine dans les sols	8
1.1.2.3 Chimie dans les sols	9
1.2 Le transfert du Cd à la plante	10
1.2.1 Schéma général	10
1.2.2 Les espèces absorbées	11
1.2.3 Influence de la plante sur la disponibilité du Cd	13
1.2.4 Les transporteurs membranaires du Cd	14
1.2.4.1 Absorption racinaire	14
1.2.4.2 Efflux racinaire	16
1.2.4.3 Entrée et sortie de la vacuole	17
1.2.4.4 Déversement dans le xylème	18

1.2.5	Rôle de l'apoplasme	18
1.2.5.1	Transport par l'apoplasme	18
1.2.5.2	Stockage et détoxification dans l'apoplasme	19
1.2.6	Complexation du Cd dans le cytoplasme	20
1.2.7	Spéciation dans le xylème	21
1.2.8	Translocation et distribution dans la plante	22
1.2.9	Toxicité du Cd dans la plante	23
1.3	Tolérance des plantes au Cd et aux éléments traces	23
1.3.1	Les stratégies de tolérance	23
1.3.2	Les plantes hyperaccumulatrices	24
1.3.2.1	Définition	24
1.3.2.2	Intérêts pratiques : phytoextraction et phytomine	25
1.4	Conclusions et objectifs de la thèse	26
2	Matériels et méthodes	29
2.1	Matériel végétal et conditions de culture	31
2.1.1	Plante étudiée	31
2.1.2	Dispositifs de culture	31
2.1.2.1	Cultures en conditions contrôlées	31
2.1.2.2	Cultures en conditions extérieures	33
2.2	Méthodes	35
2.2.1	Cinétiques de croissance et de phytoaccumulation	35
2.2.2	Analyses	38
2.2.2.1	Mise en solution des échantillons végétaux	38
2.2.2.2	Analyses chimiques des solutions nutritives	38
2.2.2.3	Analyses chimiques du matériel végétal	39
2.2.2.4	Analyses chimiques des sols et solutions de sol	39
2.2.3	Modélisation du prélèvement racinaire	39
2.2.4	Exploitation statistique	42
3	Accumulation du Cd par <i>N. caeruleus</i> sous exposition contrôlée en métal	45
3.1	Introduction	47
3.2	Matériels et Méthodes	48
3.3	Résultats	49
3.3.1	Évolution de la concentration en Cd dans la solution nutritive	49
3.3.2	Croissance des plantes en conditions contrôlées	50
3.3.2.1	Biomasses aérienne et racinaire	50
3.3.2.2	Surfaces des différentes parties	57

3.3.3	Concentrations en cadmium et accumulation	58
3.3.4	Influx racinaire	61
3.4	Discussion	63
3.4.1	Évolution de la concentration en Cd dans la solution nutritive	63
3.4.2	Croissance des plantes	63
3.4.2.1	Biomasses aérienne et racinaire	63
3.4.2.2	Surfaces des différentes parties	64
3.4.3	Concentrations en cadmium et accumulation	65
3.4.4	Influx racinaire	66
3.4.5	Facteur de bioconcentration	66
3.4.6	Propositions pour la modélisation de l'accumulation du Cd	67
4	Accumulation du Cd, Ni et Zn par <i>N. caerulea</i> cultivée en terre sous climat naturel	69
4.1	Introduction	71
4.2	Matériel et méthodes	71
4.2.1	Cultures	71
4.2.2	Modélisation	71
4.3	Résultats	72
4.3.1	Évolution des conditions de culture extérieures	72
4.3.2	Croissance des plantes en conditions extérieures	73
4.3.2.1	Stades phénologiques	73
4.3.2.2	Suivi de la levée	76
4.3.2.3	Biomasse aérienne	76
4.3.2.4	Surface aérienne	82
4.3.3	Concentrations en Cd, Ni et Zn	82
4.3.4	Accumulation du Cd, Ni et Zn	87
4.3.5	Facteurs de bioconcentration du Cd	99
4.4	Discussion	101
4.4.1	Croissance de <i>N. caerulea</i> à l'extérieur	101
4.4.2	Concentrations et prélèvements en Cd, Ni et Zn	101
4.4.3	Prédiction de l'accumulation du Cd	110
4.4.4	Phytoextraction du Cd	111
	Conclusion générale et perspectives	113

Table des figures

1.1	Teneurs médianes en cadmium total des horizons de surface (0-30 cm) de sols agricoles	9
1.2	Mécanismes impliqués dans l'hyperaccumulation et l'hypertolérance du métal chez <i>Arabidopsis halleri</i> et <i>Noccaea caerulescens</i>	15
1.3	Représentation de la cinétique de type Michaelis-Menten.	16
2.1	<i>Noccaea caerulescens</i> cultivée en bacs extérieurs (a) et en aéroponie (b)	31
2.2	<i>Noccaea caerulescens</i> lors des cultures en aéroponie	32
2.3	Bacs de la station expérimentale de Brabois le 4 avril 2010.	34
2.4	Les différents organes aériens de <i>Noccaea caerulescens</i> lors du stade en fleurs.	37
3.1	Suivi temporel de la concentration en Cd dans la solution nutritive en aéroponie.	49
3.2	Biomasses aérienne et racinaire de <i>Noccaea caerulescens</i> exposés à des niveaux constants de Cd en aéroponie	50
3.3	Allocation de la biomasse de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en conditions contrôlées pour la culture A	53
3.4	Allocation de la biomasse de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en conditions contrôlées pour la culture B	54
3.5	Allocation de la biomasse de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en conditions contrôlées pour la culture C	55
3.6	Allocation de la biomasse de <i>Noccaea caerulescens</i> au stade en fleurs	56
3.7	Surfaces aérienne et racinaire de <i>Noccaea caerulescens</i> exposés à des niveaux constants de Cd en aéroponie	57

3.8	Relations entre surfaces racinaire et aérienne et matière sèche totale de <i>Noccaea caerulescens</i>	58
3.9	Concentrations en Cd dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i>	58
3.10	Concentrations en Cd dans les parties aériennes et racinaires de <i>Noccaea caerulescens</i>	59
3.11	Concentrations en Cd dans les parties aériennes et racinaires de <i>Noccaea caerulescens</i> lors du stade en fleurs	60
3.12	Quantités de Cd accumulé pour les cultures A et C de <i>Noccaea caerulescens</i> exposé à des niveaux constants de Cd	60
3.13	Relation entre quantité de Cd prélevé, biomasse et concentration en Cd ²⁺ dans la solution d'exposition chez <i>N. caerulescens</i>	61
4.1	Suivi des températures et précipitations sur les trois années de culture en extérieur	73
4.2	Suivi des stades repères de <i>Noccaea caerulescens</i> au cours d'une saison de culture en degrés jours.	77
4.3	Suivi de la levée des plantules en conditions extérieures.	77
4.4	Évolution de la biomasse aérienne au cours des trois années de culture en extérieur.	77
4.5	Répartition de la biomasse aérienne de <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la première année de culture	79
4.6	Répartition de la biomasse aérienne de <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la deuxième année de culture	80
4.7	Répartition de la biomasse aérienne de <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la troisième année de culture	81
4.8	Évolution de la surface foliaire au cours des trois années de culture en extérieur.	82
4.9	Relation entre biomasse aérienne et surface foliaire sur trois années de culture en extérieur.	82
4.10	Concentrations en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> en extérieur	83
4.11	Concentrations en Cd dans les différents organes de <i>Noccaea caerulescens</i> en extérieur	84
4.12	Quantités de Cd, Ni et Zn accumulés dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> en extérieur	87
4.13	Répartition de l'accumulation du Cd chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la première année de culture	90
4.14	Répartition de l'accumulation du Cd chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la deuxième année de culture	91
4.15	Répartition de l'accumulation du Cd chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la troisième année de culture	92

4.16 Répartition de l'accumulation du Ni chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la première année de culture	93
4.17 Répartition de l'accumulation du Ni chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la deuxième année de culture	94
4.18 Répartition de l'accumulation du Ni chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la troisième année de culture	95
4.19 Répartition de l'accumulation du Zn chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la première année de culture	96
4.20 Répartition de l'accumulation du Zn chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la deuxième année de culture	97
4.21 Répartition de l'accumulation du Zn chez <i>Noccaea caerulescens</i> lors de la troisième année de culture	98
4.22 Influx racinaire en Cd estimé par le modèle	103
4.23 Concentrations en Cd dans les parties aériennes estimées par le modèle en fonction de la profondeur des racines et du temps de culture.	103
4.24 Longueur racinaire estimée pour les trois années de culture et sa fonction associée	106
4.25 Longueurs racinaires estimées par le modèle	107
4.26 Profils modélisés de concentration en Cd dans la solution du sol	108

Liste des tableaux

1.1	Seuils d'hyperaccumulation et nombre de taxons représentés par élément trace .	25
2.1	Principales caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé pour la culture de <i>Noccaea caerulescens</i>	35
2.2	Profils de concentrations en Cd, Ni et Zn dans les bacs extérieurs	36
3.1	Production de biomasse et répartition dans les différentes parties de <i>Noccaea caerulescens</i> au stade en fleurs	52
3.2	Facteurs de bioconcentration (BCF) de <i>Noccaea caerulescens</i> exposé à des niveaux constants de Cd	61
3.3	Influx en Cd pour différentes populations de <i>Noccaea caerulescens</i>	62
4.1	Paramètres utilisés dans le modèle de prélèvement racinaire.	72
4.3	Stades repères chez <i>Noccaea caerulescens</i> et périodes d'apparition	74
4.4	Biomasses, surfaces et concentrations en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en extérieur	85
4.5	Concentrations en Cd, Ni et Zn dans les différentes parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en extérieur	86
4.6	Biomasses, surfaces et quantités en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> cultivé en extérieur	89
4.7	Facteurs de bioconcentration du Cd pour les cultures de <i>N. caerulescens</i> en extérieur si l'on considère que 100 % du Cd en solution est sous forme Cd ²⁺ . . .	99
4.8	Facteurs de bioconcentration du Cd pour les cultures de <i>N. caerulescens</i> en extérieur si l'on considère que 30 % du Cd en solution est sous forme Cd ²⁺ . . .	100

4.9	Paramètres utilisés pour la modélisation du prélèvement racinaire.	104
4.10	Quantités prélevées dans la plante entière, les parties aériennes et concentrations dans les parties aériennes de <i>Noccaea caerulescens</i> . Valeurs mesurées et valeurs simulées	109
4.11	Concentrations en Cd estimées dans les parties aériennes de <i>N. caerulescens</i> . .	110

Liste des symboles et abréviations

Abréviation	Signification
BCF	facteur de bioconcentration
ET	élément trace
MF	matière fraîche
MS	matière sèche
ns	non significatif
PA	parties aériennes
PR	parties racinaires
PE	plante entière

Symbole	Signification	Unités
A_{Cd_x}	Facteur d'allocation du Cd dans la partie x	
BCF_x	Facteur de bioconcentration de la partie x	$L\ kg^{-1}$
$[Cd]_x$	Concentration en Cd dans la partie x	$mol\ kg^{-1}$
c_r	Taux de croissance racinaire	s^{-1}
I_{Cd}	Influx en Cd	$mol\ m^{-2}\ s^{-1}$
I_{max}	Influx maximal de Cd	$nmol\ g^{-1}MS\ h^{-1}$
K_m	Constante de Michaelis-Menten	$\mu mol\ L^{-1}$
MS_x	Biomasse de la partie x	g
Q_{Cd_x}	Quantité de Cd dans la partie x	mol
S_r	Surface racinaire	cm^2

Introduction générale

L'HOMME a longtemps négligé son impact sur l'environnement. Au cours du siècle dernier, de vastes régions du monde ont été contaminées par des substances toxiques, dont le cadmium. Depuis les activités minières et de fonderie, jusqu'à l'élimination des boues d'épuration des eaux et l'utilisation d'engrais phosphatés riches en Cd, nombreuses sont les sources qui ont provoqué une augmentation de la teneur en Cd des sols, y compris des sols agricoles.

Du fait de la pression foncière liée à la croissance démographique, il sera nécessaire de récupérer pour les cultiver, des sols très anthropisés tels que les sols de friches industrielles ou de zones urbaines. De plus, la limitation des ressources en éléments fertilisants et en énergie vont contraindre à une utilisation croissante d'engrais riches en Cd et de déchets (boues et composts urbains) contaminés par ce métal. La pollution cadmiée des sols doit donc être maîtrisée.

Le cadmium, métal trace non-essentiel, peut être toxique pour la plupart des organismes vivants à de faibles concentrations. Comme le Cd du sol est généralement très phytodisponible, il peut être accumulé dans les cultures et transféré dans la chaîne alimentaire. La prédiction du transfert sol-plante du Cd est donc nécessaire afin d'évaluer les risques d'intoxication des consommateurs de végétaux.

Nombreuses sont les zones déjà contaminées où la phytoextraction apparaît comme une des rares techniques de dépollution envisageable. Des travaux récents montrent qu'en multipliant par cinq la biomasse de l'hyperaccumulateur *Noccaea caerulescens*, la dépollution de sols assez lourdement contaminés par le Cd pourrait être menée en quelques années.

Alors que les interactions moléculaires impliquées dans l'homéostasie¹ des métaux en traces dans les plantes sont de mieux en mieux décrites, il n'est pas encore possible de prédire la concentration d'un métal dans un organe végétal (p.ex. racine, tige, feuille, graine) pour un stade de développement donné. Ce type de prédiction est essentiel pour la prévention des risques associés aux cultures sur des sols contaminés en éléments en traces ou pour la gestion de la phytoremédiation, en particulier de la phytoextraction. Cela pourrait être fait au moyen d'une approche générique en couplant un modèle décrivant l'offre du sol (p.ex. le transport réactif d'élément trace au voisinage de la racine) à un autre modèle simulant la demande de la plante (p.ex. la cinétique de l'accumulation du métal dans les différents organes) à l'échelle du cycle complet de culture. Cependant, un tel modèle n'existe pas dans le cas des éléments traces en général et du cadmium en particulier. Ce formalisme, couplé à un modèle de culture, permettrait de prévoir les transferts aux organes récoltés, et donc d'optimiser les pratiques culturales, qu'elles soient agricoles ou de remédiation.

Des progrès ont été enregistrés sur la modélisation de l'offre de sol en éléments en traces ; il faut maintenant progresser sur celle de la «demande de la plante»².

Pour modéliser l'accumulation du Cd, la connaissance des cinétiques de distribution du métal dans les organes de plantes exposées à des concentrations constantes est nécessaire. Cette information est rare dans la littérature, bien qu'il existe de nombreuses données sur les teneurs en Cd à l'échelle de la plante ou de l'organe. Du fait que les plantes étaient la plupart du temps cultivées sur des sols contaminés ou en hydroponie mais avec un contrôle insuffisant de la solution nutritive, il n'est pas possible de distinguer, dans les rares cinétiques de distribution dans la plante, la contribution de l'évolution de l'offre du sol (ou de la solution) de celle de l'homéostasie de la plante (ou de l'organe). De plus, les études cinétiques sont généralement conduites sur de courtes périodes, en comparaison avec un cycle de culture complet, ou suite à une exposition de très courte durée («pulse»). Bien souvent, les plantes sont divisées en racines/parties aériennes uniquement et l'on manque d'informations sur la répartition de l'ETM dans les différents organes de la plante.

L'objectif général de ce travail est d'étudier, à travers une vision synthétique de l'homéostasie du Cd, les cinétiques de prélèvement et d'accumulation du métal dans la plante, ainsi que de proposer une prédiction simple de ces phénomènes. Le modèle expérimental choisi pour les expérimentations est l'hyperaccumulateur *Noccaea caerulea* (population Viviez), car c'est un modèle d'étude des mécanismes biomoléculaires de l'homéostasie des métaux en traces mais

1. du grec hómoios, "semblable", et stásis, "état stationnaire", elle est définie comme la capacité d'un système à réguler son environnement interne et à maintenir son équilibre de fonctionnement, en dépit des contraintes qui lui sont extérieures. Selon Walter Bradford Cannon, «l'homéostasie est l'équilibre dynamique qui nous maintient en vie». L'homéostasie est définie ici comme la capacité qu'a la plante hyperaccumulatrice à maintenir un équilibre dynamique entre sa concentration interne en métaux et celle de son environnement externe, grâce à une régulation des mécanismes moléculaires impliqués dans l'accumulation des métaux.

2. ce terme est défini ici par la capacité qu'a la plante à absorber le métal et l'hyperaccumuler dans ses parties aériennes. Cette capacité étant potentiellement dynamique dans le temps et fonction du niveau d'exposition.

également la principale espèce candidate à une utilisation en phytoextraction du Cd. Dans une première étape, il s'agit d'établir une relation entre la production de biomasse et le prélèvement de Cd en conditions contrôlées et à exposition constante. Dans une deuxième étape, il s'agit de mieux décrire la phénologie de *Noccaea caerulescens* ainsi que de tester les relations en conditions extérieures.

Dans cette optique, le [premier chapitre](#) est consacré à un exposé général sur le cycle biogéochimique du Cd et sur les mécanismes liés à son accumulation chez les plantes hyperaccumulatrices, et en particulier chez *N. caerulescens*.

Cet état des connaissances a permis de dégager une approche pour la prédiction de l'hyperaccumulation du Cd chez l'hyperaccumulateur. La démarche expérimentale adoptée pour répondre à cette problématique est ensuite décrite dans le [deuxième chapitre](#).

Le [troisième chapitre](#) présente les cinétiques d'accumulation et de répartition du Cd sous l'influence de plusieurs expositions en Cd constantes chez *N. caerulescens* cultivé en aéroponie. Il permet d'établir le lien entre l'accumulation de Cd et la production de biomasse.

Le [quatrième chapitre](#) présente l'étude, en conditions extérieures, de la phénologie de *N. caerulescens* et de sa dynamique d'accumulation du Cd, mais également de Ni et de Zn, sur trois cycles de culture complets. Il met à l'épreuve les relations dégagées dans le précédent chapitre, en évaluant leur pertinence pour la prédiction de l'hyperaccumulation du Cd. À l'issue de ce chapitre sont présentés [les conclusions et les perspectives de recherche](#).

Mécanismes du transfert sol-plante de cadmium

Contexte scientifique et approche adoptée

Résumé

L'objectif de ce chapitre est de fournir, à travers une synthèse bibliographique, un point des connaissances actuelles sur les processus intervenants dans le transfert du sol à la plante du cadmium et des différentes stratégies de tolérance des plantes. Les différents mécanismes impliqués dans la tolérance et l'accumulation du Cd sont évoqués et l'ensemble des processus qui prennent place lors du prélèvement du métal sont présentés. Ensuite une revue des travaux menés sur la cinétique d'accumulation du métal est réalisée. À l'issue de cette synthèse, une approche est dégagée pour décrire la dynamique de répartition du Cd dans les différents organes de la plante, à l'échelle d'un cycle de vie complet.

1.1 Le cadmium

1.1.1 Propriétés chimiques générales

Le cadmium est un métal d'aspect blanchâtre, argenté et malléable. Il appartient au groupe IIB du tableau périodique. Il se retrouve ainsi souvent associé aux éléments du même groupe dans les roches, c'est à dire avec le zinc ou le mercure. On le trouve la plupart du temps sous forme de cation divalent et il possède une affinité forte pour le soufre et différents composés organiques (Kabata-Pendias 2001). Il possède un rayon ionique effectif (0,97 Å) très proche de celui du calcium (0,99 Å), ce qui explique qu'il peut facilement se substituer à ce dernier dans les sites de fixation du Ca sur les roches phosphatées ou au sein des molécules d'origine biologique.

1.1.2 Problématique environnementale

1.1.2.1 Toxicité et écotoxicité

Sans fonction biologique connue en dehors d'une implication dans une enzyme de diatomée (Lane *et al.* 2005), le cadmium est un élément toxique pour la plupart des organismes. Chez l'Homme, le cadmium est efficacement retenu dans les reins et le foie, avec une demi-vie allant de 20 à 30 ans. Il peut causer une déminéralisation des os, par dommage direct ou comme conséquence d'un dysfonctionnement rénal. Il a ainsi été à l'origine d'une intoxication aiguë au Japon dans la première moitié du 20^e siècle, engendrée par l'exploitation minière : la maladie d'Itai itai (littéralement maladie aïe-aïe) dont le nom vient du fait que le métal absorbé en fortes concentrations avec le riz produit dans des parcelles contaminées, entraînait la rupture très douloureuse des os des personnes touchées. Le cadmium est classé dans la catégorie 1 «cancérogènes pour l'homme» par l'Agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) (Leblanc *et al.* 2004) car il est associé à un risque accru de cancer, notamment des poumons, de l'endotrium, de la vessie et de la gorge. En 2009, l'«Autorité européenne de sécurité des aliments» (EFSA) a abaissé la Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire à 2,5 µg kg⁻¹ de poids corporel (EFSA 2009). L'alimentation est la première source d'exposition au Cd pour les non-fumeurs, notamment par les légumes et les pommes de terre qui constituent 44,9 % des apports journaliers chez l'adulte en France, suivis par les crustacés et mollusques (6,41 %), le pain et les biscottes (5,78 %) et les eaux (4,51 %) (Leblanc *et al.* 2004). C'est pour cette raison que les teneurs en Cd dans les aliments végétaux ont été limitées à 0,05 à 0,2 mg kg⁻¹ MF selon leur nature (Commission-Européenne 2006). Diverses études menées en Europe et aux USA montrent qu'une proportion non négligeable du blé (tendre ou dur) dépasse les teneurs réglementaires en Cd (Chaudri *et al.* 1995 ; Girling et Peterson 1981 ; Harris et Taylor 2004 ; Mench *et al.* 2001 ; Wenzel *et al.* 1996). Enfin, le Cd est connu pour sa phytotoxicité. Celle-ci se

manifeste tout d'abord par une réduction de croissance, des chloroses, qui peuvent être suivies de nécroses et de la mort de la plante dans le cas d'une intoxication aigüe. La concentration critique, à partir de laquelle le Cd perturbe le fonctionnement des plantes non adaptées au métal varie de 8 à 12 mg kg⁻¹ (Balsberg Pålsson 1989). Ses effets dépendent évidemment de la dose et de l'espèce considérée, voire de la population étudiée. L'origine de la phytotoxicité n'est pas complètement éclaircie et serait à attribuer à une perturbation, soit de la photosynthèse, soit de la nutrition minérale (Fe, Ca, Mg, K et P) (DalCorso *et al.* 2008). Cependant, dans beaucoup de situations de contaminations de sols par le Cd, les teneurs en ce dernier sont plus préoccupantes du fait des risques de transfert du métal dans les parties consommées que pour la toxicité vis-à-vis de la plante elle-même.

1.1.2.2 Origine dans les sols

Le Cd du sol pose un problème particulier, puisque c'est par l'alimentation que l'Homme y est le plus exposé et que le métal rejoint nos aliments le plus souvent par la contamination des cultures (Leblanc *et al.* 2004). Le cadmium d'origine naturelle est présent dans les sols et dans les roches, mais en quantités généralement très faibles. La teneur moyenne dans la croûte continentale supérieure est de 0,1 mg kg⁻¹ (Wedepohl 1995). En France, une moyenne de 0,28 mg kg⁻¹ est constatée dans les horizons superficiels des sols, les premiers et neuvièmes déciles étant à 0,12 et 0,60 mg kg⁻¹ respectivement (<http://etm.orsleans.inra.fr/webtabet.htm>). Les craies et les calcaires jurassiques montrent des teneurs naturelles élevées en cadmium et les sols développés sur ces matériaux peuvent atteindre naturellement des teneurs supérieures à 2 mg kg⁻¹ (Baize *et al.* 1999) (Figure 1.1).

Les principales sources de contamination des sols par voie atmosphérique (39 à 41 % de la pollution cadmiée des sols en France) sont les rejets miniers ou industriels (métallurgie non ferreuse, peinture, batteries, piles Ni-Cd, combustion d'énergies fossiles). En 2009 en Europe, encore 96 tonnes de Cd étaient émises dans l'atmosphère (EEA 2012). Des apports locaux peuvent également être dûs à certaines pratiques agricoles, telles que l'épandage de déchets organiques comme les boues d'épuration (2 à 5 % de la pollution) ou *via* les engrais phosphatés minéraux (54 % à 58 % de la pollution), qui peuvent être relativement riches en Cd selon l'origine des roches desquelles ils sont extraits (GisSol 2011). Dans l'ancien bassin minier du Nord de la France, une teneur de 2402 mg kg⁻¹ de Cd a été mesurée à moins de 2 km d'une usine de production de Pb et de Zn (Douay *et al.* 2009). Dans les horizons de surface des sols du Nord-Pas de Calais, y compris agricoles et forestiers, l'enrichissement en Cd représente le plus souvent 3 à 30 fois le fond pédogéochimique naturel (Bourennane *et al.* 2010).

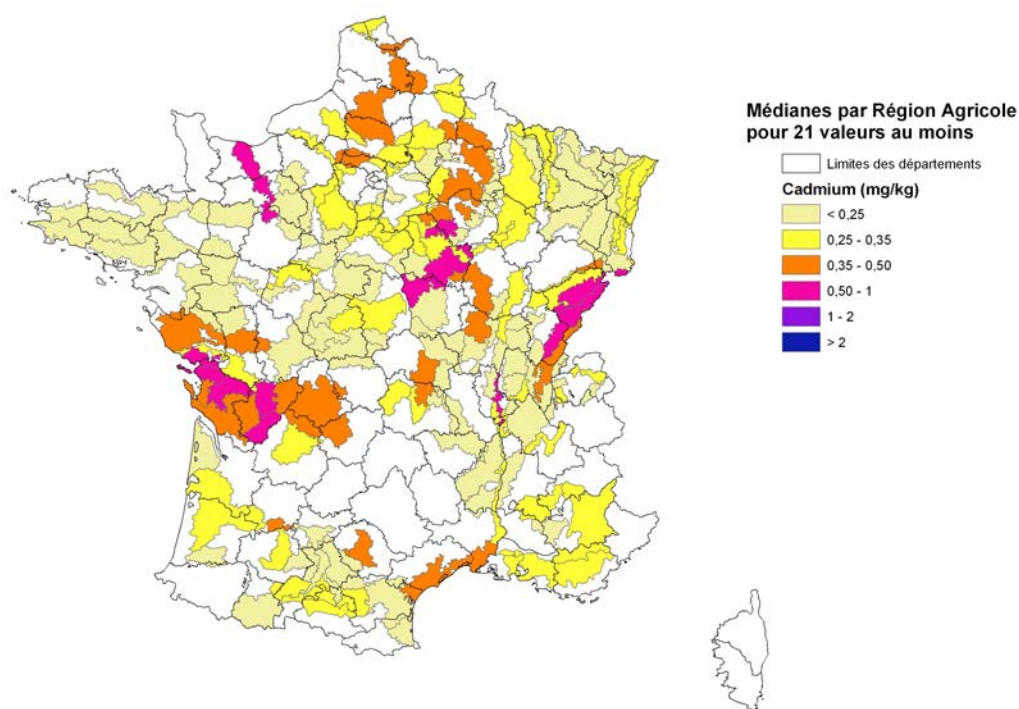


FIGURE 1.1 – Teneurs médianes en cadmium total des horizons de surface (0-30 cm) de sols agricoles cultivés par région agricole française.

Source : ADEME

1.1.2.3 Chimie dans les sols

La plante prélève le Cd dans la solution du sol, essentiellement sous forme d'ion libre hydraté, Cd^{2+} . Diverses réactions en solution et avec la phase solide du sol contrôlent la concentration de cette espèce. Dans la solution du sol, le Cd est souvent en concentration inférieure à 50 nM. L'ion libre hydraté prédomine ; il est accompagné des complexes organiques et inorganiques (Helmke 1999). L'ion Cd^{2+} peut en effet s'associer avec des substances humiques de nature mal connue (Schneider 2008), ainsi qu'avec des molécules bien définies comme le citrate, l'oxalate ou le malate (Schneider et Nguyen 2011). En sol salin, Cd^{2+} peut former des complexes solubles avec les chlorures i.e. CdCl^+ , CdCl_2 , CdCl_3^- et CdCl_4^- . En présence de sulfate, il y a formation de CdSO_4 et en sol alcalin, de CdHCO_3^+ (Alloway 1995 ; Helmke 1999). Dans la plupart des sols, la concentration de Cd en solution est beaucoup plus faible que celle dans la phase solide. Les réactions de sorption plus que de précipitation contrôlent la concentration du métal en solution. Le Cd complexé avec les composés organiques représente la fraction réactive du métal la plus abondante en phase solide. Viennent ensuite la fraction liée aux carbonates et la fraction échangeable. L'adsorption du Cd sur la phase solide est généralement réversible (Helmke 1999). Il existe également une fraction du Cd associée aux oxydes de fer et de manganèse susceptible de contrôler le Cd dissout, notamment en cas de variation du potentiel redox. L'adsorption et la complexation du Cd sont des processus compétitifs, qui dépendent de

la teneur en ligands et en cations, en particuliers en protons. Le pH a un effet important sur l'adsorption de Cd : divers travaux ont montré que la sorption du Cd augmente considérablement avec l'accroissement du pH du sol (Christensen 1984 ; Sauvé *et al.* 2000). La compétition avec d'autres cations métalliques, en particulier Ca^{2+} , inhibe l'adsorption du Cd (Alloway 1995 ; Christensen 1984). La sorption du Cd augmente également avec la teneur en matière organique du sol (Sauvé *et al.* 2000). En outre, le métal en faible concentration peut être sujet à une sorption en surface de la calcite, Cd^{2+} y remplaçant Ca^{2+} . Cela pourrait conduire, par diffusion du métal dans la calcite, à la formation d'une solution solide d'otavite-calcite (Martin-Garin *et al.* 2003). Appliquée à une série d'horizons de surface diversement contaminés, la dilution isotopique a montré dans un cas qu'en moyenne 61 % (9 % à 92 %) du Cd était isotopiquement échangeable, c'est-à-dire susceptible de passer en solution (contre seulement 33 % du Zn) (Degryse *et al.* 2004). Dans une autre étude, il a été montré que 46 % du Cd de sols cultivés était isotopiquement échangeable (Sterckeman 2009). Ses propriétés physico-chimiques font que le cadmium est plus mobile, et donc plus disponible pour les plantes, que beaucoup d'autres ETM. De façon générale, l'absorption du Cd par les plantes augmente avec la teneur de l'élément dans le sol et l'acidité, et diminue quand les capacités de sorption du sol sont plus fortes, notamment quand les teneurs en matière organique augmentent.

1.2 Le transfert du Cd à la plante

1.2.1 Schéma général

Différents articles de synthèse permettent de proposer le schéma général suivant de transfert du Cd du sol aux différents organes et tissus de la plante (Clemens 2001 ; Clemens *et al.* 2002 ; Cobbett 2000 ; Krämer *et al.* 2007 ; Lux *et al.* 2011 ; Uraguchi *et al.* 2009a ; Verbruggen *et al.* 2009 ; Welch et Norvell 1999). Les membranes des cellules des racines, présentent un potentiel électro-négatif, attribué à une ATP-ase excréant les protons. Ce potentiel a pour conséquence la diffusion des cations de la solution du sol vers la surface de la racine, à laquelle peut s'ajouter un transport par advection. Ceci désigne le mouvement de l'ion dissout, vers la racine, à la même vitesse que celle de l'eau prélevée par la plante du fait de sa transpiration et éventuellement de l'absorption active de l'eau. L'ion Cd^{2+} présent dans la solution du sol diffuse ensuite dans l'apoplasme racinaire jusqu'à la première barrière apoplasmique, c'est à dire l'exoderme ou l'endoderme selon l'espèce et/ou la localisation le long de la racine. En outre, tout ion présent dans les parois des cellules racinaires peut traverser la membrane cytoplasmique (plasmalemmes) par le biais de systèmes de transport d'ions que nous détaillerons par la suite. Une fois dans le cytosol l'ion se lie à une molécule organique complexante. Ceci conduit à réduire la concentration de l'ion libre en solution, et donc à diminuer la toxicité du métal. Une partie du Cd va diffuser vers le xylème, empruntant les plasmodesmes pour passer d'une cellule à l'autre

jusqu'aux cellules du parenchyme entourant les faisceaux de xylème. Le Cd peut ensuite passer dans le xylème par le biais d'un système de transport spécifique, contre le gradient électrochimique qui jusque là a favorisé l'entrée de l'ion dans le cytoplasme. Dans les cellules racinaires, une autre partie du Cd, variable selon l'espèce considérée, passe la membrane des différents organites cellulaires, comme les chloroplastes, l'appareil de Golgi, les mitochondries et la vacuole *via* un système de transport. Dans le milieu vacuolaire, le Cd est le plus souvent sous la forme d'un complexe avec une molécule organique. On voit donc qu'une fois le Cd prélevé dans le symplasme racinaire, son passage vers les parties aériennes est gouverné par trois processus : la séquestration du métal dans les cellules racinaires, le transport par le symplasme jusque dans la stèle et enfin le déversement dans le xylème. Une fois dans le xylème, Cd^{2+} réagit éventuellement avec des molécules organiques présentes pour former des complexes. Ceux-ci, comme les ions libres, sont transportés vers les parties aériennes de la plante avec le flux de sève brute (advection) provoqué par la transpiration. Au cours de ce transport, les ions réagissent avec les parois du xylème et s'y adsorbent en partie. Ils diffusent également dans ces parois et de proche en proche, dans celles des cellules de la tige ou des feuilles. Les ions Cd^{2+} franchissent à nouveau les membranes cytoplasmiques par l'intermédiaire de transporteurs. Une fois dans le cytosol, ils diffusent de cellule en cellule selon un gradient électrochimique et également sous l'effet d'un flux advectif. Une partie d'entre eux franchissent le tonoplaste et se complexent dans la vacuole avec des molécules organiques. Même si cela est moins documenté, on ne peut exclure qu'une partie du Cd^{2+} soit redistribué dans la plante en suivant un chemin globalement inverse à celui précédemment décrit, qui emprunterait les vaisseaux du phloème pour retourner jusque dans les racines, où l'ion pourrait être excrété. Certains travaux suggèrent également que le phloème serait impliqué dans le transport du Cd dès le début de son prélèvement. Les ions vont finalement se répartir dans les organes aériens de la plante en proportions variables selon les tissus (vaisseaux conducteurs, parenchyme, épiderme) et selon la zone cellulaire (paroi, cytosol et vacuole), sous des spéciations différents selon la localisation et l'espèce végétale considérée.

1.2.2 Les espèces absorbées

La plupart de travaux suggèrent actuellement que l'espèce de Cd principalement absorbée est le Cd^{2+} , c'est-à-dire l'ion dit libre (Welch et Norvell 1999). La contribution des formes complexées en solution doit cependant être envisagée, et cela de deux façons.

D'une part, il a été montré que des complexes organo-métalliques du Cd peuvent se dissocier au voisinage de la racine, à mesure que celle-ci prélève l'ion libre (Degryse *et al.* 2006 ; Panfili *et al.* 2009 ; Wang *et al.* 2009). Le compartiment des complexes de Cd contribue donc dans ce cas à tamponner celui de l'ion libre absorbable. Ceci a été montré expérimentalement dans le cas de complexes du Cd avec des chélatants de synthèse du type EDTA mais est en théorie

valable pour tout complexe présent dans la solution du sol, qu'il soit organique, avec des acides organiques, fulviques et humiques par exemple, ou minéral, comme les complexes de Cd avec les chlorures. Dans le cas d'une dissociation du complexe, son effet sur le flux de prélèvement est variable. En hydroponie (c'est-à-dire sans l'effet tampon du sol), la complexation de Cd^{2+} réduit nettement le flux d'absorption racinaire (Custos *et al.* 2012 ; Wang *et al.* 2009 ; Wenger *et al.* 2003). Par contre, en sol l'effet peut être positif, car l'ajout de complexant augmente la concentration du métal en solution par désorption ; le Cd solubilisé sous forme de complexe tamponne le compartiment de Cd^{2+} et peut conduire ainsi à un flux d'absorption plus important qu'en absence de complexant (Custos *et al.* 2012).

L'autre contribution des formes complexées du Cd au prélèvement du polluant est l'absorption directe du complexe. Celle-ci semble cependant effectivement variable. Pour Panfili *et al.* (2009), le blé dur ne peut absorber les complexes Cd-citrate, contrairement à ce que suggèrent Berkelaar et Hale (2003a,b). Par contre, différents travaux ont montré la présence de complexes de Cd, Pb ou Zn avec l'EDTA, qui suggèrent l'absorption directe de celui-ci (Collins *et al.* 2002 ; Sarret *et al.* 2001 ; Schaider *et al.* 2006). Custos *et al.* (2012) ont montré l'absorption du complexe Cd-EDTA par le maïs en hydroponie mais pas en terre et expliquent cette différence par l'absence d'une partie des barrières apoplasmiques dans le cas du maïs cultivé en hydroponie (Redjala *et al.* 2011). Ces résultats suggèrent que l'absorption du complexe se ferait de façon passive, c'est-à-dire par advection en suivant la voie apoplasmique (Custos *et al.* 2012 ; Nowack *et al.* 2006). Elle pourrait donc être variable selon l'espèce végétale et les conditions de culture qui influent toutes deux sur la perméabilité des racines. Celle-ci dépend notamment du développement de la subérisation au niveau de l'exoderme et de l'endoderme mais aussi de l'existence de fuites dans les barrières apoplasmiques. Ces dernières existent à l'apex et dans la zone d'émergence des racines latérales. Certains travaux ont montré l'effet positif de la présence de chlorures dans le sol ou en hydroponie sur le prélèvement de Cd (McLaughlin *et al.* 1997 ; Smolders et McLaughlin 1996 ; Wegler *et al.* 2004). Celui-ci serait dû à la désorption du métal de la phase solide du sol, à une diffusion facilitée des complexes (CdCl_n^{2-n}) par rapport à l'ion libre au voisinage de la racine ou dans l'apoplasme, mais éventuellement aussi à une absorption des complexes. Il n'est en effet pas exclu qu'un cation tel que CdCl^+ puisse franchir la membrane plasmique par les canaux ioniques de cations monovalents comme K^+ . En outre, la forme neutre CdCl_2^0 pourrait traverser de façon passive le plasmalemma lipophile (Welch et Norvell 1999). Des résultats analogues, mais moins intenses qu'avec Cl^- , ont été trouvés dans le cas de SO_4^{2-} : la concentration en Cd augmente avec la présence croissante de l'anion dans le sol, qui n'empêche pas, voire augmente légèrement le prélèvement de Cd (McLaughlin *et al.* 1998a,b). Ceci a été expliqué par la capacité des complexes CdSO_4^0 électriquement neutres de diffuser au travers de la membrane plasmique.

1.2.3 Influence de la plante sur la disponibilité du Cd

En théorie, la racine, du fait de ses diverses excretions, peut influencer la concentration et la spéciation du Cd dans la rhizosphère et en conséquence le prélèvement de celui-ci. En effet, selon le bilan de charges résultant de l'absorption des ions nutritifs par la racine, celle-ci va compenser l'éventuel déficit en excréant des protons (H^+) ou des hydroxydes (OH^-) (Hinsinger *et al.* 2003). Dans le premier cas se produit une acidification de la rhizosphère favorable au passage en solution du Cd^{2+} par désorption et dans l'autre au contraire, une alcalinisation qui entraîne la sorption du métal (Sauvé *et al.* 2000). Une acidification de la rhizosphère devrait donc augmenter le prélèvement de Cd par la racine, au contraire d'une alcalinisation. Cependant, ceci n'a pu être mis clairement en évidence dans le cas du Cd. Seul Wu (1989) a montré que la fertilisation azotée du ray-grass sous forme de NH_4^+ augmentait le prélèvement de Cd par la plante, en comparaison à une fertilisation sous forme de nitrate. Il a attribué ce fait à l'accroissement de l'acidité du sol suite au rejet de protons plus important dans le cas d'un prélèvement d'ammonium.

Des études sur d'autres éléments en traces invitent à plus de prudence sur la prédiction de l'effet du pH rhizosphérique sur le prélèvement de Cd. Ainsi, Chaignon *et al.* (2002) ont montré une alcalinisation de la rhizosphère de tomate et de colza en sol acide et une acidification en sol basique. En même temps, c'est avec l'alcalinisation de la rhizosphère que le Cu s'est révélé le plus prélevé par les plantes. L'explication hypothétique en est une augmentation des capacités de sorption de l'apoplasme racinaire à pH basique. Monsant *et al.* (2010, 2008) ont, quant à eux observé une augmentation du prélèvement de Zn par l'hyperaccumulateur *Noccaea caerulea* avec l'apport de NO_3^- alcalinisant le sol plutôt que de NH_4^+ acidifiant. Cet effet est également attribué à une plus forte adsorption du Zn sur l'apoplasme racinaire quand le pH augmente, à une absorption de Zn^{2+} pour contrebalancer celle de NO_3^- , à une synthèse accrue de ligands organiques favorisant la translocation de Zn et enfin à un effet bénéfique direct (mais obscur) du NO_3^- sur le passage transmembranaire du Zn.

L'excrétion de ligands organiques pourrait être également à l'origine de modifications de la disponibilité du Cd dans la rhizosphère. L'augmentation de celle-ci n'a cependant pas été clairement mise en évidence pour cet élément, mais divers résultats permettent de la supposer. Par dilution isotopique, Sterckeman *et al.* (2005) ont constaté une augmentation de la disponibilité de Cd dans la rhizosphère en sol basique mais pas en sol légèrement acide. Il n'est pas possible de faire la part, dans ces résultats, de ce qui pourrait résulter d'une modification de pH ou de l'action de ligands organiques exsudés par les racines ou par la microflore. Cette augmentation de la disponibilité varie sensiblement selon l'espèce : maximale pour le ray-grass, elle est nulle pour l'hyperaccumulateur *Noccaea caerulea*, ce qui confirme les résultats trouvés par Hutchinson *et al.* (2000) et Gérard *et al.* (2000) pour cette dernière espèce. Zhao *et al.* (2001) ont d'ailleurs montré que les exsudats racinaires de *Noccaea caerulea* n'augmentent pas la

désorption de Cd et de Zn. Par ailleurs, il a été montré que l'oxalate excrété par les racines de tomates diminuait la toxicité du Cd, probablement du fait de la complexation du métal à l'extérieur de la racine (Zhu *et al.* 2011). Des travaux sur le riz et le maïs incitent à penser que les phytosidérophores, complexants du fer exsudés par les racines de graminées en sol carencé en Fe ou Zn peuvent favoriser la disponibilité et le prélèvement de Zn (Arnold *et al.* 2010 ; Ptashnyk *et al.* 2011 ; von Wirén *et al.* 1996 ; Zhang *et al.* 1989). L'augmentation de la disponibilité du Cd et du Zn constatée par Sterckeman *et al.* (2005), maximale dans le cas du raygrass en sol basique, pourrait donc résulter d'une dissolution de ces métaux par les phytosidérophores. Les travaux de Shenker *et al.* (2001) suggèrent que si les phytosidérophores sont capables d'augmenter la désorption du Cd de la phase solide du sol, ils ne provoquent pas d'augmentation du prélèvement du métal par le blé et l'orge. On retrouve donc ici un phénomène décrit plus haut, à savoir que si le complexant présent dans la rhizosphère peut augmenter la teneur du Cd en solution, celui-ci se trouve majoritairement sous la forme d'un complexe qui ne dispose pas toujours d'une voie de pénétration dans la racine, c'est à dire sans transporteur membranaire adapté, ou de brèche dans les barrières apoplasmiques.

1.2.4 Les transporteurs membranaires du Cd

1.2.4.1 Absorption racinaire

À l'exception de son implication dans une enzyme d'une espèce de diatomée marine (Lane *et al.* 2005), aucune fonction biologique du Cd n'est connue. Il est donc peu probable que des transporteurs ayant une spécificité pour un métal non essentiel aient été sélectionnés au cours de l'évolution. Lors du prélèvement racinaire, le Cd emprunte donc des transporteurs membranaires ayant une spécificité vis-à-vis de leur substrat relativement faible (Clemens 2001). Il s'agit de transporteurs des familles ZIP (Zinc regulated transporter (ZRT), Iron regulated transporter (IRT) protein) et Nramp (natural resistance-associated macrophage protein). L'implication de transporteurs IRT1, ZNT1 et AtNramp3 dans le prélèvement du Cd²⁺ a été démontrée (Cohen *et al.* 1998 ; Korshunova *et al.* 1999 ; Pedas *et al.* 2008 ; Pence *et al.* 2000 ; Thomine *et al.* 2000). Il semble également que le transporteur LCT1 facilite également le prélèvement de Cd²⁺ (Clemens *et al.* 1998) (Figure 1.2). Bien que non spécifiques du Cd, les transporteurs impliqués montrent une forte affinité pour le métal, ainsi qu'en témoignent les valeurs de K_m obtenues lors de diverses études de cinétiques d'absorption, de l'ordre de 0,2 à 1 μmol (Cataldo *et al.* 1983 ; Costa et Morel 1994 ; Hart *et al.* 1998 ; Redjala *et al.* 2010a). Les cinétiques d'absorption présentent une allure biphasique, résultant de la combinaison d'une cinétique de type Michaelis-Menten et d'une cinétique linéaire (Figure 1.3). Cette dernière était souvent attribuée à de l'adsorption du Cd²⁺ sur l'apoplasme et donc à une désorption incomplète avant le dosage du Cd dans la racine (Hart *et al.* 1998 ; Lombi *et al.* 2001). Mais cette explication consi-

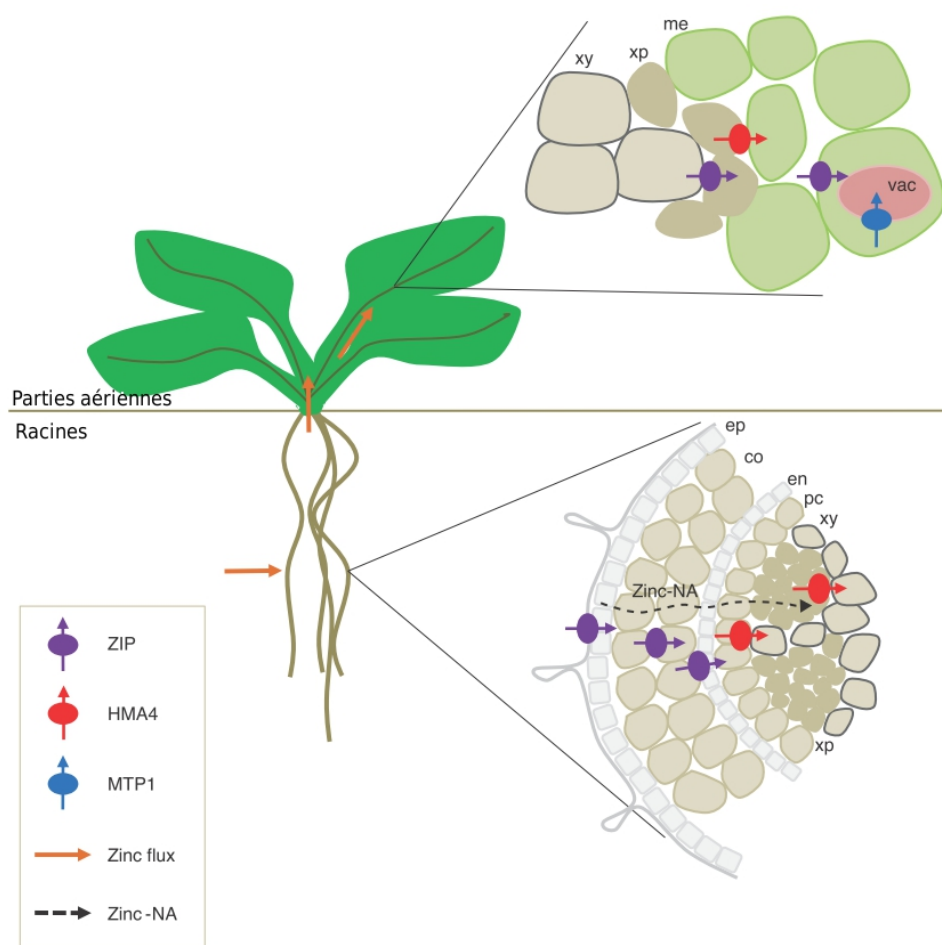


FIGURE 1.2 – Mécanismes impliqués dans l’hyperaccumulation et l’hypertolérance du métal, notamment chez *Arabidopsis halleri* et *Nocca caerulea*.

Figure tirée de Hanikenne et Nouet (2011)

dérée comme incertaine (Welch et Norvell 1999) a été invalidée récemment par Redjala *et al.* (2009, 2010b) à l’aide de mesures du Cd dans le symplasme et l’apoplasme. La composante linéaire correspond bien à de l’entrée de Cd dans le symplasme qui se ferait par l’intermédiaire de systèmes de transport à faible affinité, comme des canaux ioniques pour le Ca^{2+} (du type HACC) ou le Mg^{2+} (Welch et Norvell 1999 ; White et Broadley 2003). Cette composante linéaire ne contribue significativement au prélèvement qu’aux fortes concentrations de Cd^{2+} dans la solution, impossibles en sol agricole et rares en sol contaminé. La composante michaélienne présente des valeurs de V_{max} allant de 12 à 188 $\text{nmol g}^{-2} \text{MF h}^{-2}$ (Lux *et al.* 2011). Les valeurs les plus fortes ont été trouvées pour des populations de *Nocca caerulea* hyperaccumulant le Cd. Lombi *et al.* (2001) ont mesuré K_m et V_{max} des populations Prayon (non accumulatrices de Cd) et Ganges (accumulatrices de Cd) de l’hyperaccumulateur. Ils ont trouvé des valeurs de K_m identiques mais le V_{max} de la population Ganges ($160 \text{ nmol g}^{-2} \text{MF h}^{-2}$) nettement supérieure à celui de la population Prayon ($33 \text{ nmol g}^{-2} \text{MF h}^{-2}$). Des différences de V_{max} analogues

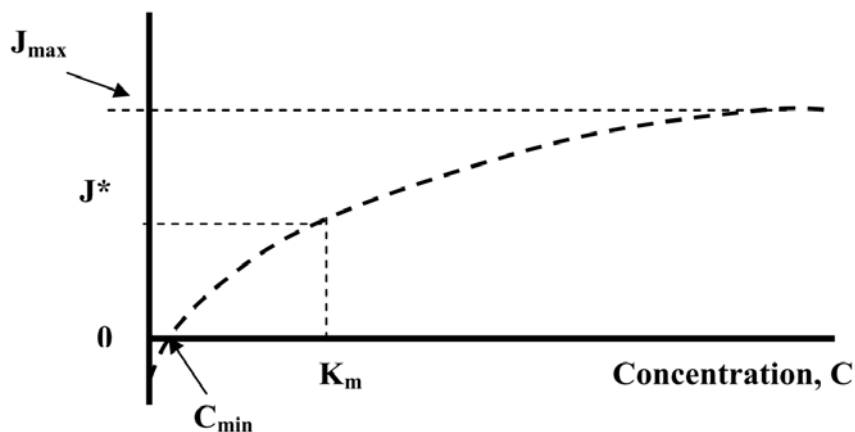


FIGURE 1.3 – Représentation de la cinétique de type Michaelis-Menten.

ont également été trouvées dans la comparaison de populations calaminaire (Viviez) et de serpentine (Vosges) de la même espèce (Redjala *et al.* 2009). La valeur de V_{max} étant considérée comme proportionnelle à la densité de transporteurs membranaires, la différence d'aptitude de prélèvement du Cd par les populations Prayon et Ganges serait due à une différence d'expression d'un même gène du transporteur ayant une forte affinité pour le Cd. Ce transporteur serait également capable de faciliter l'absorption du Zn quand celui-ci est en plus forte concentration que le Cd (Verbruggen *et al.* 2009). Les résultats de Plaza *et al.* (2007) suggèrent que, bien que TcIRT1-G puisse être impliqué dans l'hyperaccumulation du Cd par la population Ganges, le transporteur exprimé dans la levure n'a pas une capacité accrue pour le transport de Cd par rapport à AtIRT1. Par conséquent, la capacité de la population Ganges pourrait être due à des niveaux d'expression de la protéine ou d'autres facteurs tels que des interactions entre protéines.

1.2.4.2 Efflux racinaire

L'existence d'un efflux racinaire du Cd a été suggérée d'assez longue date, notamment par Costa et Morel (1993) à partir de cinétiques d'absorption par le lupin blanc (*Lupinus albus*). Cette hypothèse a été renforcée ensuite par des travaux montrant qu'une partie, certes faible, du Cd radioactif déposé sur les feuilles de laitue, radis et haricot était retrouvée dans la terre rhizosphérique (Fismes *et al.* 2005). Plus récemment, la protéine GFP-AtPDR8, exprimée dans toutes les cellules d'*A. thaliana*, mais plus intensément dans les poils et l'épiderme racinaires, a été désignée comme un transporteur responsable de l'efflux de Cd. Celui-ci appartient à la vaste famille " ATP binding cassettes " (ABC), connue pour transporter une large variété de substances, notamment des ions, des hydrates de carbones, des lipides, des xénobiotiques, médicaments et métaux toxiques (Kim *et al.* 2007).

1.2.4.3 Entrée et sortie de la vacuole

Dans la littérature, il est difficile de faire une distinction entre racine et parties aériennes en ce qui concerne la nature des transporteurs du Cd présents dans le tonoplaste. Le cadmium peut passer cette membrane au moyen d'un antiporteur H^+ /cation (Salt et Wagner 1993) du type CAX (comme Cation eXchanger). CAX4 et CAX2 semblent avoir une forte sélectivité pour Cd^{2+} , le premier étant plus exprimé dans les racines et capable également de transporter du Ca^{2+} (Korenkov *et al.* 2007). Ces transporteurs, en favorisant la séquestration du métal dans les racines, réduiraient sa translocation vers les parties aériennes (Korenkov *et al.* 2009). AtHMA3, localisé dans le tonoplaste des cellules de garde, des hydathodes, des tissus vasculaires et des apex des racines, participe également au stockage du Cd dans les vacuoles, et donc à la tolérance du métal (Morel *et al.* 2009). C'est d'ailleurs par une mutation entraînant une perte de fonctionnalité du transporteur OcHMA3 dans les racines qu'est expliquée la plus grande accumulation de Cd dans les parties aériennes de la variété de riz Jarjan (Ueno *et al.* 2011a). D'autres résultats montrent que TcHMA3, localisé dans le tonoplaste, serait responsable de la séquestration du Cd dans les vacuoles des cellules foliaires de *N. caerulescens* et que son expression plus importante expliquerait l'hyperaccumulation de Cd par certaines populations (e.g. Ganges) de cette espèce (Ueno *et al.* 2011b). Un transporteur de la famille des ABC, le transporteur AtMRP3 est également responsable du stockage de Cd dans la vacuole, mais cette fois sous forme de complexe avec une phytochélatine ou du glutathion (Clemens 2006 ; Cobbett 2000 ; Tommasini *et al.* 1998). Une fonction similaire a été mise en évidence pour le transporteur AtMRP7 (Wojas *et al.* 2009), qui se révèle ici encore, en même temps qu'une voie pour la séquestration vacuolaire, un facteur pour la répartition du Cd entre racines et parties aériennes. L'efflux de Cd de la vacuole pourrait être contrôlé par un transporteur de la famille des NRAMP, connus pour transporter des métaux comme le Fe, le Mn ou le Cd dans divers organismes. Des travaux récents suggèrent sans le démontrer que AtNRAMP3 pourrait être impliqué dans l'extrusion du Cd de la vacuole (Thomine *et al.* 2003). À ces résultats semblent s'opposer ceux d'Oomen *et al.* (2009) qui considèrent que les TcNRAMP3 et TcNRAMP4 joueraient un rôle indirect sur la tolérance de *N. caerulescens* au Cd, en régulant l'homéostasie d'autres métaux essentiels (Fe, Mn).

1.2.4.4 Déversement dans le xylème

Au début des années 2000, on savait que le déversement des éléments en traces dans le xylème, et donc la translocation vers les parties aériennes était étroitement contrôlé mais aucun transporteur déversant des ions dans le xylème n'avait été identifié (Clemens *et al.* 2002). Depuis, plusieurs types de transporteurs ont été identifiés. Les plus étudiés sont les P1B-type ATPases, également désignés par HMAs (heavy metal transporting ATPases). Il s'agit d'enzymes capables de transporter des ions de métaux de transition contre leur gradient électrochimique en utilisant l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. Elles comprendraient deux groupes : celui des transporteurs de cations monovalents (Ag, Cu) et celui des transporteurs de cations divalents (Zn, Co, Cd, Pb). HMA4, localisé sur la membrane plasmique, notamment des cellules racinaires, s'est révélé avoir un rôle dans la tolérance, la translocation et l'(hyper)accumulation de Zn et Cd. Ce gène a été étudié dans *A. thaliana*, *A. halleri*, *A. lyrata* et *N. caerulescens* (Verbruggen *et al.* 2009). Il est considéré comme le principal responsable du déversement du Zn et du Cd dans le xylème de l'hyperaccumulateur *N. caerulescens*, favorisant leur transfert dans les parties aériennes où ils sont détoxifiés, les deux processus - translocation et détoxification dans les parties aériennes accrues - étant à l'origine de l'hypertolérance et hyperaccumulation (Guimarães *et al.* 2009 ; Milner et Kochian 2008). En outre, le transporteur HMA2 contribue également à la translocation du Cd, ainsi que cela a été mis en évidence chez *A. thaliana* (Wong et Cobbett 2009). Plus récemment, il a été proposé que la protéine OsHMA2 soit impliquée dans le déversement du Cd dans le xylème du riz (Nocito *et al.* 2011). D'autres transporteurs, FRD3 de la famille MATE et YSL de la famille OPT seraient susceptibles de déverser les métaux dans les tissus vasculaires, mais ils ne semblent pas impliqués dans le transport du Cd (Gendre *et al.* 2007 ; Verbruggen *et al.* 2009), peut-être parce que ce métal n'a pas toujours été testé (Araki *et al.* 2011).

1.2.5 Rôle de l'apoplasme

1.2.5.1 Transport par l'apoplasme

L'apoplasme racinaire est une voie pour le Cd²⁺ et pour ses complexes d'atteindre le xylème, dans les parties de la racine où les barrières apoplasmiques (bande de Caspary, lamelle de subérine, épaissement secondaire) de l'exoderme et/ou de l'endoderme sont absentes ou incomplètes. C'est une hypothèse théorique qui découle de la structure des racines mais qui n'a pas été directement prouvée pour le Cd, pas plus d'ailleurs que pour des cations majeurs comme le Ca²⁺ ; les indices de ce processus sont indirects (White 2001). Une des zones de passage apoplasmique vers le xylème serait l'apex racinaire, où les barrières apoplasmiques ne sont pas encore formées. Cette hypothèse est soutenue par des travaux ayant montré un influx de Cd plus important le long des quelques millimètres à l'extrémité de la racine de *N. caerulescens*

(Pineros *et al.* 1998) ou de blé dur (Berkelaar et Hale 2000). Par ailleurs, Redjala *et al.* (2011) ont montré que les racines de jeunes plants de maïs ayant poussé en hydroponie présentent un exoderme et un endoderme incomplètement formés sur 30 % de leur longueur à partir de l'apex, alors que celles ayant poussé en aéroponie ou en sol voient leur barrières complètement formées quasiment jusqu'à l'apex. Il se trouve que le prélèvement de Cd par le maïs en hydroponie est nettement plus important que celui en aéroponie, ce qui pourrait s'expliquer par une différence de prélèvement apoplasmique. Les autres zones de faiblesse des barrières apoplasmiques seraient celle de l'endoderme au stade I, qui ne serait pas complètement imperméable aux cations et les zones où l'endoderme est perforé par l'émergence des racines latérales (White 2001). Les contributions relatives des voies symplasmique et apoplasmique au déversement du Cd dans le xylème sont inconnues. Les travaux de Redjala *et al.* (2009, 2010a) ont montré qu'en ce qui concerne le prélèvement par la racine, l'adsorption apoplasmique était très minoritaire par rapport à l'absorption symplasmique pour les concentrations d'exposition rencontrées dans les sols. Par contre, il est probable que le prélèvement apoplasmique augmente de façon linéaire avec la concentration de Cd en solution, ainsi que le suggèrent les travaux sur le prélèvement des complexes de Cd-EDTA (Custos *et al.* 2012). Nous avons d'ailleurs montré ci-dessus que l'hypothèse d'absorption apoplasmique des complexes de Cd avec des ligands comme le citrate ou l'EDTA est plausible. Il est difficile d'avoir une vision claire du transport apoplasmique de Cd dans les parties aériennes. On sait que le métal est retrouvé dans les parois cellulaires des feuilles (voir ci-après) et il est plausible qu'il migre dans les feuilles vers l'épiderme par advection dans le réseau des parois cellulaires parcourues par le flux de transpiration.

1.2.5.2 Stockage et détoxification dans l'apoplasme

Des travaux sur l'avoine ont montré que la variété la plus résistante au Cd était également celle qui stockait le plus de métal dans les parois cellulaires des parties aériennes (Uraguchi *et al.* 2009b). Cette localisation est donc considérée, avec la séquestration vacuolaire, comme un moyen de détoxification du Cd (Nocito *et al.* 2011). C'est ce que suggèrent également les travaux de Sterckeman *et al.* (2011) qui montrent que la fraction apoplasmique du Cd racinaire, chez le maïs et le tabouret calaminaire (nom vernaculaire pour *N. caerulea*) augmente après une exposition à de fortes concentrations de Cd. Cosio *et al.* (2005) ont montré que 33 à 35 % du Cd des parties aériennes de *N. caerulea* se trouvait dans les parois cellulaires. Dans le cas du saule (*Salix* spp) fortement exposé au Cd au point de montrer d'importantes nécroses, le métal a notamment été localisé dans la couche de pectine des parois cellulaires du collenchyme proche des nervures foliaires (Vollenweider *et al.* 2006).

1.2.6 Complexation du Cd dans le cytoplasme

Dans les cellules végétales, le Cd est potentiellement complexé par le glutathion, les phytochélatines, les métallothionéines, l'histidine et divers acides carboxyliques (Clemens 2006 ; Verbruggen *et al.* 2009). Ce processus est considéré comme un moyen de détoxification, même si les connaissances sur les ligands impliqués sont encore incomplètes. Les complexants sont susceptibles de varier selon l'espèce végétale, son stade et la localisation dans celle-ci (Clemens 2006 ; Verbruggen *et al.* 2009).

Le glutathion (GSH) est un peptide (Glu-Cys-Gly) qui peut complexer divers métaux. Il est également le précurseur de la synthèse enzymatique des phytochélatines (PC), dont la formule générale est (Glu-Cys) n Gly, où $n = 2-11$. Dans de nombreuses espèces végétales, la synthèse de phytochélatines est induite par une exposition au Cd (Clemens 2006 ; Cobbett 2000 ; Ernst *et al.* 2008 ; Persson *et al.* 2006 ; Salt *et al.* 1995b ; Schat *et al.* 2002). Dans les feuilles et les pétioles de l'hyperaccumulateur, comme dans les racines de la moutarde brune, du Cd s'est révélé lié à du S qui pourrait être celui des molécules de phytochélatine (Kupper *et al.* 2004 ; Salt *et al.* 1995b). Des mutants d'*Arabidopsis thaliana*, déficients dans la synthèse des phytochélatines, montrent une plus faible tolérance au Cd que les plantes de type sauvage, alors que les mutants ayant une synthèse des phytochélatines renforcée peuvent faire preuve de tolérance plus élevée de Cd que les plantes sauvages (Clemens 2006 ; Cobbett 2000). Les phytochélatines seraient également à l'origine d'une plus grande tolérance de certaines variétés d'orge au Cd (Persson *et al.* 2006). Le modèle suivant de complexation du Cd dans les cellules racinaires peut être proposé (Clemens 2006 ; Cobbett 2000) : une fois dans le cytosol, le Cd²⁺ est complexé par du glutathion pour former des complexes bisglutathionato-Cd (GS₂-Cd(II)) mais également d'autres complexes avec des molécules inconnues. GS₂-Cd(II) interagit avec la phytochélatinesynthase, une enzyme constitutivement exprimée, ce qui déclenche la synthèse de phytochélatine et la formation de complexes de PC-Cd(II). Ceux-ci passent ensuite dans la vacuole *via* un transporteur de type ABC (cf. section 1.2.4.3 p. 17). A l'intérieur de la vacuole, des complexes de haut poids moléculaire, inconnus, transitoires et contenant des sulfures (HMW-Cd) sont formés. Ceux-ci peuvent être dissociés, le Cd²⁺ retournant dans le cytosol par le biais d'un transporteur de type AtNRAMP3 (cf. section 1.2.4.3 p. 17) et formant à nouveau des complexes GS₂-Cd(II) et PC-Cd(II). Les premiers seraient dissociés pour permettre le déversement de Cd²⁺ dans le xylème *via* HMA4. PC-Cd(II) pourrait être déversé directement dans le xylème grâce un transporteur encore inconnu. Un schéma proche est proposé pour assurer la tolérance du Cd par la plante et donc par les parties aériennes où la vacuole demeure la destination finale pour les substances toxiques auxquelles les plantes sont exposées (Clemens 2006). Dans les cellules des feuilles par exemple, le Cd²⁺ formerait du GS₂-Cd(II) puis du PC-Cd(II) qui serait déversé dans la vacuole *via* un transporteur (voir ci-dessus) et dissocié à la faveur de la formation de (HMW-Cd). Cependant, s'il s'avère que les PC sont responsables de la détoxification du

Cd chez les espèces végétales non adaptées à l'exposition à ce métal (espèces sensibles non accumulatrices), ces chélatants ne sont pas impliqués dans l'hypertolérance et hyperaccumulation de Cd (Ernst *et al.* 2008 ; Schat *et al.* 2002 ; Sun *et al.* 2007 ; Verbruggen *et al.* 2009). En conditions non contrôlées, leur niveau reste en effet faible dans les tissus des plantes hypertolérantes aux métaux installées sur des sols enrichis en ces éléments (Ernst *et al.* 2008). Ceci suggère l'existence d'autres mécanismes de détoxification du Cd permettant l'adaptation de certaines espèces à des expositions très élevées. L'exposition au Cd est responsable d'une augmentation du métabolisme du soufre et du glutathion de *N. caerulescens* (Van De Mortel *et al.* 2008) alors que chez *Sedum alfredii*, l'hypertolérance et l'hyperaccumulation de Cd semblent plus liées à la présence de GSH que de PC (Sun *et al.* 2007).

Les métallothionéines (MT) sont des protéines ubiquistes, riches en cystéines, qui présentent la capacité de se lier aux métaux au niveau des groupements thiols de la cystéine. Leur rôle de détoxification du Cd mis en évidence dans les cellules de mammifères, a pu être reproduit dans des microorganismes (levures et bactéries), notamment par transplantation de gènes de synthèse de MT d'*A. thaliana* (Clemens 2001). Cependant, leur implication dans l'homéostasie du Cd n'a pas été clairement montrée directement sur la plante. Un mutant *mt1a-2 mt2b-1* de *A. thaliana* (ne produisant pas de MT) n'apparaît pas plus sensible au Cd. Toutefois, lorsque la déficience en MT est combinée à celle en phytochélatines, le triple mutant *mt1a-2 mt2b-1 cad1-3* devient plus sensible au Cd que le mutant *cad1-3* (Guo *et al.* 2008). Les MT semblent également impliquées dans la tolérance du Cd par le blé et le riz, en combinaison avec un autre gène, celui codant pour le Heat shock transcription factor A4a (HsfA4a) (Shim *et al.* 2009). Enfin, les MT ne semblent pas être impliquées dans l'hyperaccumulation ou de l'hypertolérance du Cd (Verbruggen *et al.* 2009). L'histidine est un acide aminé capable de complexer les métaux dont le Cd, présent en fortes concentrations dans les racines des hyperaccumulateurs et impliqué dans l'hyperaccumulation de Ni. Son implication dans l'homéostasie du Cd n'a cependant pas été observée (Verbruggen *et al.* 2009). Les acides organiques, tels que le malate, le citrate ou l'oxalate présentent une capacité à se lier aux métaux et des concentrations notables dans les végétaux. Cependant, leur rôle dans la tolérance ou le transport de Cd n'a pas été clairement établi.

1.2.7 Spéciation dans le xylème

D'après le pH et la composition de la sève brute, le Cd pourrait se trouver dans le xylème sous forme libre ou de divers complexes présentant des groupements sulfhydryles, ou à base de N ou de O ; de ce fait, Cd pourrait être lié à des acides carboxyliques, des acides aminés et des molécules contenant de la cystéine comme le GSH ou les PC (Welch et Norvell 1999). Les données expérimentales sur la spéciation du métal dans la sève brute sont peu nombreuses et généralement indirectes. L'acide citrique favorise la translocation du Cd dans la tomate, ce qui

pourrait être dû à son association avec le métal dans le xylème (Senden *et al.* 1995). D'après Ueno *et al.* (2008), le Cd serait essentiellement sous forme d'ion libre dans la sève de l'hyperaccumulateur de Zn *A. halleri*. Cependant, dans la tige de *N. caerulescens*, du Cd a été trouvé en association avec du S, suggérant sa complexation par des ligands tels que les phytochélatines (Kupper *et al.* 2004). Cataldo *et al.* (1988) ont trouvé le Cd en association avec la fraction des acides aminés et de peptides dans la sève brute du soja.

1.2.8 Translocation et distribution dans la plante

Une fois déversé dans le xylème racinaire, le Cd migre vers les parties aériennes avec le flux de sève brute, résultant de la transpiration, voire également de l'absorption active d'eau. Il devrait donc arriver assez rapidement dans les parties aériennes. Il a cependant été observé dans le cas du riz que la montée du Cd était beaucoup plus lente que le flux de sève brute et qu'après 36 h d'observation directe par émission de positron du ^{107}Cd , le métal n'avait toujours pas rejoint les limbes foliaires alors qu'il avait déjà atteint les panicules après 7 h d'exposition. Ceci suggère un transport du métal découplé du flux de sève brute. En outre, le Cd s'est singulièrement accumulé dans les nœuds et a été redistribué vers les racines non initialement exposées, indiquant un rôle important (voire prépondérant) du phloème dans le transport et la répartition du Cd dans la plante (Fujimaki *et al.* 2010). D'autres travaux suggèrent que l'accumulation dans les parties aériennes semble la résultante d'influx et d'efflux au niveau cellulaire et vacuolaire, mais également d'advection liée à la transpiration (Chardonens *et al.* 1998 ; Ebbs *et al.* 2009 ; Leitenmaier et Küpper 2011 ; Salt *et al.* 1995b). Les travaux de Ebbs *et al.* (2009) sur *N. caerulescens* montrent un K_m mais aussi étonnement un V_{max} plus élevés pour les protoplastes foliaires de la population peu accumulatrice de Cd (Prayon) par rapport à celle qui hyperaccumule le Cd (Ganges). Sur cette dernière population, Leitenmaier et Küpper (2011) ont montré, à l'aide de mesures d'influx dans divers types de protoplastes foliaires, que la séquestration dans la vacuole est l'étape limitant le prélèvement cellulaire. Ces auteurs ont également remarqué la formation de vésicules cytoplasmiques riches en Cd dans le cytoplasme et montré que l'influx dans certaines cellules dites de stockage de l'épiderme était plus élevé que dans les autres protoplastes de l'épiderme et du mésophylle. Ceci indique que le stockage du Cd dans les tissus épidermiques est dû au transport actif du Cd plus qu'à la transpiration, contrairement à ce qui a été suggéré chez la moutarde brune (Salt *et al.* 1995b). Ce stockage épidermique est même qualifié de moteur de l'hyperaccumulation de Cd par *N. caerulescens* (Leitenmaier et Küpper 2011).

1.2.9 Toxicité du Cd dans la plante

Chez les plantes, le Cd perturbe l'homéostasie des éléments métalliques essentiels en les déplaçant des protéines de liaison métalliques et des facteurs de transcription (Clemens 2006). Même si les bases de la toxicité du Cd ne sont toujours pas entièrement connues, elle semble résulter de sa forte affinité pour les groupements sulfhydryles. La liaison du Cd à des groupements sulfhydryles des protéines et enzymes amène à un mauvais fonctionnement, une inhibition et/ou à des interférences dans l'activité de régulation enzymatique redox (Hall 2002). Une fois le Cd à l'intérieur des cellules, il va inhiber le métabolisme sulfuré, la photosynthèse et la synthèse de chlorophylle. En mimant Ca^{2+} , le Cd entre dans les cellules de garde des stomates et active l'ouverture des canaux anioniques de la membrane plasmique ainsi que les canaux K^+ . Comme des ions plus nombreux quittent la cellule, l'eau va suivre ce mouvement, engendrant une perte de turgescence et une fermeture des stomates. Le Cd provoque également, dans les racines, une inhibition des enzymes impliquées dans l'assimilation de l'azote : les activités nitrate et nitrite réductase sont inhibées. De plus, le Cd interfère avec l'activité des enzymes glutamine synthase (GS) et glutamate synthase (GOGAT), impliquées dans l'assimilation de l'ammonium (DalCorso *et al.* 2008). Tout cela va affecter la croissance racinaire et la production de biomasse par inhibition de la photosynthèse, de la respiration et du prélèvement d'éléments nutritifs ainsi qu'en perturbant le statut hydrique de la plante (Perfus-Barbeoch *et al.* 2002).

Les symptômes les plus évidents de la toxicité du Cd sont l'enroulement des feuilles et leur chlorose ainsi que la fermeture des stomates (Clemens 2006). A l'échelle cellulaire, le Cd va provoquer des dommages à l'appareil photosynthétique, en particulier au niveau des antennes collectrices et des deux photosystèmes, en engendrant une diminution du taux de chlorophylle et de caroténoïde (DalCorso *et al.* 2008). En provoquant une diminution de l'efficacité photosynthétique, cela va abaisser le rendement quantique. De plus, en inhibant les enzymes impliquées dans la fixation du CO_2 , le Cd diminue l'assimilation du carbone (Perfus-Barbeoch *et al.* 2002).

1.3 Tolérance des plantes au Cd et aux éléments traces

1.3.1 Les stratégies de tolérance

Toutes les plantes prélèvent des éléments traces à des degrés divers et variés, à partir du substrat sur lequel elles se développent. Les concentrations dans les différentes parties des plantes dépendent à la fois de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnementaux). Elles varient également fortement entre les différentes espèces et les éléments considérés (Baker *et al.* 2000).

Les plantes supérieures ont deux stratégies de résistance lorsqu'elles sont exposées à de grandes concentrations en éléments en traces :

- l'exclusion, qui consiste à restreindre le prélèvement et/ou le transport des racines aux parties aériennes des métaux, par des mécanismes que nous avons vu plus haut (cf. 1.2.4.3 page 17). Les concentrations en éléments traces dans les parties aériennes sont maintenues constantes et faibles pour une grande gamme de concentration d'exposition, jusqu'à une valeur critique, au-delà de laquelle le mécanisme s'effondre et un transport sans restriction en résulte (Baker 1981). Ces plantes excluantes vont présenter un facteur de bioconcentration du métal inférieur à 1, c'est à dire qu'elles auront une concentration totale en ET plus faible que celle du sol. Il est à souligner que cette stratégie a été adoptée chez les céréales.
- l'accumulation, où les métaux sont accumulés et détoxifiés dans les parties aériennes, que la concentration dans le sol soit élevée ou non (Baker 1981). Ces plantes vont présenter un facteur de bioconcentration supérieur à 1, c'est-à-dire que leur concentration totale en métal sera plus grande que celle du sol : ce sont les plantes accumulatrices. Si le facteur de concentration est très supérieur à 1, elles seront dites hyperaccumulatrices.

D'autres plantes, au contraire, vont avoir un comportement neutre, ce sont les plantes indicatrices. Le prélèvement et le transport des éléments traces aux parties aériennes sont régulés d'une telle façon que les concentrations internes reflètent les concentrations dans le sol. C'est-à-dire qu'il existe pour ces plantes, une relation linéaire entre concentration dans le sol et dans la plante. Elles vont donc présenter un facteur de bioconcentration proche de 1.

1.3.2 Les plantes hyperaccumulatrices

1.3.2.1 Définition

La tolérance aux éléments traces confère à certaines espèces végétales une capacité à vivre et à se reproduire sur des sols considérés comme toxiques pour la plupart des autres plantes, en raison de la présence d'un ou plusieurs métaux en concentration importante. Les plantes dites hyperaccumulatrices sont capables d'accumuler les éléments traces dans des quantités très importantes sans symptôme de toxicité (Tableau 1.1).

Environ 400 espèces de plantes, appartenant à 45 familles, sont considérées comme hyperaccumulatrices (Baker *et al.* 1999). Parmi ces espèces, nombreuses (87) sont celles faisant partie de la famille des Brassicacées, et 28 appartiennent au genre *Noccaea* (Palmer *et al.* 2001). Ces espèces hyperaccumulatrices sont quasi-exclusivement réparties géographiquement sur des sites spécifiques, caractérisés par une teneur particulièrement élevée en éléments traces. Leur présence est donc un bon indicateur de la composition du sol sur lequel elles se développent. Les hyperaccumulateurs de Ni sont par exemple des plantes généralement endémiques de sols issus de l'altération de roches mères ultramafiques à forte teneur en Ni (serpentinite, latérite nickélifère, etc.).

TABLEAU 1.1 – Seuils d’hyperaccumulation et nombre de taxons représentés par élément trace. Les parenthèses indiquent qu’une contamination par les particules du sol peuvent avoir entraîné une surévaluation.

Tableau tiré de Krämer (2010)

Élément trace	Seuil de concentration (% dans MS _{PA})	Nombre de taxons	Nombre de familles représentées
Antimoine	≥ 0.1	2	2
Cadmium	≥ 0.01	5	2
Cobalt	≥ 0.1	(26)	(11)
Cuivre	≥ 0.1	(35)	(15)
Manganèse	≥ 1.0	10	6
Nickel	≥ 0.1	390	42
Plomb	≥ 0.1	(14)	(7)
Thallium	≥ 0.1	1	1
Zinc	≥ 1.0	15	6

1.3.2.2 Intérêts pratiques : phytoextraction et phytomine

Ces plantes ont donc été longtemps utilisées dans le but de découvrir de nouveaux sites d’exploitation minière (Brooks 1983). Ce n’est qu’à la fin du 20^e siècle, face à la multiplication de sites pollués en éléments métalliques (friches industrielles, anciennes exploitations minières), que les préoccupations environnementales ont conduit à s’interroger sur la possibilité d’utiliser ces plantes pour la décontamination des sols. Leurs traits d’accumulation permettent en effet d’envisager l’élimination des polluants grâce à la capacité des plantes à les prélever par leurs racines et à les concentrer dans des organes que l’on peut récolter et traiter ; c’est la phytoextraction. Le phytomining ou phytomine est une variante de la phytoextraction dont le but est d’extraire de sols géochimiquement enrichis des substances de valeur, généralement des métaux tels que le nickel ou l’or (Baker et Brooks 1989 ; Baker *et al.* 1994 ; Brooks *et al.* 1998 ; Chaney 1983 ; Salt *et al.* 1995a ; Sheoran *et al.* 2009).

La phytoextraction est généralement vue comme un moyen de dépollution assez efficace et peu onéreux comparé aux autres méthodes de décontamination (p. ex. lavages acides, confinement du sol, tri granulométrique) même si elle reste plus lente que ces dernières. Elle est de plus beaucoup plus respectueuse du fonctionnement du sol que les méthodes physico-chimiques. La phytoextraction consiste en des cultures successives sur les zones polluées ou naturellement enrichies en éléments traces. La matière végétale est ensuite récoltée puis incinérée, voire co-incinérée avec d’autres déchets ; elle peut également faire l’objet d’un traitement pyrométallurgique ou hydrométallurgique qui vise à récupérer les éléments d’intérêt économique concentrés dans les parties récoltées (Barbaroux *et al.* 2012 ; Keller *et al.* 2005).

1.4 Conclusions et objectifs de la thèse

Alors que les connaissances sur les interactions moléculaires de l'homéostasie des métaux, on vient de le voir, sont solides et continuent de progresser, on est encore incapable de prédire la concentration du Cd dans un organe végétal (racine, tige, feuilles, fruits, etc) à un stade donné du développement de la plante. Ce genre de prévision est essentiel pour l'évaluation des risques liés à la culture sur sols contaminés par ce métal ou pour la gestion de la phytoremédiation, en particulier de la phytoextraction. Elle peut être effectuée au moyen d'une approche générique, par exemple par couplage d'un modèle décrivant l'offre du sol, le transport du métal réactif de trace dans le voisinage de la surface de la racine (Sterckeman *et al.* 2004), à un modèle de simulation de la demande de la plante, à savoir la cinétique de l'accumulation du métal dans les différents organes végétaux, au cours du cycle de culture. Cependant, un tel modèle n'existe pas dans le cas de traces de métaux en général, et du Cd en particulier (Sterckeman 2008). Afin de modéliser l'accumulation de Cd, il est nécessaire de connaître la cinétique d'accumulation dans les organes des plantes, indépendamment du contrôle du sol, c'est-à-dire lorsque les racines sont exposées à des concentrations connues et constantes de Cd. Cette information n'est pas disponible dans la littérature, bien que de nombreuses données concernant la teneur en Cd dans la plante ou partie de celle-ci aient été publiées. En effet, les mesures de la cinétique de phytoaccumulation du Cd sont très rares (Perronnet *et al.* 2003). Pour la plupart, les plantes étudiées ont été cultivées dans des sols contaminés (voir par exemple (Cieslinski *et al.* 1996 ; Dechamps *et al.* 2005 ; Dunbar *et al.* 2003 ; Koopmans *et al.* 2008 ; Perronnet *et al.* 2003) ou en culture hydroponique avec un contrôle absent ou insuffisant de la solution nutritive (Greger et Lofstedt 2004 ; Jarvis *et al.* 1976 ; Lombi *et al.* 2000 ; Zhao *et al.* 2006). Par conséquent, il n'est pas possible de distinguer, au sein de la cinétique de distribution du métal dans la plante, l'évolution de l'offre du sol (ou de la solution nutritive) de celle de l'homéostasie de la plante. En outre, les études cinétiques sont généralement menées sur une période de temps plus court que le cycle de croissance complet (Liu *et al.* 2007 ; Lu *et al.* 2008 ; Zhao *et al.* 2006) ou au moyen d'un marquage radioactif réduit dans le temps (par exemple Dauthieu *et al.* (2009) ; Page *et al.* (2006)).

En conséquence, le but du présent travail est de mieux comprendre et de quantifier la dynamique de répartition du Cd dans les différents organes de la plante - donc à l'échelle de la plante entière - au cours d'un cycle de végétation complet. Il est également de formaliser mathématiquement cette dynamique de façon à pouvoir développer ultérieurement un module «Répartition dans la plante» qui pourrait être intégré dans un modèle de culture tel que STICS (Brisson *et al.* 1998).

Cette thèse repose essentiellement sur l'hypothèse selon laquelle, lorsqu'il est exposé à une concentration constante, la concentration de cadmium dans un organe donné de l'hyperaccumulateur *N. caerulea* est constante dans le temps. Cette hypothèse a été suggérée par les

résultats de Perronnet *et al.* (2003) et de Schmitt-Sirguey (2004) qui ont montré que la concentration de Cd dans les feuilles de différentes populations de tabouret calaminaire cultivées sur un sol très contaminé en Cd est restée constante au cours de la croissance (4 semaines à 3 mois, en fonction de l'expérience). Cette hypothèse implique une autre, qui est que la quantité de Cd prélevé dans un organe est proportionnelle à la matière sèche alloué à cet organe, lorsque la concentration d'exposition ne varie pas avec le temps. Elle implique également que le rapport, désigné comme le facteur de bioconcentration, entre la concentration dans l'organe végétal $[Cd]_x$ et celle de la solution d'exposition de la racine, $[Cd]_s$, est constante. Cela peut se résumer comme suit :

$$BCF_x = \frac{[Cd]_x(t)}{[Cd]_s} = C \quad (1.1)$$

$$Q_{Cd_x}(t) = BCF_x \cdot [Cd]_s \cdot MS_x(t) \quad (1.2)$$

et que donc il existe une relation linéaire entre la quantité de métal absorbé Q_{Cd_x} et le produit entre biomasse MS_x et concentration d'exposition $[Cd]_s$.

Pour tester ces hypothèses, deux types de cultures expérimentales ont été conduites : les premières en conditions climatiques et d'exposition au Cd contrôlées (Chapitre 3), les secondes en conditions climatiques extérieures, sur un sol contaminé (Chapitre 4). Les deux ont été menés de front dès le départ, étant donné la durée nécessaire du cycle cultural. Nous avons utilisé *N. caeruleus* comme modèle expérimental car la principale application de nos travaux est la phytoextraction, et que cette petite plante est facile à cultiver et à analyser. Par ailleurs, diverses études montrent que les gènes impliqués dans l'hyperaccumulation ne sont pas spécifiques de ce type de végétaux, mais plutôt différemment exprimés et régulés par rapport à ceux des plantes non-hyperaccumulatrices. Les mêmes mécanismes sont donc impliqués dans l'homéostasie des métaux traces toxiques chez les plantes non-hyperaccumulatrices telles que *A. thaliana*, *Thlaspi arvense* ou *Oryza sativa* (Ueno *et al.* 2011a). Dans ce cas, l'expression des gènes est telle que l'absorption racinaire et le chargement du xylème sont diminués tandis que le stockage dans les vacuoles racinaires est accru. Ce travail pourrait donc fournir des informations utilisables pour comprendre et modéliser la dynamique du Cd dans d'autres espèces végétales, notamment celles les plus couramment cultivées.

Matériels et méthodes

Résumé

*Ce chapitre présente les dispositifs expérimentaux et les techniques utilisées pour caractériser plantes et sols. Il regroupe donc les matériels et méthodes des expériences dont les résultats sont présentés dans les chapitres suivants. Deux types de cultures de *Noccaea caerulea* ont été menées, visant à suivre le développement et la croissance de la plante ainsi que l'accumulation du Cd dans ses tissus. Les premières cultures ont été réalisées en conditions contrôlées (chambre de culture) et en aéroponie de façon à contrôler l'exposition des racines par le Cd. Les secondes ont été conduites en sol et en conditions climatiques naturelles, dans le but, cette fois, de prendre en compte l'incidence du sol sur le fonctionnement de la plante et de valider les observations faites en conditions contrôlées.*

2.1 Matériel végétal et conditions de culture

2.1.1 Plante étudiée

Noccaea caerulescens (J. & C. Presl) F.K.Mey., tabouret bleuâtre ou tabouret calaminaire, appartient à la famille des brassicacées (Figure 2.1). Hémicryptophyte, certaines de ses populations sont reconnues comme hyperaccumulatrices de zinc, nickel et cadmium ou de Pb (Escarré *et al.* 2011). On peut les trouver sur des sols calaminaires ou serpentiniques. La population utilisée ici, originaire de Viviez dans l'Aveyron, hyperaccumule le Cd et le Zn. Cette population, historiquement étudiée au sein du laboratoire, fait partie des populations les plus prometteuses pour la phytoextraction du Cd. Les graines utilisées proviennent de la pépinière du laboratoire.



FIGURE 2.1 – *Noccaea caerulescens* cultivée en bacs extérieurs (a) et en aéroponie (b)

2.1.2 Dispositifs de culture

2.1.2.1 Cultures en conditions contrôlées

Les graines sont mises à germer sur une couche d'agar-agar à 0,65 % dans des boîtes de Pétri. Les boîtes sont scellées et placées à l'obscurité à 22°C. Au bout de 10 jours, les plantules dont la longueur est supérieure à 3 cm, sont transférées, à la semi-obscurité, dans une barquette contenant du coton imbibé et surmonté de papier filtre. Après 24 h à 48 h, les plantules sont finalement transférées sur la plaque de culture aéroponique.

Dispositif aéroponique¹

Chaque dispositif de culture est composé d'un bac en polyéthylène de grandes dimensions (113x78x66 cm Lxlxh), surmonté d'une plaque de culture en PVC (121x80 cm). Cette plaque est percée d'un trou tous les 10 cm pour pouvoir accueillir les plantes (Figure 2.2). Ce sont au total 77 plantes qui peuvent être cultivées sur le même bac. Dans chaque bac, deux systèmes de pulvérisation (Defensor 505, Walter Meier, Pfäffikon, Suisse) sont partiellement immergés dans 18 L de solution. Après un mois de culture, le volume de solution est augmenté à 36 L, avec adjonction d'un autre bac (56x39x33 cm Lxlxh) et d'une pompe pour aquarium afin de faire circuler la solution entre les deux. La solution nutritive est composée de : 3500 Ca(NO₃)₂, 1200 KNO₃, 75 K₂HPO₄, 1500 MgSO₄, 10 H₃BO₃, 10 MnCl₂, 5 ZnSO₄, 5 Fe(III)EDTA, 2 Na-EDTA, 0.2 CuSO₄, 0,2 Na₂MoO₄ μM. Le pH de la solution est ajusté après chaque renouvellement de solution nutritive et maintenu à 5,7 à l'aide de 2 mM de tampon MES. Le Cd a été ajouté sous forme de Cd(NO₃)₂ dans la solution nutritive.

La concentration en Cd a été maintenue constante tout au long de la culture par prélèvements quotidiens de la solution nutritive et dosages réguliers (d'hebdomadaires à quotidiens) et ajouts de Cd par une solution concentrée lorsque cela était nécessaire (concentration inférieure de 10 % à la concentration visée). Le renouvellement complet de la solution nutritive était hebdomadaire.

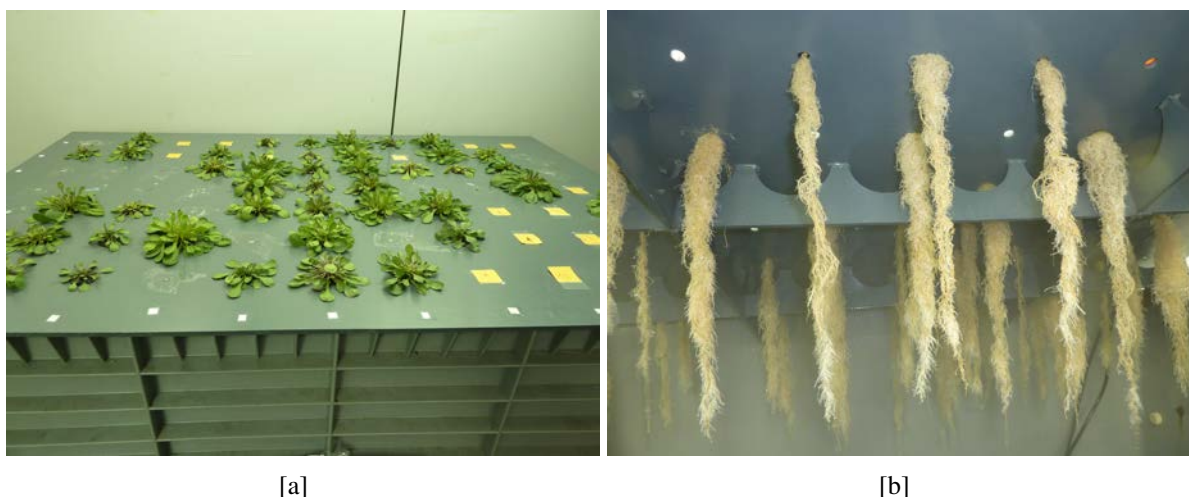


FIGURE 2.2 – *Noccaea caerulea* à 88 jours lors des cultures en aéroponie. Vue des parties aériennes (a) et détail des systèmes racinaires (b).

1. L'aéroponie est un système de culture où les racines sont plongées dans un brouillard de solution nutritive (contrairement à l'hydroponie où elles sont immergées dans la solution). Ce dispositif permet une meilleure oxygénation des racines, des structures racinaires (barrières apoplasmiques) plus proches de ce que l'on trouve lors de cultures en sol. Ce système permet également l'utilisation d'un volume plus réduit de solution nutritive à manipuler.

Conditions de culture

Les plantes ont été cultivées en chambres de culture, dont les conditions étaient les suivantes :

- des températures de 20°C le jour et de 16°C la nuit ;
- une photopériode de 16 h ;
- une hygrométrie constante à 75 % ;
- et une intensité lumineuse de jour de 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Les cultures A et C ont subi une vernalisation, afin d'induire la floraison, après 49 jours de culture. Les conditions ont alors été changées pour celles ci-dessous :

- une température de 3°C, constante entre le jour et la nuit ;
- une photopériode de 9 h ;
- une hygrométrie constante à 75 % ;
- et une intensité lumineuse de jour de 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Cette réduction de la température et de la photopériode, qui a duré 37 jours, a été faite progressivement. Les conditions de vernalisation ont été suivies par un retour progressif aux conditions initiales de culture durant 79 jours. Les transitions de températures (diminutions et augmentations) se sont faites sur deux jours.

La spéciation du Cd^{2+} a été calculée à l'aide du logiciel JChess (v2.0, École des mines, Paris, France).

2.1.2.2 Cultures en conditions extérieures

Des bacs de culture ont été installés à la Station Expérimentale du Site de Brabois (SESB) afin d'étudier la croissance et l'accumulation de différents éléments traces métalliques chez *Noccaea caerulea* en conditions extérieures (Figure 2.3).

Dispositif et préparation des bacs

Quatorze bacs en polyéthylène ont été préparés, pour atteindre une surface cultivable totale d'environ 6 m² (0,42 m² par bac). Chaque bac (75x56x40 cm Lxlxh) a été rempli en excès avec de la terre provenant de Chenevières, un sol sur alluvions sablo-limoneuses de la Meurthe, légèrement acide et assez pauvre en matière organique (Tableau 2.1).

Une fois la terre naturellement tassée, celle-ci est arasée, puis une couche de 5 cm d'épaisseur est enlevée sur chaque bac. La totalité de la terre récoltée est mise à sécher puis homogénéisée. La terre restant dans les bacs est nivelée, pour être parfaitement plane et horizontale. La terre séchée est séparée en 14 lots de 30 kg chacun. Chaque lot est mélangé à une solution contaminée en Cd, Ni, Zn (apportés sous la forme $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ et ZnSO_4), grâce à une bétonneuse. Chaque lot de terre est ensuite stocké pour quatre semaines à température ambiante afin de favoriser l'homogénéisation de la contamination de la terre, par diffusion des ions. Les



FIGURE 2.3 – Bacs de la station expérimentale de Brabois le 4 avril 2010.

niveaux de contaminations ont été calculés de façon à se trouver en deçà de la teneur maximale autorisée pour l'épandage des boues pour l'ensemble du volume de terre. A l'issue de la période de mise à l'équilibre, chaque lot de terre est uniformément réparti à la surface de chaque bac de culture. Seule la couche en surface a été contaminée, de façon à se placer dans les mêmes conditions que lors de la phytoextraction d'un sol contaminé par les engrais phosphatés ou par apports atmosphériques.

Un travail très superficiel de la terre a ensuite été réalisé, afin de casser la croûte de battance, préparer le lit de semis et égaliser la surface du bac. Le semis, réalisé à la volée, a été effectué de manière à atteindre une densité 200 plants au m^2 . Lors de la 2^e et 3^e année de culture, aucun semis n'a été effectué. Le semis s'est fait naturellement, avec les graines mûres tombées au sol de la culture précédente. Seul un travail très superficiel a été réalisé afin de casser la croûte de battance qui s'était formée en surface. Une fois les plantules bien installées, un éclaircissement a été pratiqué afin d'atteindre toujours la même densité de 200 plants au m^2 .

Conditions de culture

Les bacs sont situés à l'extérieur et soumis aux intempéries locales. Les précipitations sont enregistrées localement grâce à un pluviographe. Les conditions météorologiques sont également recueillies grâce à la station d'enregistrement de l'INRA la plus proche, située à 15 km, à Champenoux, d'où sont issues les données de température.

TABLEAU 2.1 – Principales caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé pour la culture de *Noccaea caerulea*.

	Argile	100
	Limons fins	149
Granulométrie (g kg ⁻¹)	Limons grossiers	129
	Sables fins	178
	Sables grossiers	444
pH (H ₂ O)		6,2
CaCO ₃ (g kg ⁻¹)		< 1
Carbone (C) organique (g kg ⁻¹)		11,9
Azote (N) total (g kg ⁻¹)		1,08
Rapport C/N		11
P Olsen (g P ₂ O ₅ kg ⁻¹)		0,128
CEC effective (cmol+ kg ⁻¹)		5,19
	Ca	4,06
	Mg	0,555
	K	0,529
Cations échangeables (cmol+ kg ⁻¹)	Na	0,0321
	Fe	0,0052
	Mn	0,0447
	Al	0,0569
Cd total (mg kg ⁻¹)		0,164
Ni total (mg kg ⁻¹)		8,05
Zn total (mg kg ⁻¹)		37,3

Concentration des métaux dans les bacs

Le tableau 2.2 présente les profils de concentrations en Cd, Ni et Zn dans la terre utilisée pour les cultures extérieures. Les méthodes d'analyse utilisées pour les obtenir sont présentées au paragraphe 2.2.2.4 p. 39.

2.2 Méthodes

2.2.1 Cinétiques de croissance et de phytoaccumulation

Pour les expériences en conditions contrôlées, trois cultures ont été réalisées, appelées A, B et C. Des prélèvements réguliers ont été effectués (suivi cinétique).

La culture B, plus courte, a été réalisée en premier afin de tester le protocole. Six plantes ont récoltées toutes les semaines pendant 98 jours, selon un échantillonnage aléatoire stratifié.

TABLEAU 2.2 – Profils de concentrations en Cd, Ni et Zn totaux et Cd en solution dans les bacs extérieurs de la Station expérimentale. Les valeurs de métaux totaux sont les moyennes mesurées sur les bacs B10 à B14 à l'issue de la seconde culture de *Noccaea caerulea*.

Couche cm	Cd	Ni mg kg ⁻¹	Zn	Cd en solution mol L ⁻¹
0-5	7,41	161,0	773,5	2,54.10 ⁻⁸
5-10	1,60	100,2	489,7	
10-15	0,14	16,2	100,0	2,27.10 ⁻⁹
15-20	0,11	9,2	46,4	-
20-25	0,11	9,1	46,7	-
25-30	0,13	8,8	46,2	-
30-35	0,20	10,7	55,9	-
35-39	0,13	8,7	48,4	-

Pour les cultures A et C, six et cinq plantes ont été respectivement échantillonnées toutes les deux semaines avant et après la vernalisation, de même qu'un échantillonnage a été réalisé à l'entrée et un à la sortie de la période de vernalisation, toujours selon un plan d'échantillonnage aléatoire stratifié.

Le dernier échantillonnage a été effectué sur des plantes en fleurs, présentant le même stade de développement. En effet, toutes les plantes ont été récoltées lorsqu'environ 75 % de leur hampe florale principale présentait des siliques. Ce dernier échantillonnage a comporté 10 réplicats dans le cas de la culture A et 8 dans le cas de la culture C. Les plantes ont été coupées au niveau du collet, les racines et parties aériennes rincées à l'eau déminéralisée puis scannées grâce au système d'acquisition Winrhizo® (Regent Instruments Inc., Québec, Canada) afin d'obtenir les surfaces foliaires et paramètres du système racinaire.

Les parties aériennes des plantes au stade floraison (cultures A et C) ont été séparées en différentes parties (Figure 2.4) :

- les feuilles de la rosette, elles-mêmes séparées en feuilles chlorophylliennes et sénescents ;
- les inflorescences, comprenant les fleurs, siliques, bractées et hampes florales.

Ces inflorescences sont ensuite séparées selon leur stade d'avancement, en trois sous-groupes :

- un stade I qui correspond au stade de floraison naissant, avec boutons floraux non ouverts ;
- un stade II qui correspond au stade moyen, avec des fleurs ouvertes mais les siliques sont absentes de l'inflorescence ;
- un stade III qui correspond au stade le plus avancé, avec des siliques bien développées le long de l'inflorescence.

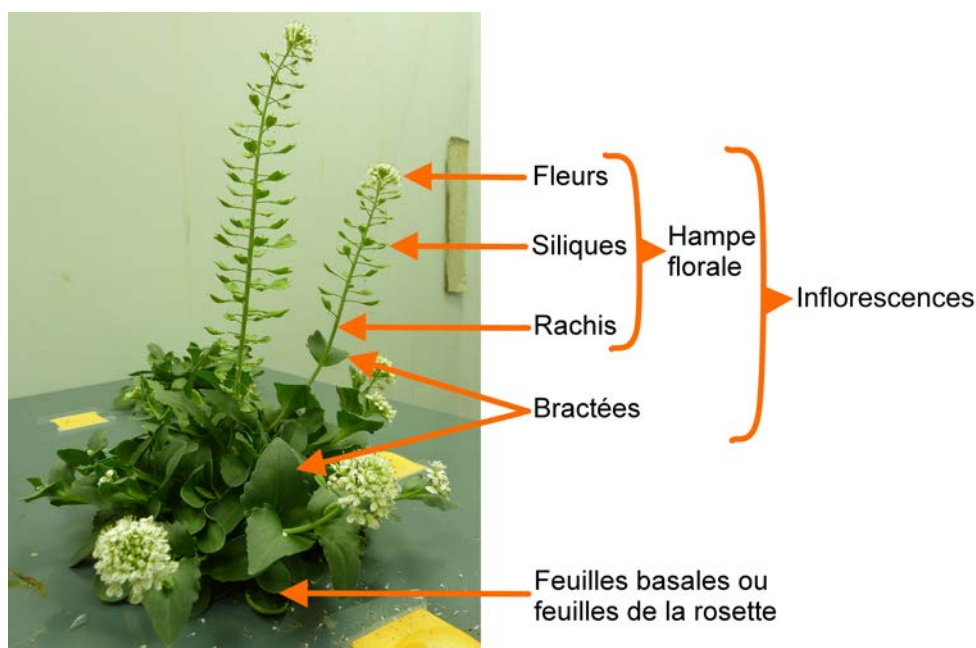


FIGURE 2.4 – Les différents organes aériens de *Noccaea caerulea* lors du stade en fleurs.

Chaque inflorescence est ensuite séparée en deux parties pour analyse, les bractées (I, II et III) et les hampes (I, II, III), ces dernières comprenant donc la hampe au sens strict mais aussi les pédoncules, les siliques et les fleurs terminales.

Pour les expériences en conditions extérieures, quatre à six échantillonnages des parties aériennes sont effectués au cours de la culture, en essayant si possible, d'avoir un échantillonnage avant et un au sortir de la vernalisation, les suivants correspondant aux différents stades de développement de *Noccaea caerulea*.

Chaque bac est virtuellement divisé en 12 carrés identiques à l'aide d'une grille utilisée lors de l'échantillonnage. Lors d'un échantillonnage, un carré différent pour chaque bac est récolté ; ce carré est choisi aléatoirement avant la première année de culture. Puis, pour chaque échantillonnage suivant, le tirage aléatoire (sans remise) est refait pour désigner le carré à récolter. Pour les trois cultures, les mêmes carrés aux mêmes intervalles sont échantillonnés. Les plantes des carrés échantillonnés sont séparées en différentes catégories, feuilles de la rosette, bractées, rachis, fleurs et siliques, sans tenir compte de l'avancement de la hampe florale. Lors des échantillonnages aux stades siliques, les siliques contiennent également les futures graines. Les graines ont également été échantillonnées lors de la déhiscence des siliques en fin de culture.

Lors de chaque échantillonnage, les plantes de sept bacs sont analysés. Chaque point d'analyse correspond donc à une moyenne de sept réplicats. Après échantillonnage, les différentes parties sont méticuleusement lavées à l'eau du robinet, afin d'enlever toute particule de terre, puis rincées à l'eau déminéralisée.

Pour les stades en fleurs des deux modes de culture, les feuilles (de la rosette et bractées) sont scannées grâce au système d'acquisition Winrhizo®.

Les biomasses fraîches et sèches des différentes parties sont ensuite déterminées avant et après passage à l'étuve à 72°C pendant 48 h.

Le temps a été exprimé en somme des températures (°Cj) en base 0. Cette température de base a été choisie suite à l'observation faite sur les bacs situés à l'extérieur selon laquelle *Noccaea caerulescens* continuait de pousser, bien que sous une couche de neige. De plus, un rapprochement peut être fait avec le colza, plante pour laquelle une base 0 est utilisée.

Cette échelle de temps permet, grâce à la quantité d'énergie reçue, de comparer les cultures entre elles (vernalisées ou non -lors des cultures en aéroponie- et les années de cultures -en extérieur-)

2.2.2 Analyses

2.2.2.1 Mise en solution des échantillons végétaux

Les échantillons sont broyés à l'aide d'un mortier en agate puis minéralisés. Une méthode de minéralisation adaptée aux échantillons de faible biomasse a été utilisée. 50 mg de matière sèche broyée est mise en contact avec 2 mL de HNO₃, qui réagit à froid pendant 4 h puis l'ensemble est placé à 80°C pendant 24 h. Une fois les tubes refroidis, 2 mL de H₂O₂ sont ajoutés puis laissés à température ambiante jusqu'à l'arrêt de la réaction. Les minéralisats sont ensuite filtrés sur papier filtre sans cendre et complétés à 10 mL à l'aide d'eau déminéralisée. Des témoins ont été réalisés à l'aide de matériaux de référence provenant de maïs et de *Noccaea caerulescens*, dont la composition est connue (analyses faites par l'USRAVE, Villenave d'Ornon, France ou analysés en interne).

2.2.2.2 Analyses chimiques des solutions nutritives

Des échantillons de solution nutritive issus des cultures aéroponiques (A, B et C) sont prélevés quotidiennement puis acidifiés. La teneur en Cd a été dosée régulièrement durant les cultures (d'une fois par semaine à une fois par jour, à mesure de la croissance des plantes) grâce à un spectromètre d'absorption atomique, SAA (SpectrAA Zeeman 220, Varian, Inc, Palo Alto, Californie, États-Unis). Les échantillons de solution ayant été dilués, seuls le fer et le manganèse ont pu être dosés à l'issue de la culture, toujours par spectrométrie d'émission. Pour toutes les analyses, que ce soit par ICP-AES ou SAA, la calibration de l'appareil a été vérifiée grâce à un échantillon certifié.

2.2.2.3 Analyses chimiques du matériel végétal

Les teneurs en Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn ont été déterminées par spectrométrie d'émission, ICP-AES (Liberty II, Varian, Inc Palo Alto, Californie, États-Unis). Dans le cas des cultures en extérieur, seuls le Cd, Ni et Zn ont été dosés.

2.2.2.4 Analyses chimiques des sols et solutions de sol

A l'issue de la 2^e année de culture, des échantillons de sol ont été récoltés sur toute la profondeur de différents bacs, par couches de 5 cm d'épaisseur au moyen d'une gouge. Les teneurs totales en Cd, Ni et Zn ont été mesurées par SAA et ICP-AES (selon le niveau de concentration) après mise en solution par HF et HClO₄ selon la norme NF ISO 14869-1.

Dans le but de calculer le pouvoir tampon en Cd, les teneurs en Cd échangeable et en solution ont été mesurées pour les couches de sol contaminé (0-5 cm et 5-10 cm) et non contaminé (10-15 cm et 15-20 cm). Les teneurs en Cd échangeable ont été mesurées après extraction au chlorure de cobaltihexammine (norme NF ISO 23470) des couches échantillonnées sur les bacs B10 à B14. La solution de sol a été prélevée grâce à des micro-bougies poreuses (Rhizon SMS, Eijkelkamp, Giesbeek, Pays-Bas) posées dans les couches 0-10 cm et 10-15 cm des bacs B6, B7, B8, B9 et B12. Le prélèvement a été réalisé l'hiver suivant la dernière culture (janvier 2012) de façon à bénéficier d'un taux élevé de saturation en eau du sol et d'un ralentissement du prélèvement par les plantes. Une bougie de 10 cm a été posée à 45° dans la couche 0-10 cm alors qu'une bougie de 5 cm a été posée verticalement dans la couche 10-15 cm, à des emplacements peu couverts par la végétation. La teneur en Cd dans la solution du sol de la couche 15-30 cm a été calculée d'après le rapport

$$\text{Pouvoir tampon} = \frac{\text{Concentration en Cd échangeable}}{\text{Concentration en Cd dans la solution du sol}} \quad (2.1)$$

avec la concentration en Cd échangeable considérée comme égale à la moitié de la teneur en Cd du fond géochimique et le pouvoir tampon de l'horizon 10-15 cm.

2.2.3 Modélisation du prélèvement racinaire

Nous avons cherché à comprendre le prélèvement de Cd en le simulant à l'aide du modèle initialement conceptualisé par Barber, Nye, Marriot et Cushman (Barber et Cushman 1981 ; Barber 1962 ; Nye et Marriott 1969) dans une version développée par Custos (2012) sur Matlab (Release 2007a). Dans le passé, ce formalisme a été validé pour le prélèvement d'éléments majeurs tels que N, P ou K (Barber et Cushman 1981 ; Claassen *et al.* 1986 ; Silberbush et Barber 1983) et testé pour des éléments en traces tels que Cd, Mn ou Zn (Adhikari et Rattan 2000 ; Janot 1990 ; Mullins *et al.* 1986 ; Sadana et Claassen 2000 ; Sterckeman *et al.* 2004).

Ce modèle, basé sur une approche mécaniste, place l'offre du sol au premier plan de la représentation du transfert sol-plante, la demande de la plante étant formalisée comme une condition limite du système sol-racine (rhizosphère) considéré. En effet, l'équation de base figure le mouvement du soluté depuis les agrégats de sol vers la surface racinaire (rhizoplan) comme résultant d'une advection avec le flux d'eau absorbée par les racines et d'une diffusion résultant du gradient de concentration lui-même provoqué par l'absorption active des ions par la racine. À partir de la première loi de Fick décrivant le flux de diffusion, on peut écrire

$$J_r = D * \frac{\partial C}{\partial r} + v C_l \quad (2.2)$$

où J_r est le flux de masse radial de soluté dans le sol vers la racine, r la distance radiale à l'axe de la racine, C la concentration totale de soluté diffusible dans le sol, D^* le coefficient apparent de diffusion du soluté dans le sol, v le flux convectif d'eau et C_l la concentration de soluté dans la solution de sol. Par ailleurs, l'application du principe de conservation de masse à un soluté dans un volume de référence infiniment petit de sol (Barber et Cushman 1981) aboutit à

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial(rJ_r)}{\partial r} + \alpha \quad (2.3)$$

où α est la masse de soluté produit dans le volume de référence.

En supposant que les conditions d'humidité sont stationnaires ($\nu r = \nu_0 r_0$) et que $\alpha = 0$, la combinaison des équations 2.2 et 2.3 conduit à

$$(\theta + b) \frac{\partial C_l}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r D * \frac{\partial C_l}{\partial r} + \nu_0 r_0 C_l \right) \quad (2.4)$$

où ν_0 est le flux de prélèvement d'eau par la racine, r_0 le rayon moyen de celle-ci et b le pouvoir tampon. Celui-ci est défini par

$$b = \frac{C_s}{C_l} \quad (2.5)$$

C_s étant la concentration en métal échangeable, sorbé sur la phase solide (mol m^{-3} de sol). b permet d'exprimer l'équation de transport 2.4 uniquement en fonction de la concentration de soluté dans la solution du sol.

Dans le modèle utilisé, l'advection étant négligeable par rapport à la diffusion (Custos 2012), seule cette dernière est prise en compte :

$$(\theta + b) \frac{\partial C_l}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r D * \frac{\partial C_l}{\partial r} \right) \quad (2.6)$$

La condition initiale s'écrit :

$$C_l = C_i \quad (2.7)$$

La condition limite interne (pour $r = r_0$ et $t > 0$) est que le flux de soluté égale l'influx racinaire décrit par l'équation de Michaelis-Menten

$$J_r = \frac{I_{max}C_l}{K_m + C_l} \quad (2.8)$$

dans laquelle I_{max} est l'influx racinaire maximal, K_m le coefficient d'affinité (correspondant à la concentration pour laquelle $I = \frac{I_{max}}{2}$);

Dans le cas où l'on considère que les racines ne sont pas en compétition pour le prélèvement du soluté (soluté peu mobile tel qu'un cation) la condition limite externe (pour $r = r_1$ et $t > 0$) est

$$C_l = C_i \quad (2.9)$$

pour laquelle C_i représente la concentration initiale de soluté en solution. Dans le cas où les gradients de concentration de racine adjacente sont susceptibles de se recouvrir, alors la condition limite externe devient

$$J_r = 0 \quad (2.10)$$

La solution numérique de l'équation 2.4 s'appuie notamment sur la méthode de Crank-Nicholson (Barber et Cushman 1981 ; Perriguet 2006). Elle donne la concentration de soluté en fonction de la distance à la racine et du temps. Quand la diffusion contribue à la fourniture de soluté vers la racine, la concentration de celui-ci décroît avec le temps à mesure que la racine absorbe. A son tour, cette réduction de la concentration au niveau du rhizoplan va réduire l'influx racinaire avec le temps. Le calcul du prélèvement est réalisé à partir de la concentration à r_0 exprimée en fonction du temps t , en intégrant la fonction d'influx racinaire au cours de la croissance des racines. Ainsi, le prélèvement initial du système racinaire est donné par :

$$P = 2\pi r_0 L_0 \int_0^{t_f} J_r(r_0, s) ds \quad (2.11)$$

où L_0 est la longueur initiale du système racinaire, t_f le temps total de prélèvement et $J_r(r_0, s)$ l'influx à la surface de la racine.

Le calcul du prélèvement pour un système racinaire croissant s'exprime par :

$$P = 2\pi r_0 L_0 \int_0^{t_f} J_r(r_0, t) dt + 2\pi r_0 \int_0^{t_f} \left(\frac{d\lambda}{dt} \int_0^{s=t_f-t} J_r(r_0, s) ds \right) dt \quad (2.12)$$

avec $\lambda(t)$ la fonction retenue pour la croissance de la longueur racinaire.

Ce modèle repose sur un nombre important d'hypothèses :

- le milieu est homogène et isotrope ;
- les conditions d'humidité du sol sont maintenues à l'état stationnaire, à proximité de la capacité au champ, de façon à éviter tout gradient important d'eau perpendiculairement à la racine ;
- le système racinaire est assimilé à un cylindre lisse avec un rayon constant et sans poil absorbant ;
- le prélèvement de soluté a lieu uniquement à la surface racinaire. Il n'y a donc pas production ou absorption de soluté par d'autres processus que l'absorption racinaire ;
- l'influx racinaire peut être décrit par une équation de Michaelis-Menten (équation 2.8) ;
- les paramètres de l'absorption racinaire ne changent pas au cours du temps de la culture ;
- le transport des éléments a lieu uniquement par diffusion en solution et advection, en direction radiale seulement. Ceci suppose notamment que les effets dispersifs sont considérés comme négligeables, de même que l'interception racinaire, les flux diffusifs et convectifs latéraux ;
- les propriétés de diffusion, de convection et les caractéristiques d'absorption racinaire sont toutes indépendantes les unes des autres ;
- D et b sont indépendants de la concentration. Comme cela n'est manifestement pas vrai pour certains solutés, des valeurs moyennées sur la gamme de concentration sont utilisées ;
- le flux de masse n'est pas influencé par la concentration du soluté ;
- l'activité racinaire ou microbienne ne modifie pas le flux de soluté.

2.2.4 Exploitation statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT (v.2011, Addinsoft, Paris, France). Les régressions ont quant à elles été réalisées en utilisant le logiciel R (v.2.10.1, Development Core Team, Vienne, Autriche). L'effet des traitements et de l'âge de la plante sur les paramètres étudiés ont été testés en réalisant des analyses de la variance et tests de comparaison de Tukey pour comparer les moyennes de données issues d'une distribution paramétrée. Pour les échantillons ne remplissant pas les conditions, le test de Kolmogorov-Smirnov a été

utilisé pour tester la significativité des résultats. Les résultats ont été considérés comme significatifs au niveau de probabilité $p \leq 0.05$. Lors des comparaisons multiples, la correction de Bonferroni a été appliquée, de manière à prendre en compte l'erreur de type I, cet ajustement consiste à identifier le nombre de tests n , puis à effectuer chacun des n tests non pas au niveau de signification α , mais au niveau α/n .

Accumulation du Cd par *Noccaea caerulescens* sous exposition contrôlée en métal

Résumé

*L'objectif de ce chapitre est de suivre les cinétiques d'hyperaccumulation du Cd dans la plante modèle *Noccaea caerulescens* au cours de son cycle de développement indépendamment de l'offre du sol. Des plants ont été exposés en aéroponie à trois concentrations en Cd constantes et échantillonnés à plusieurs temps, jusqu'à la formation des siliques. L'allocation de biomasse ainsi que la translocation du Cd entre les racines et les parties aériennes sont restées constantes dans le temps et indépendantes du niveau d'exposition. L'influx de Cd était proportionnel à la concentration d'exposition et constant dans le temps, indiquant que le développement de la plante n'avait pas d'effet sur celui-ci. Le facteur de bioconcentration (BCF) était indépendant de la concentration d'exposition et du stade de développement de la plante. Le prélèvement de Cd dans un organe donné peut donc être prédit pour chaque stade de développement en multipliant la biomasse de l'organe par le BCF et la concentration de la solution d'exposition.*

3.1 Introduction

Le cadmium est un élément trace non essentiel, qui peut être toxique pour la plupart des organismes vivants (Boisset 1996 ; Das *et al.* 1997). Au cours du siècle dernier, les sols de larges superficies ont été contaminés par le Cd. Comme le cadmium dans les sols est généralement facilement biodisponible (Sterckeman *et al.* 2009), il peut être accumulé dans les récoltes et constituer un risque pour les humains à travers la contamination de la chaîne alimentaire. Compte tenu de cela, la compréhension de la distribution du métal dans les plantes est nécessaire, à la fois pour assurer la sécurité alimentaire, mais aussi pour optimiser la phytoextraction.

De gros progrès ont été faits durant cette dernière décennie sur la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le prélèvement, la translocation et la séquestration des éléments traces (Hanikenne et Nouet 2011 ; Milner et Kochian 2008 ; Rascio et Navari-Izzo 2011 ; Verbruggen *et al.* 2009). En particulier, les mécanismes moléculaires et gènes impliqués dans l'hyperaccumulation et l'hypertolérance au Zn, Ni ou Cd, notamment chez *Noccaea caerulea* et *Arabidopsis halleri* sont maintenant bien décrits. Pour ces espèces, une surexpression de gènes de la famille des ZIP va diriger le prélèvement de métal à travers les cellules racinaires. Le stockage de métal y est restreint à cause d'une faible expression de gènes responsables de la séquestration vacuolaire du métal. Chez les plantes hyperaccumulatrices, le chargement dans le xylème est également augmenté par l'expression de gènes codants pour des transporteurs de métaux notamment HMA4 et HMA2 dans le cas du Cd (voir Chapitre 1). La capacité à hyperaccumuler les éléments traces est également en partie gouvernée par une capacité accrue de stockage de métal dans les vacuoles des feuilles. Pour résumer, l'homéostasie des métaux dans ces espèces de plante est la résultante de réactions multiples conduisant à un prélèvement racinaire accru, une faible séquestration racinaire, un transfert racines/parties aériennes élevé et une capacité élevée de stockage et détoxification dans les cellules foliaires.

De plus, de nombreuses études font l'hypothèse que les gènes impliqués dans l'hyperaccumulation ne sont pas spécifiques pour chaque espèce mais sont plutôt régulés et exprimés à des niveaux différents, par rapport aux espèces non hyperaccumulatrices. Les mêmes mécanismes sont impliqués dans l'homéostasie des éléments traces toxiques chez les plantes non hyperaccumulatrices telles que *Arabidopsis thaliana*, *Thlaspi arvense* ou *Oriza sativa* (Ueno *et al.* 2011a). Dans ce cas, l'expression des gènes est telle que l'absorption racinaire et le chargement dans le xylème sont diminués alors que le stockage dans les vacuoles racinaires est augmenté. Il est à noter que ces similarités font des plantes hyperaccumulatrices de bons modèles pour comprendre l'homéostasie générale des éléments en traces.

Pour modéliser l'accumulation du Cd, des cinétiques d'accumulation dans les organes de plantes exposées à des concentrations constantes est nécessaire. Cette information n'est pas disponible dans la littérature, bien qu'il existe de nombreuses données sur les teneurs en Cd à l'échelle de la plante ou de l'organe. Cependant, les cinétiques de phytoaccumulation sont rares

(Perronnet *et al.* 2003). Du fait que les plantes étaient la plupart du temps cultivée sur des sols contaminés (Cieslinski *et al.* 1996 ; Dechamps *et al.* 2005 ; Dunbar *et al.* 2003 ; Koopmans *et al.* 2008 ; Perronnet *et al.* 2003) ou en hydroponie mais avec un contrôle insuffisant de la solution nutritive (Greger et Lofstedt 2004 ; Jarvis *et al.* 1976 ; Lombi *et al.* 2000 ; Zhao *et al.* 2006), il n'est pas possible de distinguer, dans les cinétiques de distribution dans la plante, la contribution de l'évolution de l'offre du sol (ou de la solution) de l'homéostasie de la plante (ou de l'organe). De plus, les études cinétiques sont généralement conduites sur de courtes périodes, en comparaison avec un cycle de culture complet (Liu *et al.* 2008 ; Lu *et al.* 2008 ; Zhao *et al.* 2006), ou l'exposition est très courte durée (Dauthieu *et al.* 2009 ; Page *et al.* 2006). Souvent, les plantes sont divisées uniquement en racines/parties aériennes (Perronnet *et al.* 2003).

Par conséquent, nous avons conçu une expérience permettant le contrôle de la solution nutritive (ou l'exposition racinaire) et mesurant la concentration en Cd dans les différents organes (racines, feuilles vertes, feuilles sénescents, bractées, inflorescence) jusqu'à la formation des siliques (au bout de 5 mois). Ces expériences ont été menées dans le but de tester l'hypothèse selon laquelle, la concentration en Cd dans un organe donné x ($[Cd]_x$) est constante au cours du temps lorsque la concentration d'exposition est constante. Cette hypothèse a été suggérée par les résultats de Perronnet *et al.* (2003) et de Schmitt-Sirguy (2004) qui ont montré la constance de la concentration en Cd dans les feuilles de différentes populations de *Noccaea caerulescens* cultivées sur des sols fortement contaminés pendant quatre semaines à 3 mois de culture. Cette hypothèse implique une autre, selon laquelle la quantité de Cd accumulée dans un organe (Q_{Cd_x}) serait proportionnelle à la matière sèche allouée à cet organe (MS_x) dans le cas où la concentration d'exposition ne varie pas avec le temps. Cela implique aussi que le ratio (désigné comme facteur de bioconcentration, BCF_x) entre la concentration dans l'organe de la plante et celle dans la solution d'exposition racinaire ($[Cd]_s$) est constant. Cela peut être résumé comme suivant :

$$BCF_x = \frac{[Cd]_x(t)}{[Cd]_s} = C \quad (3.1)$$

$$Q_{Cd_x}(t) = BCF_x \cdot [Cd]_s \cdot MS_x(t) \quad (3.2)$$

3.2 Matériels et Méthodes

Les plantes ont été cultivées en aéroponie comme décrit dans le paragraphe 2.1.2.1 p. 31. Trois cultures ont été réalisées, chacune à un niveau d'exposition en Cd différent. Les concentrations d'exposition - 0,5 μ M, 1,0 μ M et 1,8 μ M de Cd pour les cultures A, B et C respectivement - ont été choisies de manière à ce que les plantes subissent des expositions du même ordre que celles trouvées dans les sols contaminés, mais également de façon à ce qu'elles puissent être maintenues constantes dans la solution nutritive.

3.3 Résultats

3.3.1 Évolution de la concentration en Cd dans la solution nutritive

La concentration en Cd a été mesurée de deux fois par semaine en début de culture à une fois par jour en fin de culture (Figure 3.1). Les concentrations initiales visées étaient $0,5 \mu\text{M}$ pour la culture A, $1,0 \mu\text{M}$ pour la culture B et $1,8 \mu\text{M}$ pour la culture C. En faisant la moyenne pondérée dans le temps des mesures réalisées, les concentrations en Cd dans la solution nutritive deviennent $0,55 \mu\text{M}$, $0,83 \mu\text{M}$ et $1,71 \mu\text{M}$ de Cd (cultures A, B et C respectivement). La culture B, menée seule en 2009, a été soumise à une fluctuation plus importante de la concentration en Cd. Ceci a ensuite été remédié en augmentant le volume de solution d'exposition par adjonction d'un réservoir de 36 L au système pour les cultures A et C.

Dans la suite de l'exposé, lors du calcul des facteurs de bioconcentration (BCF), la concentration d'exposition considérée pour un individu est la moyenne pondérée dans le temps de la concentration mesurée dans la solution nutritive avant l'échantillonnage de la plante.

Durant la vernalisation, qui s'est étendue du jour 49 au jour 86 pour les cultures A et C, on peut remarquer que les solutions ont également subi des fluctuations de concentration, fluctuations moins rapides qu'en dehors de la période de vernalisation. La culture A a subi une augmentation lente et régulière de la concentration de Cd en solution durant la vernalisation, pourtant sans que du Cd n'ait été ajouté. On peut également noter une légère augmentation des concentrations pour les cultures A et C entre le 145^e et le 148^e jour.

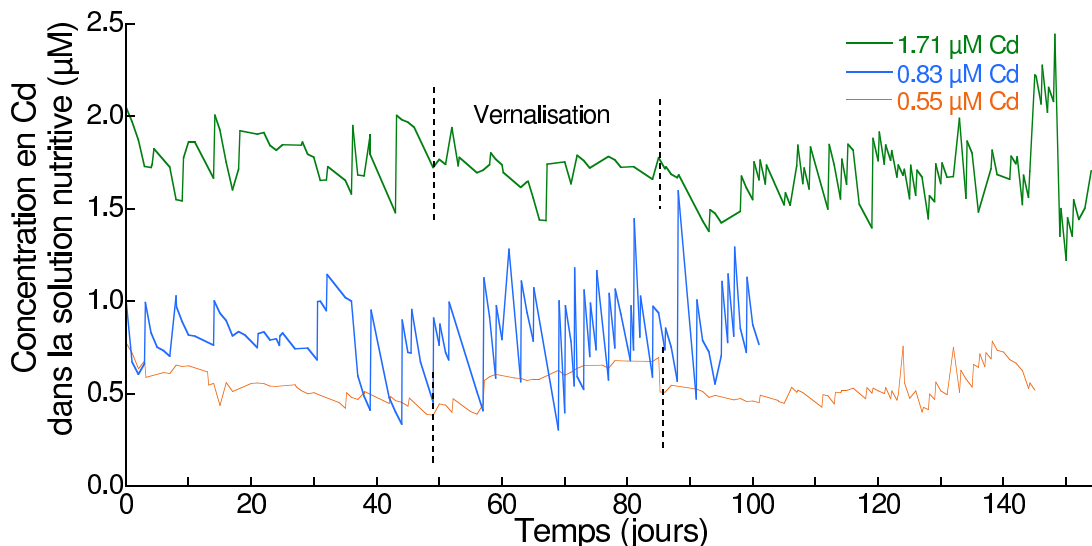


FIGURE 3.1 – Suivi temporel de la concentration en Cd dans la solution nutritive en aéroponie.

3.3.2 Croissance des plantes en conditions contrôlées

3.3.2.1 Biomasses aérienne et racinaire

Les plants de *Noccaea caerulescens* ont poussé sans montrer de symptôme de toxicité quelque soit le niveau d'exposition. La matière sèche (MS) a varié d'un individu à un autre, comme on peut le voir sur les barres d'erreur dans la Figure 3.2.

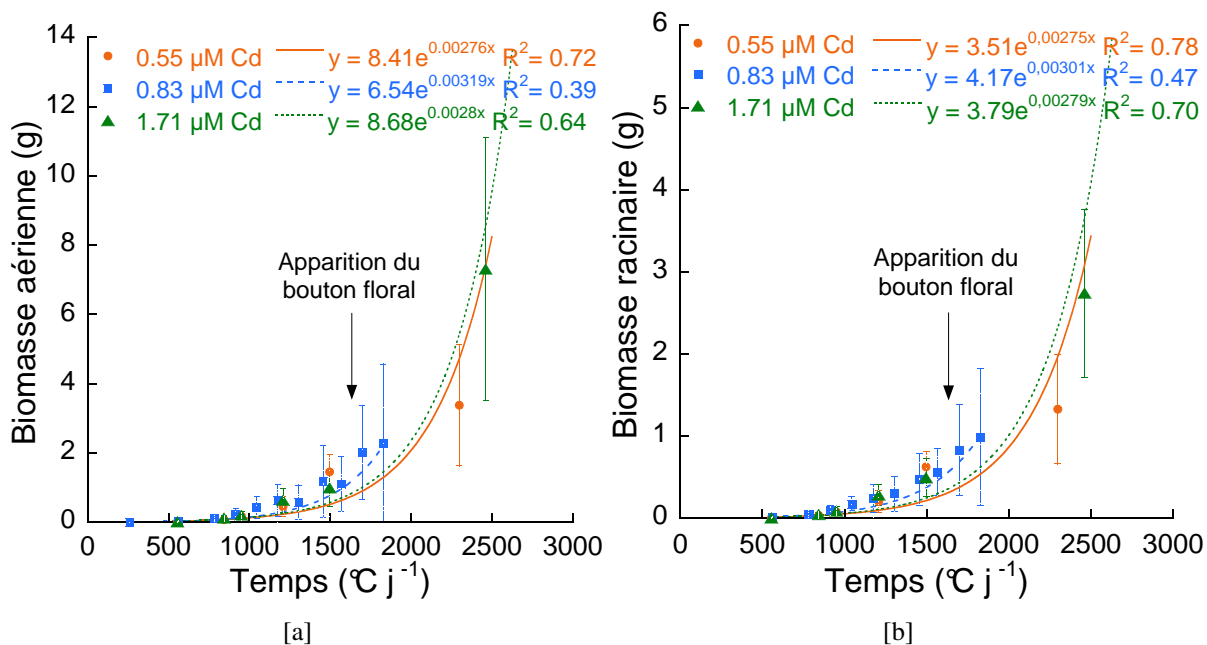


FIGURE 3.2 – Biomasse aérienne (a) et racinaire (b) de *Noccaea caerulescens* exposés à des niveaux constants de Cd en aéroponie pendant 98 jours (■, 0,83 µM) ou 164 jours (○, 0,55 et ▲, 1,71 µM de Cd). Les valeurs présentées sont les moyennes (\pm l'écart-type) de cinq (0,55 et 1,71 µM de Cd) à six réplicats (0,83 µM de Cd).

Les valeurs moyennes de MS ont augmenté avec le temps, suivant une fonction exponentielle pour les racines et les parties aériennes (Figure 3.2[a] et 3.2[b]).

La concentration d'exposition n'a pas eu d'effet sur la production de MS aérienne et racinaire durant la phase végétative (Figure 3.2[a] et 3.2[b]). La matière sèche a été allouée préférentiellement aux parties aériennes selon un rapport constant (69 %) sans effet du niveau d'exposition ou du temps sur celui-ci (Figures 3.3, 3.4 et 3.5).

Cependant, pour le stade de développement en fleurs (dernière récolte), les plantes exposées à une concentration de 1,71 µM de Cd ont présenté une biomasse aérienne significativement plus importante ($p = 0.007$) (Figure 3.2[a]) et ont atteint ce stade dix jours plus tard de manière significative ($p = 0.039$) que les plantes exposées à 0,55 µM de Cd (Figure 3.2[a]). Les racines des plantes exposées à 1,71 µM de Cd ont également présenté une biomasse plus importante ($p = 0.003$).

Au stade en fleurs, les feuilles de la rosette et les bractées représentaient presque 60 % de la MS des plantes vernalisées, quelque soit le niveau d'exposition (Tableau 3.1). Les plantes des cultures A et C ont présenté des feuilles senescentes lors du stade floraison, qui représentaient environ 5 % de la biomasse totale. Pour ces deux cultures, ce sont les bractées de type I qui représentaient la part de biomasse la plus importante, soit 20,0 % et 22,3 % respectivement. Les proportions de racines, feuilles de la rosette, bractées et hampes n'ont pas été affectées par le niveau d'exposition ($p = 0,603$) (Figure 3.6). Cependant les plantes exposées à 1,71 μM de Cd ont produit deux fois plus de bractées III et deux fois moins de bractées II que les plantes exposées à 0,55 μM de Cd (Tableau 3.1).

TABLEAU 3.1 – Production de biomasse et répartition dans les différentes parties de *Nocca caerulea* au stade en fleurs. Les plantes ont été exposées à deux concentrations en Cd constantes (0,55 μM et 1,71 μM). Les valeurs présentées ici sont les moyennes (écart-type) de $n = 10$ plantes (0,55 μM) et $n = 8$ plantes (1,71 μM).

Partie considérée	Culture A		Culture C	
	Matière sèche (mg)	% Biomasse totale	Matière sèche (mg)	% Biomasse totale
Bractées I	933,5 (852,0)	19,9	2260,1 (2155,4)	22,5
Bractées II	554,9 (272,8)	11,8	677,8 (480,1)	6,7
Bractées III	234,5 (266,7)	5,0	948,1 (661,4)	9,4
Feuilles vertes de la rosette	767,7 (611,7)	16,4	1492,0 (697,0)	14,8
Feuilles sénescentes de la rosette	234,2 (328,8)	5,0	558,4 (607,7)	5,6
Hampes I	187,6 (160,8)	4,0	578,2 (451,8)	5,8
Hampes II	242,3 (177,8)	5,2	270,8 (241,8)	2,7
Hampes III	249,4 (347,2)	5,3	526,3 (437,1)	5,2
Racines	1333,8 (665,9)	28,4	2741,7 (1023,0)	27,3
Plante entière	4690,9 (2393,4)	100	10053,3 (4789,2)	100

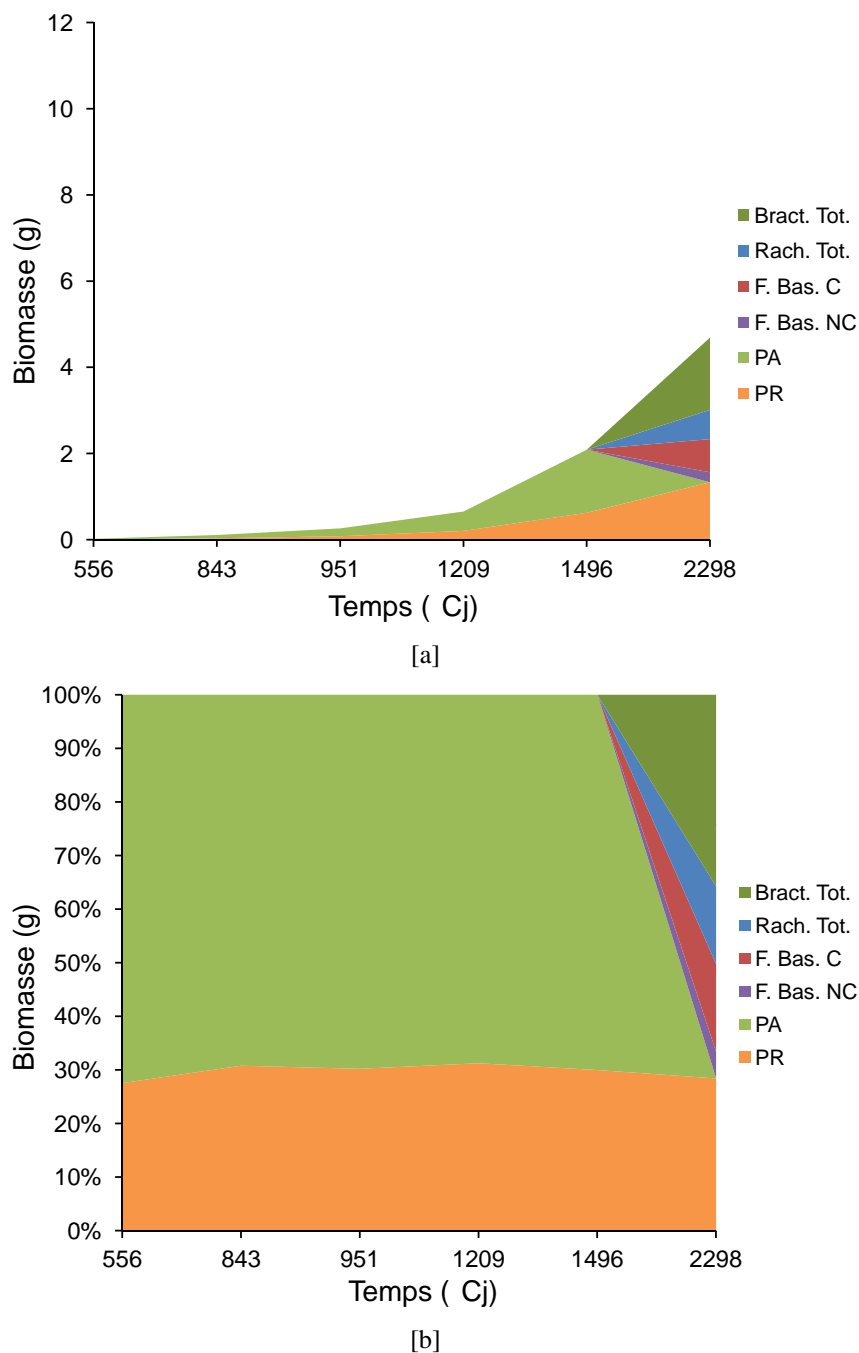


FIGURE 3.3 – Allocation de la biomasse entre les différentes parties de *Noccaea caerulea* pour une exposition à 0,55 μM de Cd pendant 164 jours. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse. Les différentes parties représentées sont les parties aériennes (PA) et les parties racinaires (PR), puis pour le stade en fleurs, les feuilles basales non chlorophylliennes (F. Bas. NC), les feuilles basales chlorophylliennes (F. Bas. C), les rachis (Rach. Tot.) et les bractées (Bract. Tot.). Les valeurs présentées sont les moyennes de six à dix réplicats (pour le stade en fleurs).

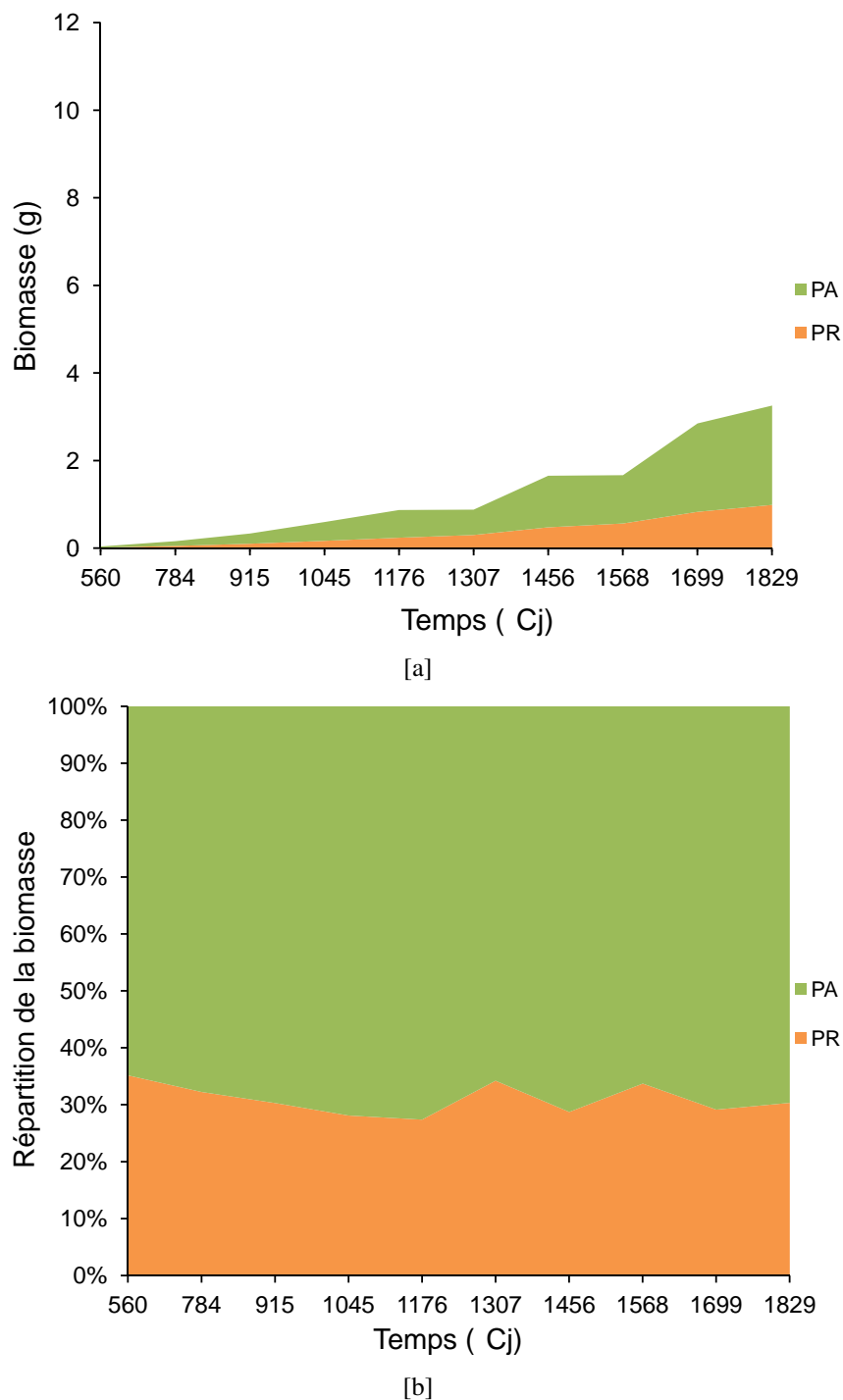


FIGURE 3.4 – Allocation de la biomasse entre les différentes parties de *Noccaea caerulea* pour une exposition à 0,83 μM de Cd pendant 98 jours. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse. Les parties présentées sont les parties aériennes (PA) et les parties racinaires (PR). Les valeurs présentées sont les moyennes de six réplicats.

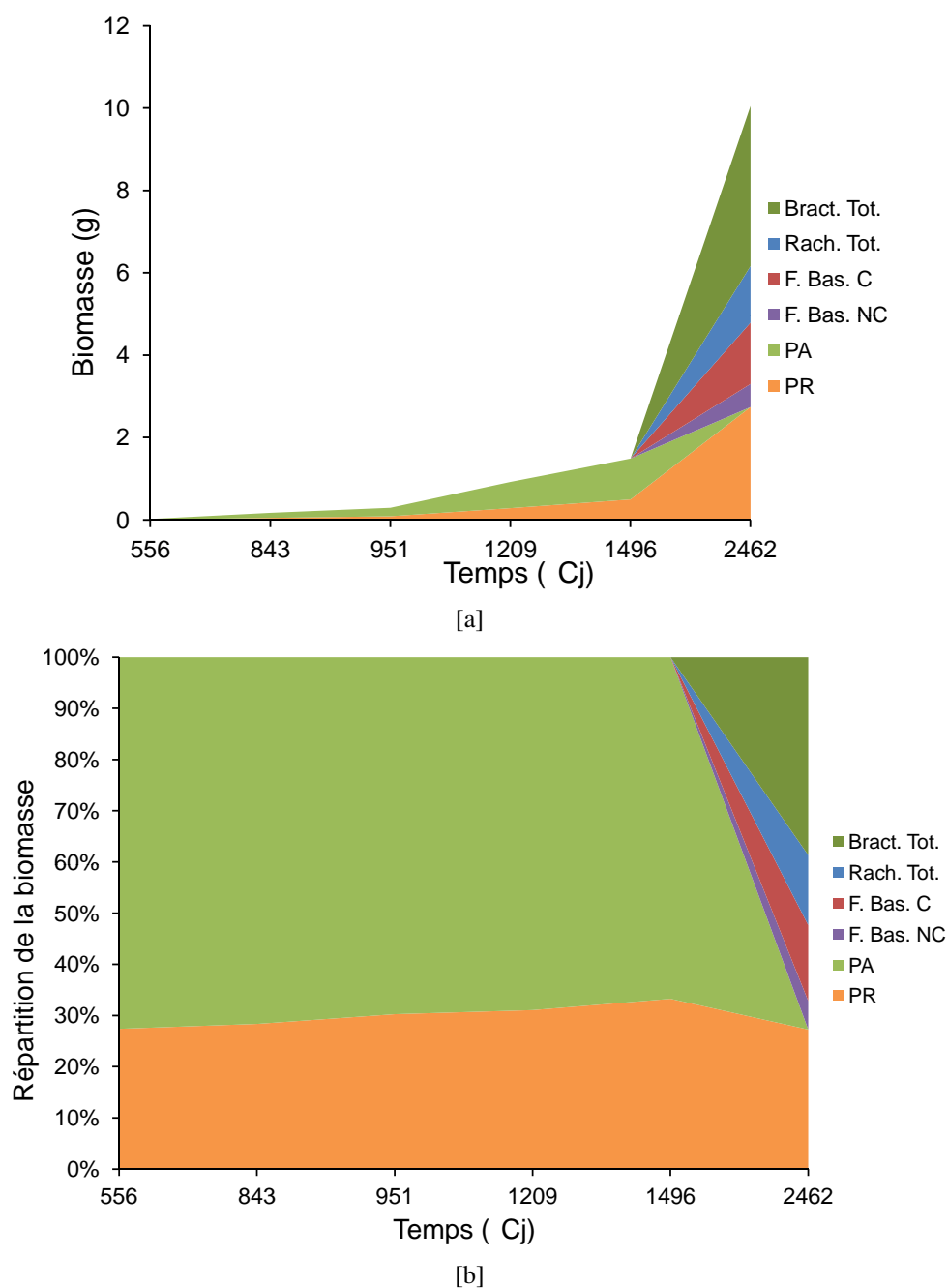


FIGURE 3.5 – Allocation de la biomasse entre les différentes parties de *Noccaea caerulea* pour une exposition à 1,71 μM de Cd pendant 164 jours. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse. Les différentes parties représentées sont les parties aériennes (PA) et les parties racinaires (PR), puis pour le stade en fleurs, les feuilles basales non chlorophylliennes (F. Bas. NC), les feuilles basales chlorophylliennes (F. Bas. C), les rachis (Rach. Tot.) et les bractées (Bract. Tot.). Les valeurs présentées sont les moyennes de cinq à huit réplicats (pour le stade en fleurs).

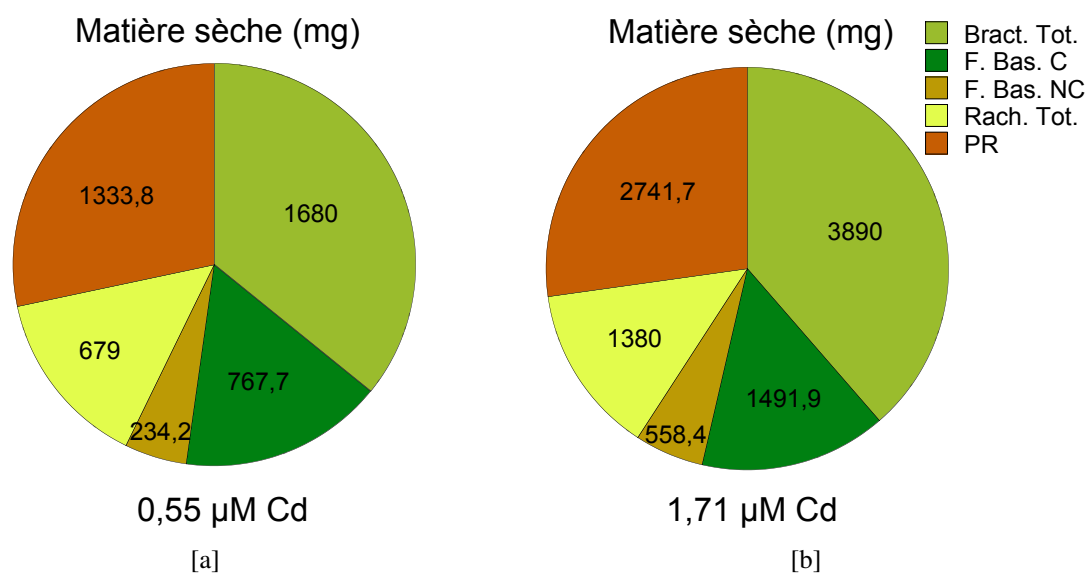


FIGURE 3.6 – Allocation de la biomasse entre les différentes parties de *Noccaea caerulea* lors du stade floraison, pour une exposition constante à 0,55 µM (a) et 1,71 µM (b). Les différentes parties représentées sont les parties racinaires (PR), les feuilles basales non chlorophylliennes (F. Bas. NC), les feuilles basales chlorophylliennes (F. Bas. C), les rachis (Rach. Tot.) et les bractées (Bract. Tot). Les valeurs présentées sont les moyennes de huit (a) à dix réplicats (b).

3.3.2.2 Surfaces des différentes parties

Surface racinaire

Les surfaces racinaires ont augmenté exponentiellement, de la même manière que les biomasses aériennes et racinaires (Figure 3.7[a]). Comme pour les biomasses, la concentration d'exposition n'a pas eu d'effet sur le développement de cette surface, hormis pour le stade en fleurs, où les plantes de la culture C ont présenté une surface racinaire significativement plus importante ($p < 0,015$) que les plantes soumises à la concentration d'exposition la plus basse. Par ailleurs, il est à noter que les surfaces racinaires étaient proportionnelles aux MS des plantes entières (Figure 3.8[a]) avec un coefficient de corrélation de Pearson égal à 0,983, 0,926 et 0,992 ($p < 0,0001$) pour les cultures A, B et C.

Surface aérienne

Les surfaces aériennes ont également évolué de manière exponentielle comme la matière sèche (Figure 3.7). Aucune différence de surface aérienne n'a été observée pour chaque pas

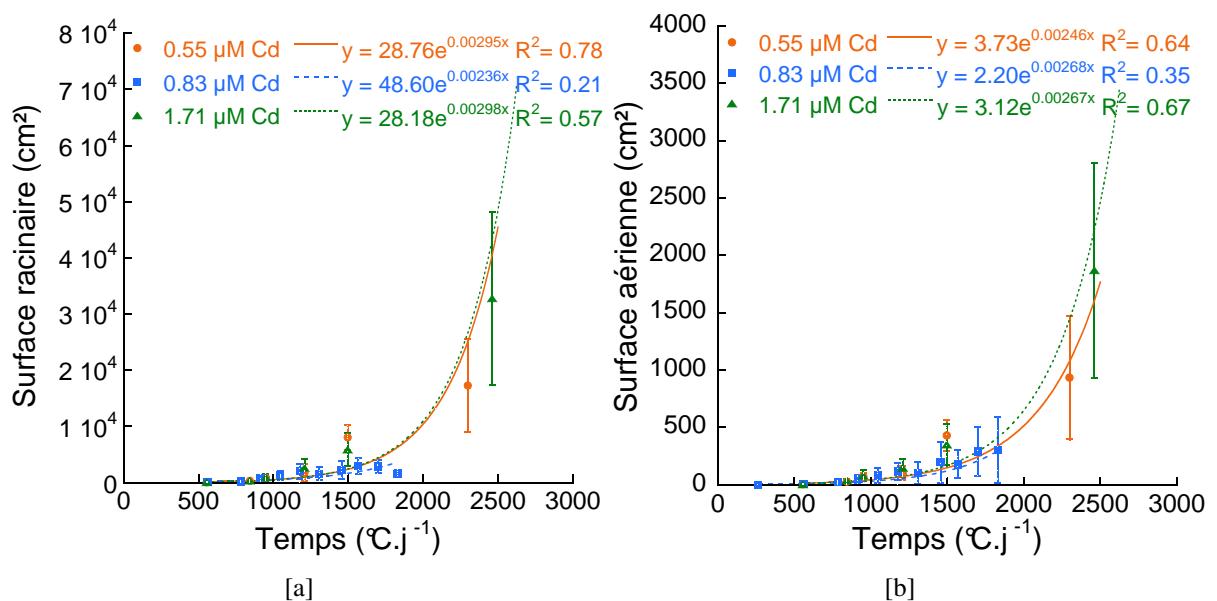


FIGURE 3.7 – Surfaces aérienne (a) et racinaire (b) de *Noccaea caerulescens* exposés à des niveaux constants de Cd en aéroponie pendant 98 jours (■, 0,83 µM) ou 164 jours (○, 0,55 et ▲, 1,71 µM de Cd). Les valeurs présentées sont les moyennes (\pm l'écart-type) de cinq (0,55 et 1,71 µM de Cd) à six réplicats (0,83 µM de Cd).

de temps entre les différents niveaux d'exposition. Mais lors du stade en fleurs, les plantes de la culture A ont présenté une surface aérienne plus faible que les plantes de la culture C ($p < 0,0001$). De même que les surfaces racinaires, les surfaces aériennes étaient très corrélées à la matière sèche totale, avec un coefficient de corrélation de Pearson égal à 0,991 0,984 et 0,989 ($p < 0,0001$) pour les cultures A, B et C (Figure 3.8[b]).

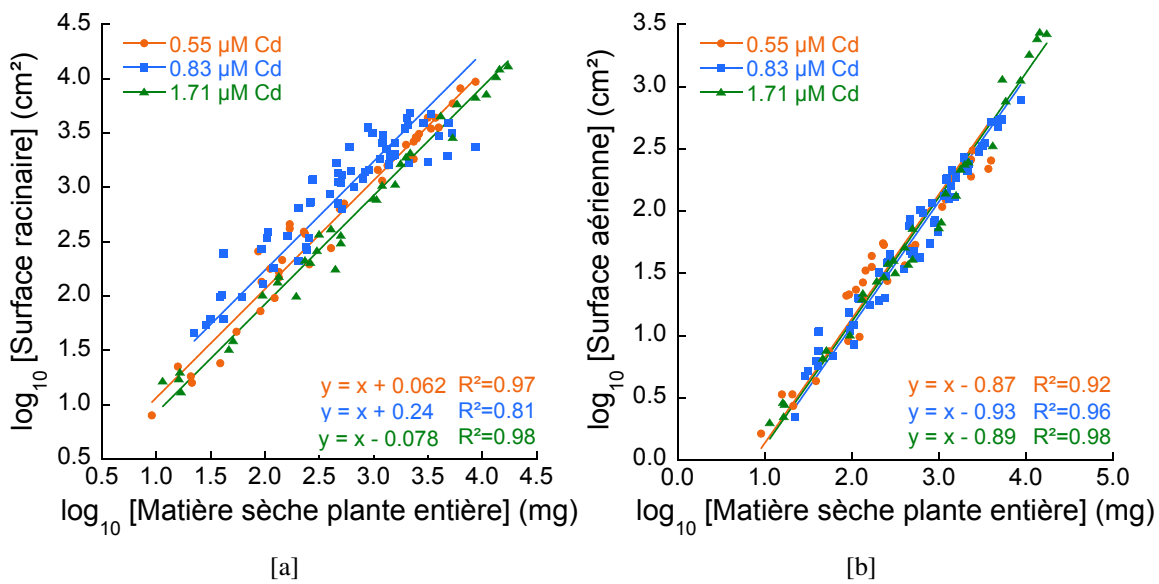


FIGURE 3.8 – Relations entre surfaces racinaire (a) et aérienne (b) et matière sèche totale de *Noccaea caeruleus* pour les cultures A (0,55 μM de Cd), B (0,83 μM de Cd) et C (1,71 μM de Cd).

3.3.3 Concentrations en cadmium et accumulation

Comme la matière sèche, les concentrations en Cd ont varié considérablement d’une plante à une autre, comme le reflètent les écart-types des valeurs de concentration (Figure 3.9). Pour

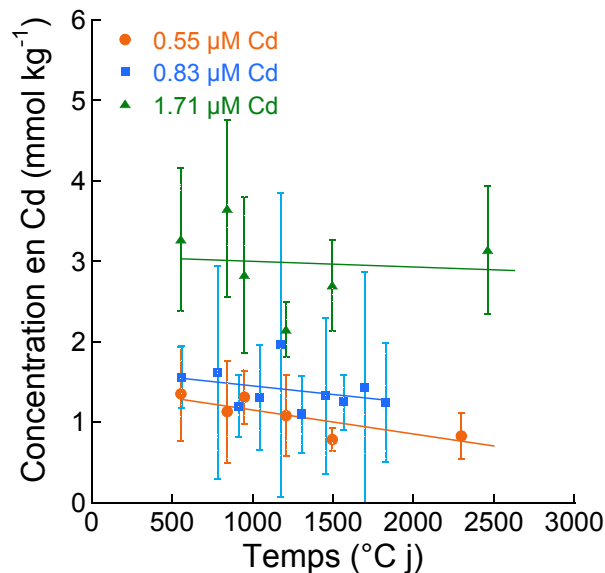


FIGURE 3.9 – Concentrations en Cd dans les parties aériennes de *Noccaea caeruleus* pour les cultures A (0,55 μM de Cd), B (0,83 μM de Cd) et C (1,71 μM de Cd).

chaque exposition, les concentrations en Cd dans les racines et parties aériennes n’ont pas varié durant la culture (eu égard des écart-types). Par conséquent, toutes les récoltes peuvent être

regroupées pour ces paramètres (Figure 3.10). Les concentrations étaient significativement plus importantes dans les parties aériennes que dans les racines, quelque soit le niveau d'exposition (Figure 3.10).

Les concentrations en Cd dans les parties aériennes des plantes exposées à 1,71 μM de Cd étaient 2,6 fois plus élevées que celles des plantes exposées à 0,55 μM de Cd. Les concentrations en Cd des racines des plantes exposées à 1,71 μM de Cd étaient 3,2 fois plus élevées que celles des plantes exposées à 0,55 μM de Cd.

Au stade en fleur, les concentrations en Cd des différentes parties aériennes ne peuvent pas être considérées comme statistiquement différentes pour un même niveau d'exposition (Figure 3.11). Les capacités du système foliaire à accumuler le Cd (i.e. le pourcentage de Cd total alloué aux parties aériennes) n'ont pas varié avec le niveau d'exposition en Cd (Figure 3.12). 86 % du cadmium absorbé était alloué aux parties aériennes et environ 70 % du cadmium absorbé était alloué aux feuilles et bractées pour chaque niveau d'exposition (Figure 3.12). Au stade en fleurs, 43 % à 48 % du Cd total était localisé dans les bractées, alors que 23 % à 26 % était dans les feuilles de la rosette ; les racines représentaient 12 % à 14 % du cadmium absorbé (Figure 3.12).

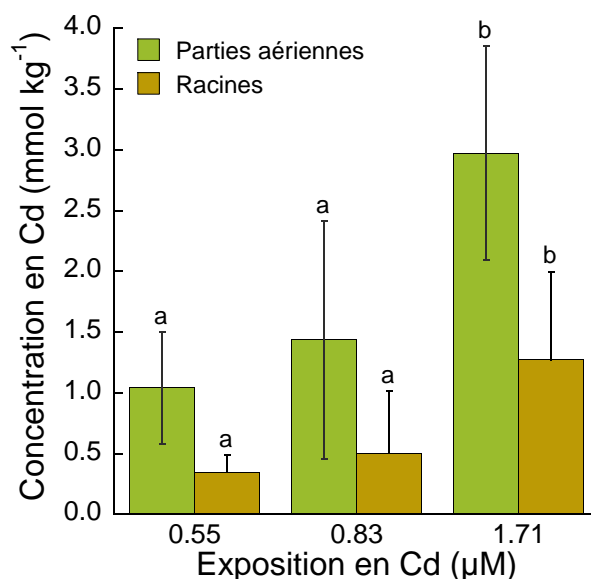


FIGURE 3.10 – Concentrations en Cd dans les parties aériennes et racinaires de *Nocca caerulea*. Les plantes ont été exposées à différentes concentrations en Cd (0,55, 0,83 et 1,71 μM). Les barres et barres d'erreur sont les moyennes et les écart-types pour toutes les plantes. Pour une partie donnée, des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p = 0.05$).

Grâce à l'équation 3.2 p. 48, les facteurs de bioconcentration BCF_x ont pu être calculés graphiquement, en traçant $\log Q_{Cd_x}$ en fonction de $\log(MS_x \cdot [Cd]_s)$ pour lequel $[Cd]_s$ était la concentration en Cd^{2+} dans la solution nutritive estimée par JChess (Figure 3.13). Les BCF_x sont donc les valeurs d'ordonnée à l'origine sur cette figure. Ces variables étaient significativement

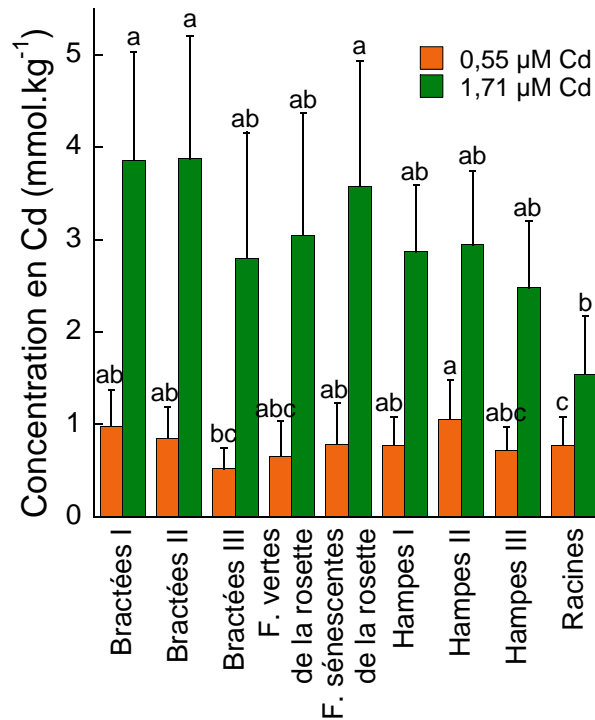


FIGURE 3.11 – Concentrations en Cd dans les parties aériennes et racinaires de *Noccaea caerulea* lors du stade en fleurs. Les plantes ont été exposées à différentes concentrations en Cd (0,55 et 1,71 μM). Les barres et barres d’erreur sont les moyennes et les écart-types pour toutes les plantes. Pour une culture donnée, des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p = 0.05$).

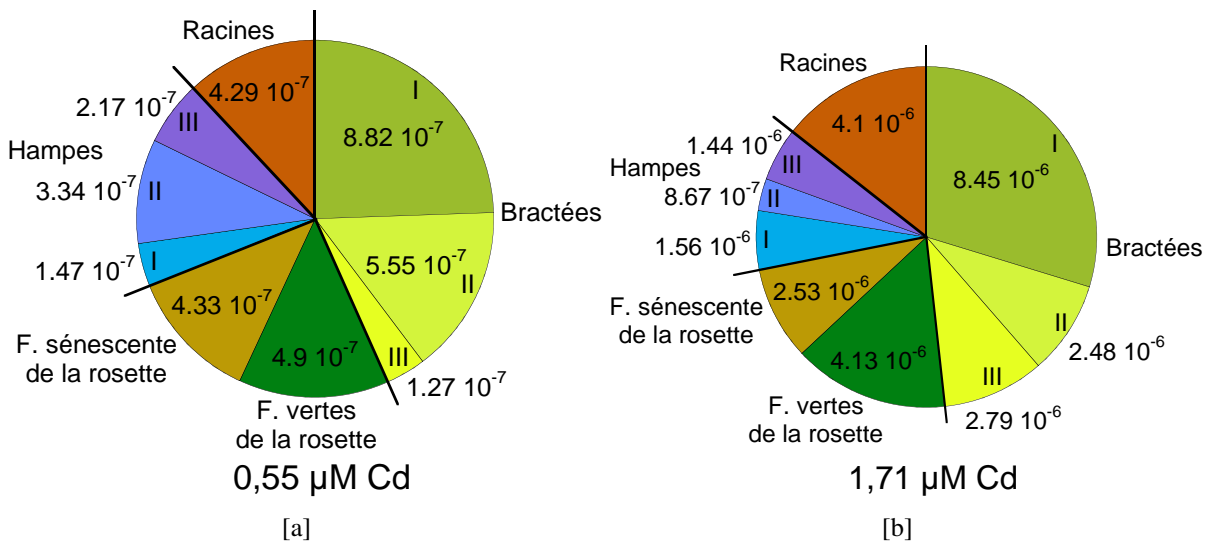


FIGURE 3.12 – Quantités de Cd accumulées (en mol) pour les cultures A (a) et B (b) de *Noccaea caerulea* exposé à des niveaux constants de Cd en aéroponie pendant 164 jours (0,55 et 1,71 μM de Cd). Les valeurs présentées sont les moyennes de huit (1,71 μM de Cd) et dix réplicats (0,55 μM de Cd) de plantes au stade floraison.

et linéairement corrélée ($p < 0,0001$) (Figure 3.13). Les intervalles de confiance ont montré que les facteurs de bioconcentrations ne diffèrent pas selon le niveau d'exposition pour une partie considérée (Tableau 3.2). Les BCF moyens pour la plante entière, les racines et les parties aériennes étaient respectivement 1847 L kg^{-1} , 805 L kg^{-1} et 2317 L kg^{-1} .

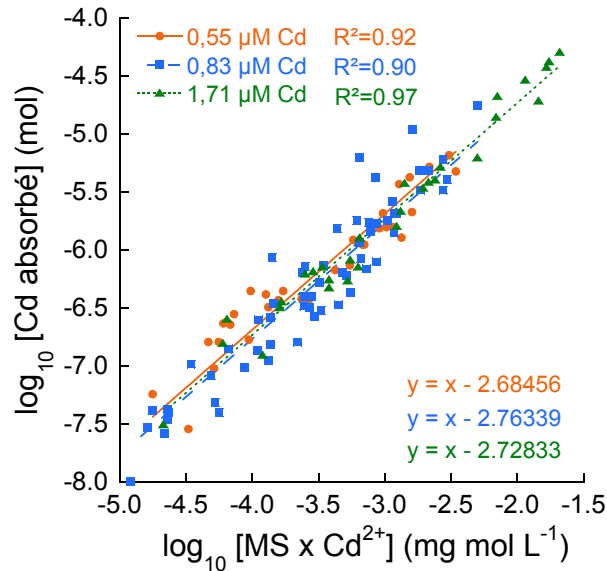


FIGURE 3.13 – Relation entre quantité de Cd prélevé dans la plante entière, biomasse totale et concentration en Cd^{2+} dans la solution d'exposition chez *N. caerulea* cultivé sous trois concentrations en Cd dans la solution nutritive. Des plantes ont été échantillonnées entre six et onze fois jusqu'à la formation des siliques.

TABLEAU 3.2 – Facteurs de bioconcentration (BCF) de *Noccaea caerulea* exposé à des niveaux constants de Cd en aéroponie pendant 98 jours (Culture B : $0,83 \mu\text{M}$ de Cd) ou 164 jours (Culture A : $0,55 \mu\text{M}$ de Cd et C : $1,71 \mu\text{M}$ de Cd), exprimés en L kg^{-1} .

Partie	Culture A	Culture B	Culture C	Moyenne
Parties aériennes	2575 (372)	2209 (304)	2268 (252)	2317 (187)
Racines	883 (137)	725 (112)	892 (181)	805 (79)
Plante entière	2067 (304)	1724 (250)	1869 (231)	1847 (156)

3.3.4 Influx racinaire

L'influx de cadmium peut être exprimé comme suit :

$$I_{\text{Cd}}(t) = \frac{dQ_P}{dt} / S_r(t) \quad (3.3)$$

Comme montré précédemment (Figures 3.2, 3.8[a] et 3.13),

$$MS_P(t) = ae^{bt} \quad (3.4)$$

$$S_r(t) = k.MS_P(t) \quad (3.5)$$

et

$$Q_{CdP}(t) = BCF_P.[Cd]_S.MS_P(t) \quad (3.2)$$

alors

$$I_{Cd}(t) = \frac{BCF_P.[Cd]_S.b}{k} \quad (3.6)$$

est donc constant pour une concentration d'exposition et proportionnel à cette concentration. En utilisant l'équation 3.6, l'influx net de Cd entrant dans la plante serait estimé à 3,8 nmol g⁻¹ MS h⁻¹, 7,1 nmol g⁻¹ MS h⁻¹ et 13,2 nmol g⁻¹ MS h⁻¹ pour les cultures A, B et C respectivement (Tableau 3.3).

TABLEAU 3.3 – Influx en Cd pour différentes populations de *Noccaea caerulea*. Les influx pour [Lovy et al. \(2013\)](#) ont été calculés à partir de l'équation 3.3, les autres ont été calculés en utilisant la cinétique de prélèvement concentration-dépendante (modèle de Michaelis-Menten) de l'article correspondant. Les valeurs de [Lombi et al. \(2002, 2001\)](#) ont été converties dans l'unité désirée en utilisant la relation matière fraîche-matière sèche racinaire suivante : MF/MS=15,20 ([Lovy et al. 2013](#)).

Espèce étudiée	Référence	Influx en Cd (nmol g ⁻¹ MS h ⁻¹)		
		Exposition en Cd (µM)		
		0,55	0,83	1,71
<i>Noccaea caerulea</i> (Ganges)	Lombi et al. 2001	1926,2*	2140,2*	2491,8*
	Lombi et al. 2002	366,4*	479,4*	711,8*
<i>Noccaea caerulea</i> (Prayon)	Lombi et al. 2001	390,8*	457,7*	591,4*
	Lombi et al. 2002	99,1*	135,8*	226,0*
	Redjala et al. 2009	766,2	893,6	1079,4
<i>Noccaea caerulea</i> (Viviez)	Redjala et al. 2010a	259,2	275,3	298,1
	Lovy et al. 2013	3,83	7,05	13,16

3.4 Discussion

3.4.1 Évolution de la concentration en Cd dans la solution nutritive

Les gammes de concentrations d'exposition en Cd ont été choisies pour être proches de celles que l'on peut trouver dans la solution du sol, mais aussi pour pouvoir être contrôlées sans trop de difficultés techniques pendant toute la durée de la culture. Les concentrations nominales sont de l'ordre de grandeur du K_m de l'espèce (Redjala *et al.* 2010a). Elles sont cependant nettement plus élevées que celles trouvées dans la solution du sol, qui sont de l'ordre de 50 à 200 nM (Maxted *et al.* 2007). Comme on le verra plus loin, les concentrations effectives d'exposition des racines (c'est-à-dire dans la solution déposée sur les racines par la brumisation), du fait des limitations d'approvisionnement par l'aéroponie, sont beaucoup plus basses que les concentrations nominales (qui sont celles de la solution dans le bac avant brumisation). On peut donc considérer que les concentrations d'exposition n'ont pas perturbé le fonctionnement des plantes plus qu'elles ne l'auraient fait en conditions in situ courantes.

Les fluctuations plus importantes de concentration en Cd pour la culture B sont dues à l'utilisation d'un volume plus réduit de solution, que les cultures A et C. Pour des raisons pratiques, durant la vernalisation, les bacs de solutions ont été inversés pendant 48 h entre la culture A et la culture C le 57^e jour de culture. Il en a résulté une augmentation de la concentration de la solution A, très nette au 57^e jour lorsque les plantes de la culture C étaient sur le bac. Lorsque les plantes initialement exposées à 0,55 μM de Cd ont été remises, l'augmentation a été moins nette. Pour la solution de la culture A, on pourrait expliquer ces augmentations de concentration par le fait que les plantes de la culture C cherchent à se mettre en équilibre avec la solution avec laquelle elles sont exposées (plus faible que celle d'origine) et en arrivent donc à relarguer du Cd dans la solution car aucun ajout de Cd n'a été fait dans la solution A après son renouvellement au 57^e jour (et l'inversion des bacs).

3.4.2 Croissance des plantes

3.4.2.1 Biomasses aérienne et racinaire

L'augmentation du niveau d'exposition dans la solution nutritive n'a pas eu d'effet négatif sur la croissance des plantes. Cela n'est pas surprenant étant donné les mécanismes variés conduisant à l'hypertolérance chez *Noccaea caerulescens* (Hanikenne et Nouet 2011 ; Milner et Kochian 2008 ; Verbruggen *et al.* 2009). Au contraire, l'exposition la plus élevée (1,71 μM) semble avoir été à l'origine d'une augmentation de la production de matière sèche. Un effet positif similaire avait été observé par Liu *et al.* (2008) qui a suggéré que le Cd, lorsqu'il est présent en grandes quantités, pouvait remplacer le Zn dans certaines fonctions métaboliques et ainsi favoriser la croissance des plantes hyperaccumulatrices. Le même effet positif du Cd

sur la croissance de *Noccaea caerulescens* (Plombières et Prayon) a été également constaté par [Dechamps et al. \(2005\)](#), où une population métallicole a également montré une biomasse supérieure lorsque le sol est enrichi en Cd, ainsi que par [Yanai et al. \(2006\)](#) (écotype Ganges). Néanmoins, d'autres études doivent être menées pour confirmer ces résultats et les expliquer au niveau métabolique.

Le ratio biomasse aérienne/racinaire observé ici (69 %) est légèrement plus élevé que celui trouvé par [Dechamps et al. \(2005\)](#) lors d'une culture de *Noccaea caerulescens* en pots (0,62 pour le témoin, et 0,6 pour une exposition à 30 mg kg⁻¹ de Cd). A l'inverse, lors d'une culture de *Noccaea caerulescens* en hydroponie, [Lombi et al. \(2000\)](#) ont observé un ratio biomasse aérienne/racinaire de 0,79 et 0,88, semblant favoriser le développement des parties aériennes au détriment des racines. Il est admis ([Müller et al. 2000](#) ; [Shingley et Meziane 2002](#)) qu'une nutrition minérale non adaptée favorise un développement plus important de la biomasse racinaire au détriment de la biomasse aérienne. De même, [Poorter et Nagel \(2000\)](#) montrent que les plantes répondent à une diminution des ressources aériennes (énergie lumineuse) par une augmentation de l'allocation de la biomasse aux feuilles alors qu'une diminution des ressources du sol (nutriments, eau) induit une augmentation d'allocation de biomasse aux racines.

La vernalisation des plantes en conditions contrôlées aurait pu intervenir plus tôt afin de se rapprocher des conditions extérieures et ses apparitions des stades de développement en degrés jours. Cela n'a malheureusement pas été possible pour des raisons matérielles.

L'ajout de Cd pendant la phase végétative n'apparaît pas comme ayant un effet bénéfique significatif sur la production de biomasse aux niveaux auxquels il a été ajouté. Il a cependant eu un effet sur l'apparition de la floraison, une exposition plus importante provoquant un délai plus important entre la vernalisation et la floraison. [El Hinnawy \(1956\)](#) a montré que la nutrition jouait un rôle sur le délai de floraison de la moutarde blanche, une carence en azote réduisant de moitié le temps nécessaire pour que les plantes présentent des feuilles ouvertes. Une carence en soufre ou potassium ayant le même effet, même si moins net, et une carence en magnésium ayant l'effet inverse.

3.4.2.2 Surfaces des différentes parties

La relation entre production de biomasse et surfaces racinaire et aérienne étant linéaire, les surfaces aériennes et racinaires ont donc évolué de manière exponentielle sans effet de l'exposition hormis pour le stade en fleur. De plus, on peut remarquer que le passage du stade végétatif au stade en fleur n'a pas eu d'effet sur l'évolution de le rapport surface aérienne/MS alors qu'on aurait pût supposer une allocation de biomasse plus importante aux parties reproductrices (fleurs puis siliques) qu'aux parties végétatives, se traduisant par une diminution de la croissance de la surface aérienne.

Le passage du stade végétatif au stade en fleur n'a eu d'effet ni sur l'allocation de la biomasse entre racines et parties aériennes ni sur le rapport surface aérienne/MS.

3.4.3 Concentrations en cadmium et accumulation

Il n'y a pas eu de différence de concentrations en Cd dans les divers organes des parties aériennes (feuilles de la rosette, bractées, hampes) et les concentrations dans les racines et parties aériennes sont restées constantes dans le temps. Il est commun d'observer une dilution de la teneur en azote durant la croissance des cultures (Justes *et al.* 1994) mais également une dilution du phosphore (Martinefsky *et al.* 2010). Cela peut être expliqué par le fait que ces éléments sont alloués en priorité à un compartiment particulier (comme les jeunes tissus en croissance) dont la proportion diminue avec le temps. Perronnet *et al.* (2003) a également observé une diminution des teneurs en Zn dans les feuilles de *Noccaea caerulea* durant une culture de trois mois. Néanmoins, comme les plantes ont été cultivées sur des sols contaminés, il ne peut pas être exclu que la diminution des concentrations dans la plante soit due à une baisse de disponibilité du Zn dans le sol, conséquence du prélèvement racinaire.

Les résultats obtenus ici suggèrent que les mécanismes de stockage et de détoxification ne sont pas spécifiques d'un organe particulier et que toutes les cellules des parties aériennes sont pourvues des mécanismes permettant le stockage. Il semblerait que les mécanismes de stockage et de détoxification soient distribués de façon homogène dans les racines d'une part et dans les parties aériennes d'autre part. Cosio *et al.* (2005) a montré que le stockage de Cd dans les feuilles de la population Ganges de *Noccaea caerulea* impliquaient plus d'un compartiment. Le cadmium était plus abondant dans les bordures des feuilles et les teneurs les plus élevées ont été trouvées dans le mésophylle et l'épiderme. Ces auteurs ont estimé que 33 % à 35 % du Cd foliaire était alloué aux parois cellulaires alors que le reste était situé dans les vacuoles. Cette distribution du Cd est cohérente avec les résultats obtenus ici, qui suggèrent une allocation homogène du métal dans les différentes parties aériennes.

La concentration en Cd dans les feuilles sénescentes était similaire à celle dosée dans les feuilles vertes, indiquant l'absence de remobilisation du métal des parties âgées vers les jeunes parties, comme cela peut être le cas pour le phosphore (Marschner 1995). Au contraire, ces résultats confirment l'idée que le cadmium n'a pas d'utilité pour la plante et dans laquelle les mécanismes d'homéostasie ont été sélectionnés principalement pour neutraliser et stocker le métal potentiellement toxique.

Quelque soit le niveau d'exposition, le ratio concentration en Cd dans les parties aériennes vs concentration dans les racines est resté constant, la concentration dans les parties aériennes étant 2.8 plus élevée que dans les racines. Cela appuie l'hypothèse selon laquelle, chez les plantes hyperaccumulatrices, les racines sont considérées comme un compartiment de transit pour le Cd, et les parties aériennes comme un compartiment de stockage, contrairement à ce

qu'il se passe chez les espèces non hyperaccumulatrices et non hypertolérantes (Verbruggen *et al.* 2009).

Krämer *et al.* (1997) soumettait l'hypothèse qu'un ratio de biomasse racinaire : aérienne élevé chez les plantes hyperaccumulatrices permettait une absorption plus importante de Ni et un meilleur transfert de celui-ci vers une biomasse aérienne réduite, conduisant donc à des concentrations foliaires en Ni élevées. Cette idée va à l'encontre du postulat présenté ici, selon lequel l'accumulation de Cd est gouvernée par la croissance de la plante. Pour confirmer ou infirmer cela, d'autres expériences seraient nécessaires, en faisant varier le rapport biomasse aérienne : racinaire.

3.4.4 Influx racinaire

Les équations 3.2, 3.4 et 3.5 impliquent que l'influx I_{Cd} soit constant dans le temps. Cela indique que les propriétés de prélèvement moyennes des racines sont indépendantes du stade de développement ou de l'âge de la plante. Cependant, les influx racinaires calculés ici sont bien plus faibles que ceux mesurés pour différents écotypes (Ganges, Prayon et Viviez) de la même espèce (Lombi *et al.* 2002, 2001 ; Redjala *et al.* 2009, 2010a) (Tableau 3.3). Cela pourrait être expliqué par le mode de culture aéroponique : le Cd dans le film de solution sur la racine diminuerait plus rapidement que le réapprovisionnement par l'aérosol. Les racines auraient alors été exposées à des concentrations apparentes beaucoup plus faibles que celle dosée dans la solution nutritive. En utilisant les I_{max} et K_m de *Noccaea caerulescens* de la population Viviez (Redjala *et al.* 2010a), les concentrations effectives seraient estimées à 1,3 nM, 2,4 nM et 4,5 nM pour les cultures A, B et C respectivement.

3.4.5 Facteur de bioconcentration

Au moins trois facteurs de bioconcentration (BCF) (Equation 3.1) peuvent être distingués, si l'on considère la concentration dans les racines, dans les parties aériennes ou dans la plante entière. Plus le BCF pour les parties aériennes est élevé, meilleure sera la phytoextraction de Cd par *Noccaea caerulescens* et par conséquent, ce paramètre pourrait être utilisé pour sélectionner les populations ou les individus les plus intéressants pour l'extraction du Cd. Le BCF des parties aériennes semble être le même que ceux qui peuvent être calculés pour toutes les parties séparément (feuilles de la rosette, bractées, hampes). Cependant, d'autres informations sont requises sur les fruits (siliques) et les graines pour vérifier s'il y a un BCF particulier pour ces compartiments.

Le BCF peut être interprété comme un coefficient de partage ou d'équilibre entre les ions dans la solution et ceux fixés dans une partie considérée de la plante. Le compartiment le plus réactif serait les parties aériennes, où les ions Cd peuvent être considérés comme fixés défini-

tivement sous une forme stable, tels que chélatés dans les vacuoles ou complexés sur les sites réactifs des parois cellulaires.

Salah et Barrington (2006) avaient déjà observé un lien étroit entre la concentration en Cd et en Zn dans les feuilles de blé tendre et la concentration de l'eau d'irrigation (culture sur sable) et du taux de transpiration. Pour des expositions très importantes, Benzarti *et al.* (2008) ont observé une diminution des facteurs de bioconcentration de *Noccaea caerulea* avec l'augmentation de l'exposition en Cd (cultures en hydroponie jusqu'à 1000 μM de Cd).

Maxted *et al.* (2007) ont calculé des BCF aériens pour la même espèce cultivée sur un sol, en estimant la concentration en Cd^{2+} dans la solution du sol à partir du pH du sol, de la matière organique ainsi que de la teneur en Cd total et « labile ». Ils ont trouvé que les BCF variaient avec le pH du sol, de 320 L kg^{-1} à $\text{pH} \approx 4,5$ à $8 \cdot 10^5 \text{ L kg}^{-1}$ à $\text{pH} \approx 6,4$ (Figure 5 de Maxted *et al.* 2007). À $\text{pH} \approx 5,7$ (pH de la solution nutritive en aéroponie), le BCF trouvé par Maxted *et al.* (2007) varie entre $15 \cdot 10^3 \text{ L kg}^{-1}$ et 10^5 L kg^{-1} . Le BCF_{PA} moyen (en considérant le Cd^{2+}) trouvé ici varie de 2209 L kg^{-1} et 2575 L kg^{-1} (Tableau 3.2), ce qui est bien en dessous les valeurs trouvées par Maxted *et al.* (2007). Si on recalcule le BCF_{PA} avec les concentrations effectives dans la solution estimées à partir de l'influx racinaire (cf. 3.4.4), les BCF_{PA} varient entre $5,98 \cdot 10^5 \text{ L kg}^{-1}$ et $8,06 \cdot 10^5 \text{ L kg}^{-1}$. Ces valeurs sont plus cohérentes avec celles trouvées par Maxted *et al.* (2007). De plus les concentrations effectives sont compatibles avec les concentrations dans la solution du sol observées sur le terrain par ces auteurs.

3.4.6 Propositions pour la modélisation de l'accumulation du Cd

Ces résultats suggèrent que la concentration en Cd dans chacune des parties de *Noccaea caerulea* peut être prédite à partir de la concentration dans la solution de sol de la rhizosphère et les BCF (équation 3.1), alors que la quantité de Cd accumulée peut être prédite à partir des précédents paramètres auxquels on ajoute la production de matière sèche (équation 3.2). Il faudrait bien sûr mesurer les BCF pour les différentes populations de *Noccaea caerulea*, puisqu'il est connu qu'elles accumulent à des niveaux différents le Cd (Assuncao *et al.* 2003 ; Reeves *et al.* 2001 ; Roosens *et al.* 2003 ; Schmitt-Sirguy 2004). La production de MS peut être à son tour prédite en utilisant un modèle de culture, tel que STICS, qui se base sur l'interception du rayonnement photosynthétiquement actif (Brisson *et al.* 2003). Dans la solution de sol, la concentration en Cd peut être estimée à partir du coefficient de partition K_d pour lequel, s'il n'est pas déterminé expérimentalement, peut être estimé à partir de paramètres du sol simples tels que le pH, la teneur en Cd totale et la matière organique (Maxted *et al.* 2007 ; Sauvé *et al.* 2000). Une autre possibilité pour prédire les concentrations et les quantités de Cd dans les différentes parties de la plante serait d'estimer le prélèvement global Q_{CdPE} à partir de l'équation de Barber-Cushman (Sterckeman *et al.* 2004) et d'ensuite redistribuer les quantités absorbées

dans les différents parties en utilisant les équations suivantes :

$$Q_{CdPA}(t) = A_{CdPA} * Q_{CdPE} \quad (3.7)$$

où le facteur d'allocation A_{CdPA} peut être calculé comme suit :

$$A_{CdPA} = \frac{Q_{CdPA}}{Q_{CdPE}} = \frac{DM_{PA} * [Cd]_S * BCF_{PA}}{DM_{PE} * [Cd]_S * BCF_{PE}} = \frac{DM_{PA} * BCF_{PA}}{DM_{PE} * BCF_{PE}} \quad (3.8)$$

Ces formalismes doivent évidemment être évalués sur des plantes cultivées sur sol.

Accumulation du Cd, Ni et Zn par *Noccaea caerulescens* cultivée en terre sous climat naturel

Résumé

*Afin de confronter les liens entre accumulation de Cd et production de biomasse chez *N. caerulescens* établis dans le chapitre précédent, des expérimentations en sol en conditions extérieures ont été menées. La terre a été contaminée artificiellement en Cd, Ni et Zn avant la première culture et trois cycles de culture complets ont été menés. Des échantillonnages des parties aériennes ont été opérés régulièrement. Les divers stades phénologiques ont été décrits. Les concentrations en Cd, Ni et Zn tendent à diminuer au cours du temps. Les métaux prélevés ont un comportement similaire et se répartissent uniformément dans les différents tissus. Les quantités maximales de métaux dans les parties aériennes se retrouvent à environ 2000 à 2100 °Cj. L'influx racinaire, calculé par le modèle de Barber-Cushman, apparaît comme très faiblement décroissant au cours du temps. L'utilisation d'un modèle mécaniste pour prédire l'accumulation produit des résultats plus éloignés des quantités mesurées qu'une prédiction grâce aux facteurs de bioconcentration.*

4.1 Introduction

Il existe des travaux concernant des cultures de *Noccaea caerulea* en conditions extérieures (Brown *et al.* 1995 ; Li *et al.* 1996 ; Lombi *et al.* 2000 ; Robinson *et al.* 1998) mais aucun ne s'est intéressé à la phénologie de *Noccaea caerulea* et à la dynamique des métaux au cours de sa croissance dans des conditions non-contrôlées sur un cycle de vie complet. L'objectif du travail présenté dans ce chapitre est donc de décrire la phénologie de la plante, sa cinétique de croissance et d'accumulation du Cd, Ni et Zn dans les conditions climatiques non-contrôlées et de comparer ces dernières à ce qui a été observé préalablement en conditions contrôlées. Nous examinerons également la possibilité de prévoir l'accumulation à partir des facteurs de bioconcentration déterminés en aéroponie et d'un modèle mécaniste de prélèvement racinaire.

4.2 Matériel et méthodes

4.2.1 Cultures

Les cultures en conditions extérieures se sont déroulées comme décrit au paragraphe 2.1.2.2 p. 33. Les trois cultures ont été menées successivement dans les mêmes bacs, avec une pollution initiale par Cd, Ni et Zn et un travail du sol très superficiel entre chaque culture, de façon à ne pas modifier le profil de contamination. Les graines semées étaient issues de la précédente culture. Un éclaircissement est ensuite réalisé lorsque toutes les graines ont germé, afin de garder une densité de 200 plants au m². Les récoltes ont eu lieu à différents stades de développement. Pour les cultures n et n+2, il n'a pas été possible de réaliser d'échantillonnage avant l'hiver. Nous disposons d'un échantillonnage avant vernalisation uniquement pour la culture n+1, à 1108 °Cj.

4.2.2 Modélisation

Le prélèvement du Cd a été modélisé grâce au modèle initialement conceptualisé par Barber, Nye, Marriot et Cushman (Barber et Cushman 1981 ; Barber 1962 ; Nye et Marriot 1969) dans une version développée par Custos (2012) sur Matlab (Release 2007a). Ce modèle se fonde sur deux processus, le transport radial de soluté du milieu poreux vers la racine, en prenant en compte la diffusion et la convection et le prélèvement racinaire de soluté, qui peut être décrit par une fonction de Michaelis-Menten. Il place l'offre du sol au premier plan de la représentation du transfert sol-plante, la demande de la plante étant formalisée comme une condition limite du système sol-racine (rhizosphère) considéré. La longueur racinaire a ici été estimée d'après les résultats de Perriguy (2006) obtenus sur des cultures de *N. caerulea* en terre. Le ratio $\frac{\text{Longueur racinaire}}{\text{Biomasse aérienne}}$ de Perriguy (2006) a ensuite été appliqué aux données de biomasses aériennes

obtenues ici en cultures extérieures et un modèle exponentiel a été ajusté sur ces données pour simuler la croissance des racines en fonction du temps jusqu'à la date de la mesure du prélèvement. La fonction de croissance de la longueur racinaire retenue ici est donc $\lambda(t) = L_0 \cdot \exp(cr \cdot t)$ avec $cr = 2.3293^{-7}$.

Les différents paramètres utilisés dans le modèle sont rassemblés dans le tableau 4.1.

TABLEAU 4.1 – Paramètres utilisés dans le modèle de prélèvement racinaire.

Symbole	Définition	Unité
θ	Humidité volumétrique	$\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$
C_i	Concentration initiale de Cd en solution	mol m^{-3}
b	Pouvoir tampon de Cd : $\frac{\text{Cd échangeable (mol m}^{-3} \text{ de sol)}}{\text{Cd en solution (mol m}^{-3} \text{ de solution)}}$	$\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$
D_l	Coefficient de diffusion de Cd dans l'eau libre	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$
D^*	Coefficient de diffusion de Cd libre dans la solution du sol. $D^* = \theta^{3/2} D_l$	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$
V	Volume du milieu	m^3
L_0	Longueur racinaire totale initiale dans la terre	m
L_f	Longueur racinaire totale finale, mesurée pour chaque plante	m
r_0	Rayon racinaire moyen	m
r_1	Épaisseur de la zone influencée par la racine	m
I_{max}	Influx maximal de Cd	$\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
K_m	Constante de Michaelis-Menten	mol m^{-3}
t_f	Durée de simulation	s
β	Taux de croissance racinaire	m s^{-1}

4.3 Résultats

4.3.1 Évolution des conditions de culture extérieures

Les conditions de culture auxquelles ont été soumis les plants de *Noccaea caerulescens* en extérieur pendant trois ans (Figure 4.1) étaient relativement proches. Sur les trois années, les cumuls des précipitations ont été très proches (Figure 4.1[b]) mais leurs répartitions le long de l'année de culture n'ont pas suivi le même profil (Figure 4.1[a]). La première et deuxième année de culture ont subi des précipitations similaires jusqu'au 110^e jour de culture, puis la deuxième année a eu un début d'hiver plus arrosé que la première année. La troisième année de culture a subi un déficit en précipitations dès l'installation de la culture et est restée l'année la moins arrosée. Concernant les températures, les trois cultures ont des profils plus proches, la première année ayant été sensiblement plus froide que les autres. La culture n+2 est celle qui a bénéficié des températures les plus clémentes. Les cultures n'ont subi aucune concurrence d'adventices

du fait de la toxicité du sol qui empêche la levée des autres espèces. Elles n'ont été victime d'aucune pathologie évidente, ni d'attaque d'herbivore.

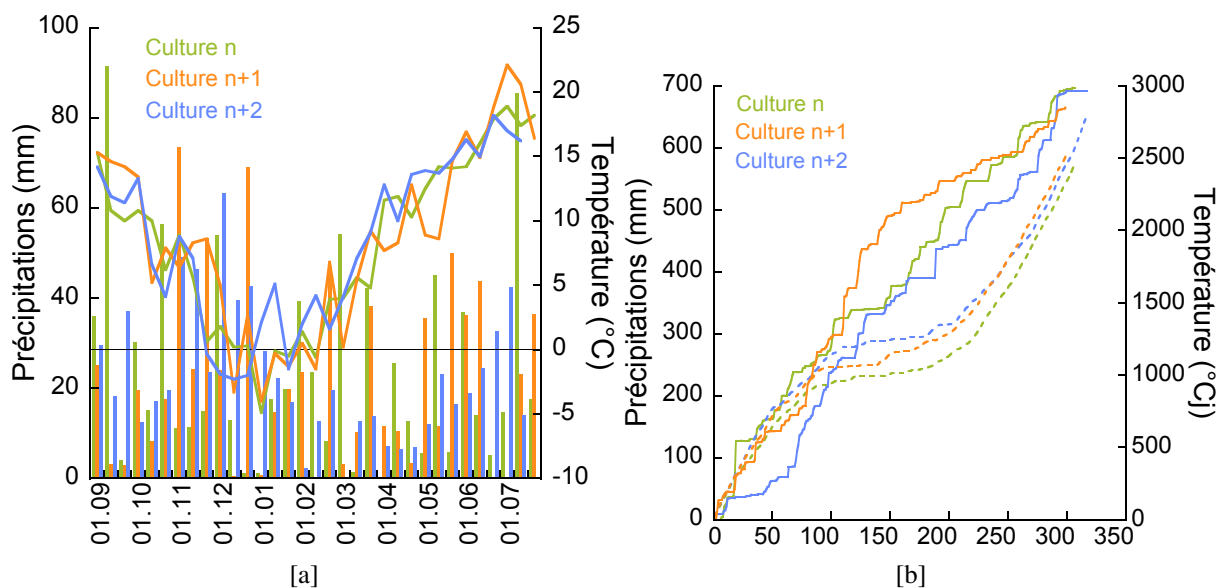




FIGURE 4.1 – Suivi des températures et précipitations sur les trois années de culture de *Nocca caerulea* en bacs extérieurs. Représentation par décade (a) des précipitations (barres) et de la température (courbe) ainsi qu'en cumulé (b) des précipitations (lignes continues) et de la température (lignes en pointillés).

4.3.2 Croissance des plantes en conditions extérieures

4.3.2.1 Stades phénologiques

L'apparition des différents stades phénologiques a été suivie au printemps pendant les trois années de culture (Tableau 4.3). Les stades repères ont été déterminés par analogie avec ceux du colza (Cetiom 2009) et situés dans le temps (Figure 4.2). Les stades qui peuvent être distingués sont le stade cotylédonaire (0-400 °Cj), la formation de la rosette (400-1140 °Cj), la montaison (1140-1240 °Cj), les boutons accolés (1240-1400 °Cj), les boutons séparés (1400-1500 °Cj), la floraison (1500-1600 °Cj), les siliques I (1600-1650 °Cj), II (1650-1800 °Cj), III (1800-1950 °Cj) et IV (1950-2100 °Cj) et la déhiscence (à partir de 2100 °Cj). *Nocca caerulea* étant une espèce bisannuelle, la plupart des plantes meurent après la fructification.

TABLEAU 4.3 – Stades repères chez *Noccaea caerulescens* et périodes d'apparition de ces stades dans le Nord-Est de la France en plaine.

	<p>A l'automne</p> <p>Stade cotylédonaire</p> <p>Pas de feuille "vraie". Seuls les feuilles cotylédonaire sont visibles.</p> <p>Levée à 400 °Cj, correspondant à 25 jours après le semis.</p> <p>Formation de la rosette</p> <p>Apparition des feuilles. Absence de vraie tige et de bourgeon axillaire.</p>
	<p>Au printemps</p> <p>Montaison</p> <p>Reprise de la végétation. Apparition de nouvelles feuilles. Naissance du bourgeon floral.</p> <p>Boutons accolés</p> <p>Boutons floraux accolés, encore cachés par les feuilles terminales.</p> <p>Apparition de ce stade début mars.</p>

**Boutons séparés**

Les pédoncules floraux s'allongent et les inflorescences sont dégagées des feuilles terminales.

Apparition de ce stade fin mars.

Floraison

Les fleurs sont ouvertes. Allongement de la hampe florale.

Apparition de ce stade première moitié d'avril.

Siliques I

Les siliques se forment, elles représentent moins de 50% de la hampe florale principale.

Apparition de ce stade mi-avril.

Siliques II

Les siliques sont bien formées, elles représentent entre 50 et 100 % de la hampe florale principale.

Apparition de ce stade deuxième moitié d'avril.

**Siliques III**

La hampe florale principale est composée uniquement de siliques.

Apparition de ce stade fin avril-début mai.

Siliques IY

Les siliques se colorent et deviennent matures.

Apparition de ce stade mi-mai.

Déhiscence

Déhiscence des siliques et libération des graines. Dessèchement des feuilles.

Apparition de ce stade première moitié de juin.

4.3.2.2 Suivi de la levée

La levée a été suivie lors des deux premières années de culture (Figure 4.3). Lors de ces deux années, la levée a suivi la même évolution temporelle, atteignant un maximum de plantules à ce stade à environ 400 °Cj, soit 25 jours (année n+1) à 30 jours (année n) après le semis.

4.3.2.3 Biomasse aérienne

Les plantes des trois années de culture ont poussé sans montrer de symptôme de toxicité, leur croissance a suivi une fonction logistique, atteignant une biomasse aérienne maximale aux alentours de 2250°Cj (Figure 4.4). Seule la culture n n'a pas subi de diminution de biomasse après l'apparition des siliques. La culture n+1, unique culture à comporter un point de prélèvement avant l'hiver, a subi une légère augmentation de sa biomasse durant la phase hivernale (Ta-

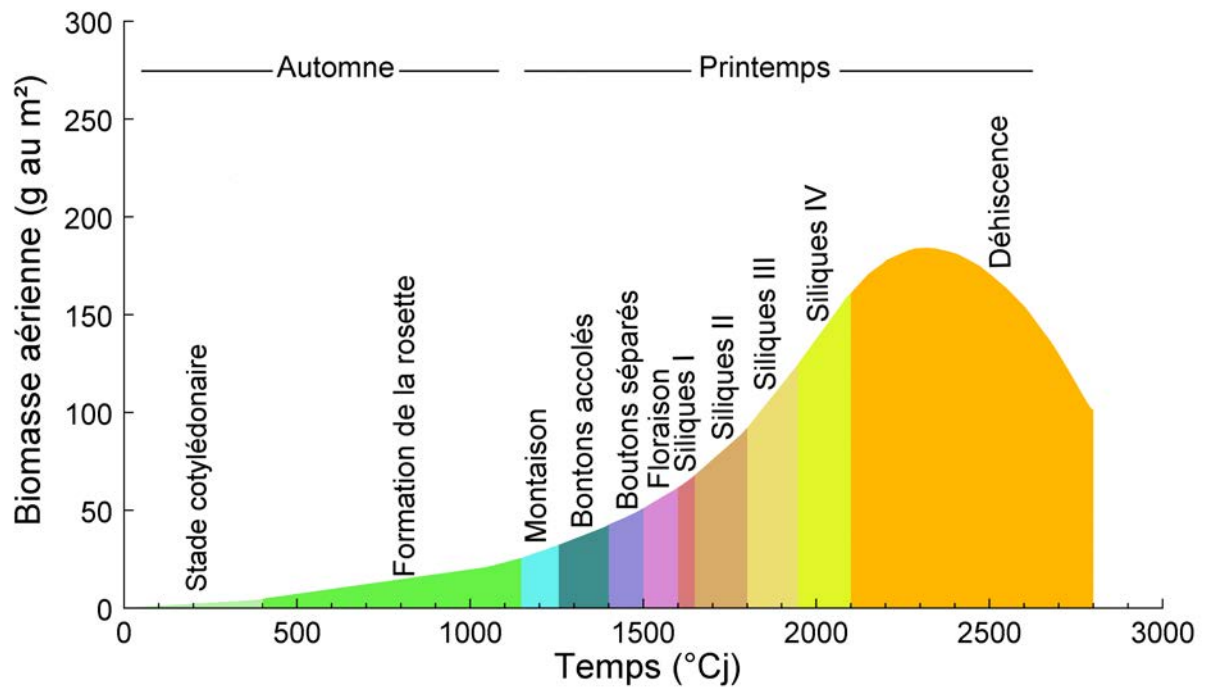


FIGURE 4.2 – Suivi des stades repères de *Noccaea caerulea* au cours d'une saison de culture en degrés jours.

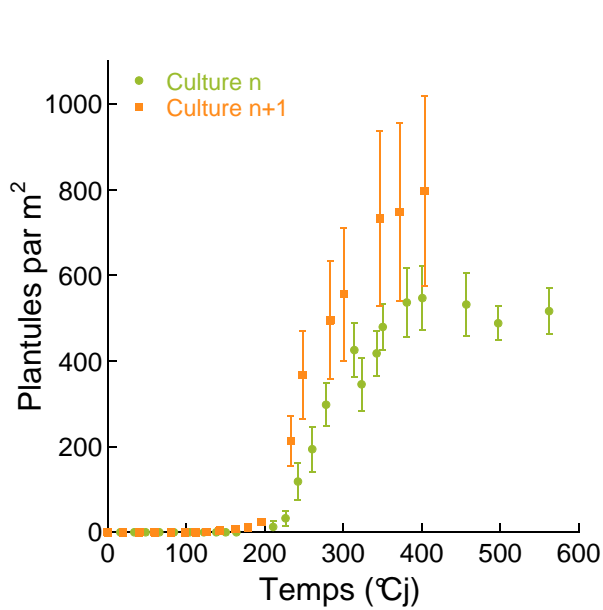


FIGURE 4.3 – Suivi de la levée des plantules en conditions extérieures.

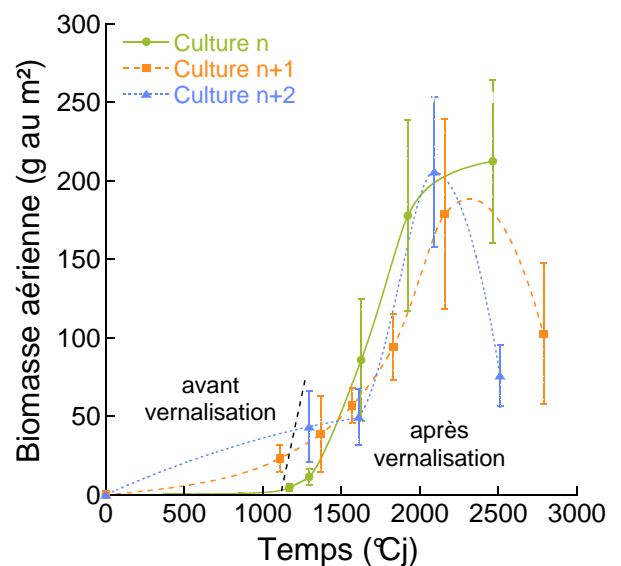


FIGURE 4.4 – Évolution de la biomasse aérienne au cours des trois années de culture en extérieur.

bleau 4.4). La culture n+1 a présenté une biomasse significativement plus faible que la culture n ($p < 0,0001$) pour un temps thermique équivalent. Hormis en début de culture, les plantes de la culture n avaient une biomasse significativement plus développée que les plantes des années qui ont suivi, pour un temps thermique très proche (Figure 4.4). Tout comme ce que l'on avait observé lors des cultures en aéroponie, les plantes ont présenté ici des biomasses qui ont varié considérablement, d'un bac à un autre et d'une plante à une autre.

Si l'on regarde en détail la croissance des différentes parties aériennes, on peut tout d'abord remarquer que la première année de culture n'a pas subi de perte de feuilles basales lors de la maturation des siliques (Figure 4.5), contrairement aux années qui ont suivi (Figures 4.6 et 4.7). Ainsi, les plantes de la 2^e et 3^e année de culture présentaient en fin de culture moins de feuilles basales et de bractées que lors de la 1^{re} année. Il est à souligner que lors de la dernière récolte de la culture n+2, les plantes récoltées étaient à un stade de dessèchement relativement avancé et aucune partie n'a été séparée. Cela explique la présence de «PA» pour parties aériennes (sans distinction des différents organes aériens) dans la figure 4.7. Lors de cette 3^e année de culture, les plantes ont présenté une part plus importante de bractées que les plantes des années précédentes. On peut également remarquer que les plantes des années de culture n+1 et n+2 ont présenté une proportion de fleurs légèrement plus importante que les plantes de la première année de culture. Cela se traduit, pour la deuxième année de culture, par une part plus importante de siliques et graines.

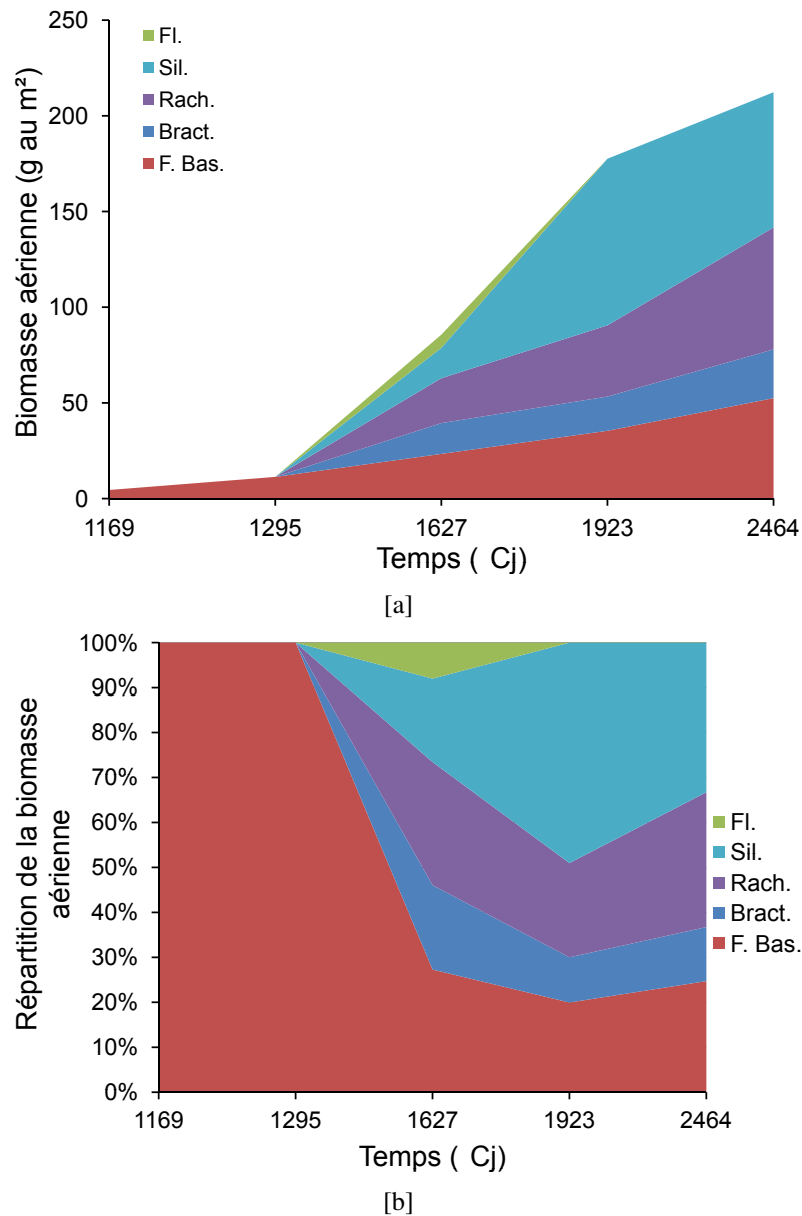


FIGURE 4.5 – Répartition de la biomasse aérienne de *Noccaea caerulescens* entre les différentes parties lors de la première année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse aérienne. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

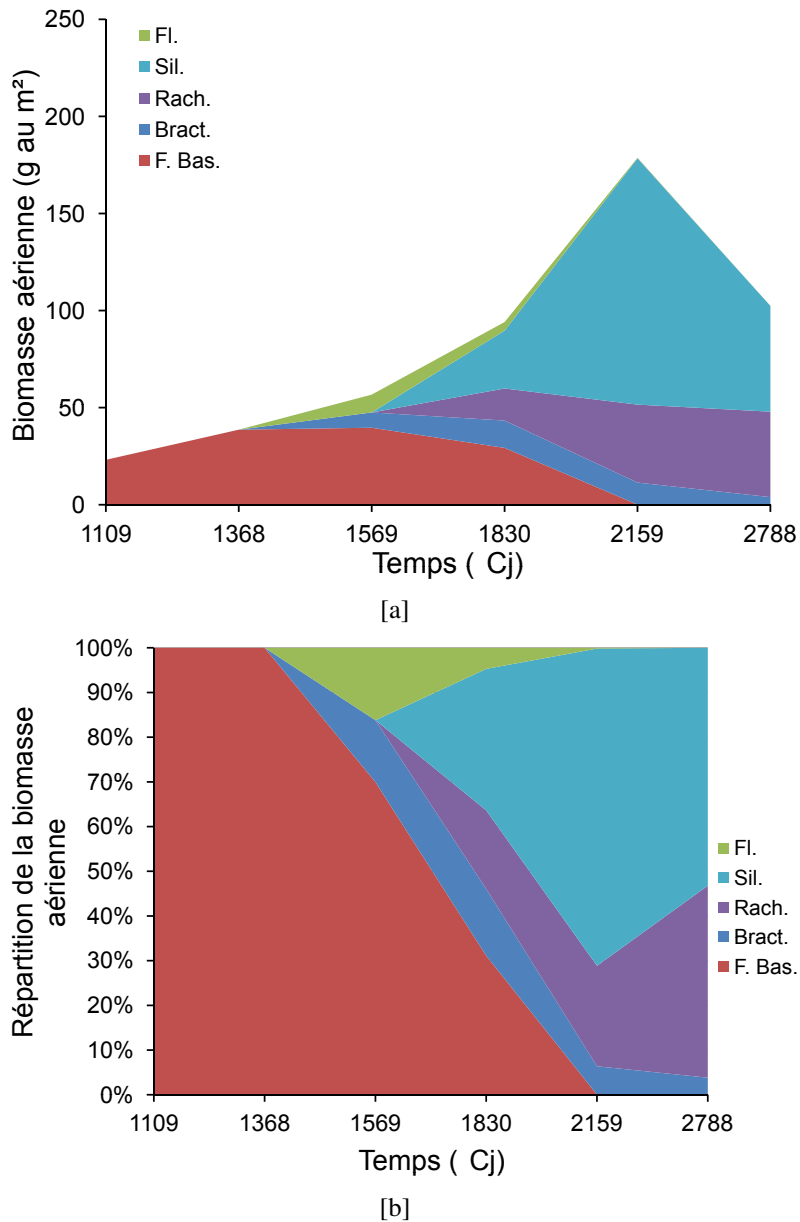


FIGURE 4.6 – Répartition de la biomasse aérienne de *Noccaea caerulea* entre les différentes parties lors de la deuxième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse aérienne. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

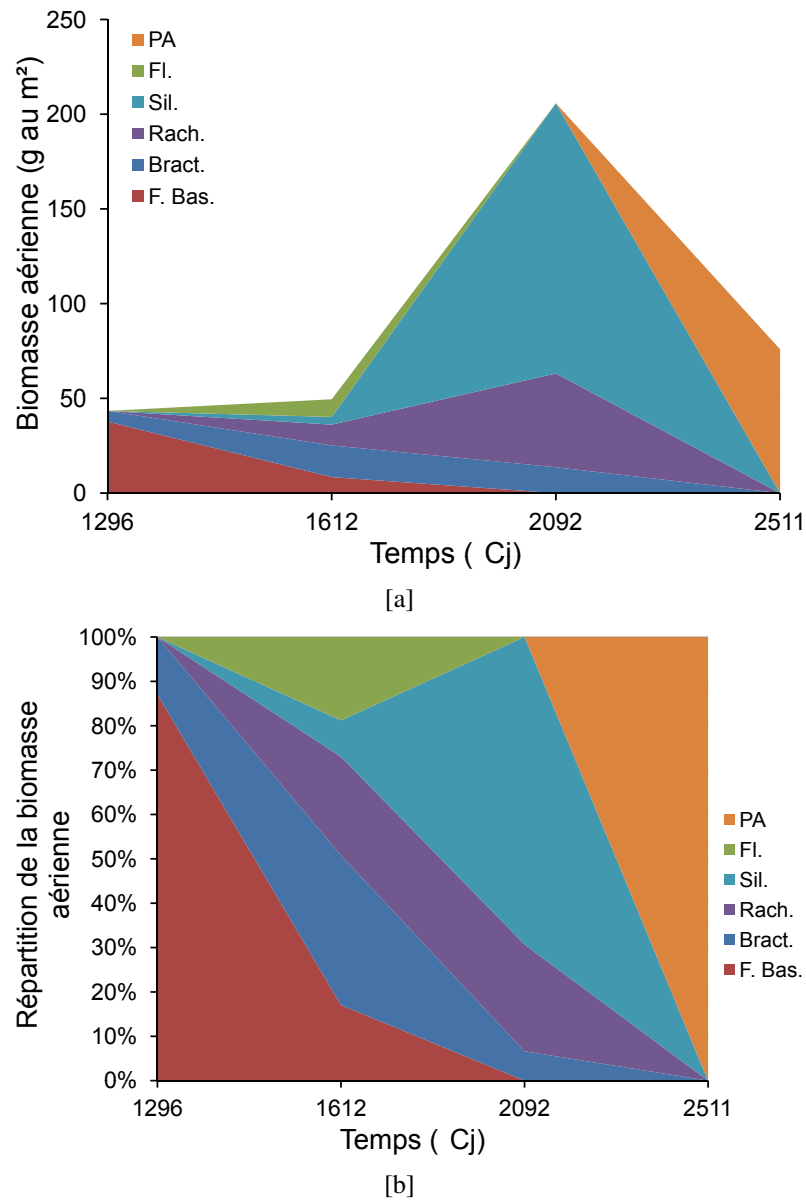


FIGURE 4.7 – Répartition de la biomasse aérienne de *Noccaea caerulescens* entre les différentes parties lors de la troisième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à la biomasse aérienne. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.), les fleurs (Fl.) et les parties aériennes totales pour la dernière récolte (PA).

4.3.2.4 Surface aérienne

La culture n a présenté la surface foliaire par plante la plus élevée et n'a pas subi de diminution de la surface de ses feuilles en fin de culture, contrairement aux cultures des années suivantes (Figure 4.8). Hormis aux environs de 1350°Cj, les plantes de la première année de culture ont montré une surface foliaire plus développée que les années suivantes. De même que la biomasse aérienne, la surface foliaire a légèrement augmenté durant la période hivernale pour la culture n+1. Les cultures n+1 et n+2 ne présentaient aucune feuille basale ou bractée (n+2) ou quasiment (n+1) après 2500°Cj (Figure 4.8). On peut remarquer qu'il existe une relation

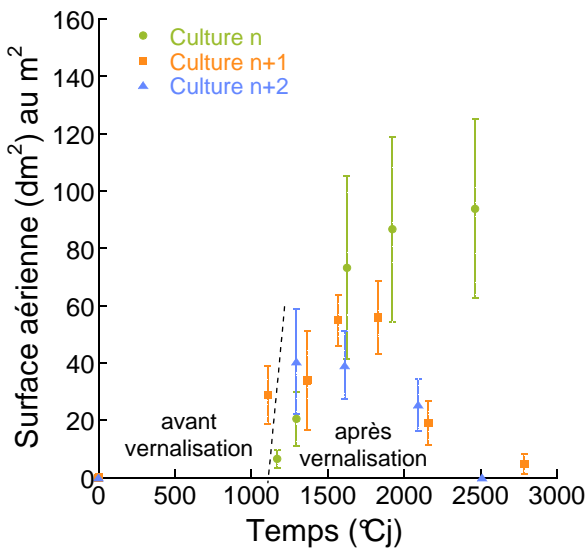


FIGURE 4.8 – Évolution de la surface foliaire au cours des trois années de culture en extérieur.

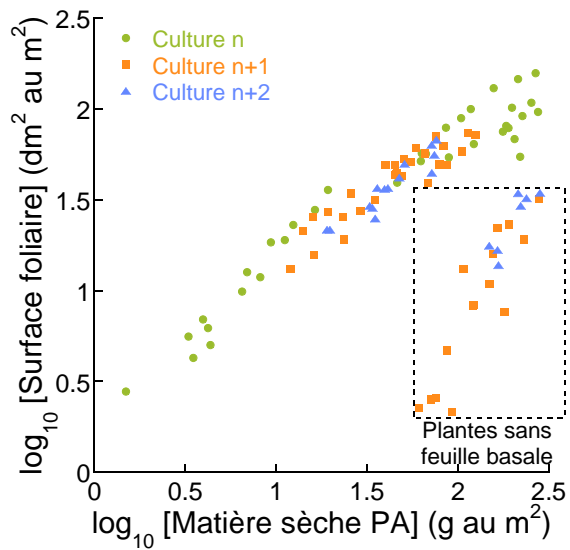


FIGURE 4.9 – Relation entre biomasse aérienne et surface foliaire sur trois années de culture en extérieur.

linéaire entre surface des feuilles (feuilles de la rosette et bractées) et biomasse des parties aériennes (Figure 4.9). Cependant, les plantes des cultures n+1 et n+2 récoltées après 2000°Cj (apparaissant en encadré dans la figure 4.9) se distinguent totalement des autres plantes, avec un rapport surface aérienne/biomasse différent. Le point commun entre ces dernières plantes est qu'elles sont dépourvues de feuilles au niveau de la rosette.

4.3.3 Concentrations en Cd, Ni et Zn

Comme la matière sèche, les concentrations en Cd, Ni et Zn ont varié considérablement d'un bac à l'autre, comme le reflètent les écart-types des valeurs de concentration (Figure 4.10). Les concentrations en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de *Noccaea caerulescens* ont subi des variations significatives au cours du temps pendant les trois années de culture ($p \leq 0,0001$). En effet, les plantes étaient moins concentrées en Cd et Zn à la sortie de l'hiver (reprise de la végétation) que lors de la récolte qui a suivi ($p \leq 0,005$) (Figure 4.10[a] et 4.10[c]), multipliant

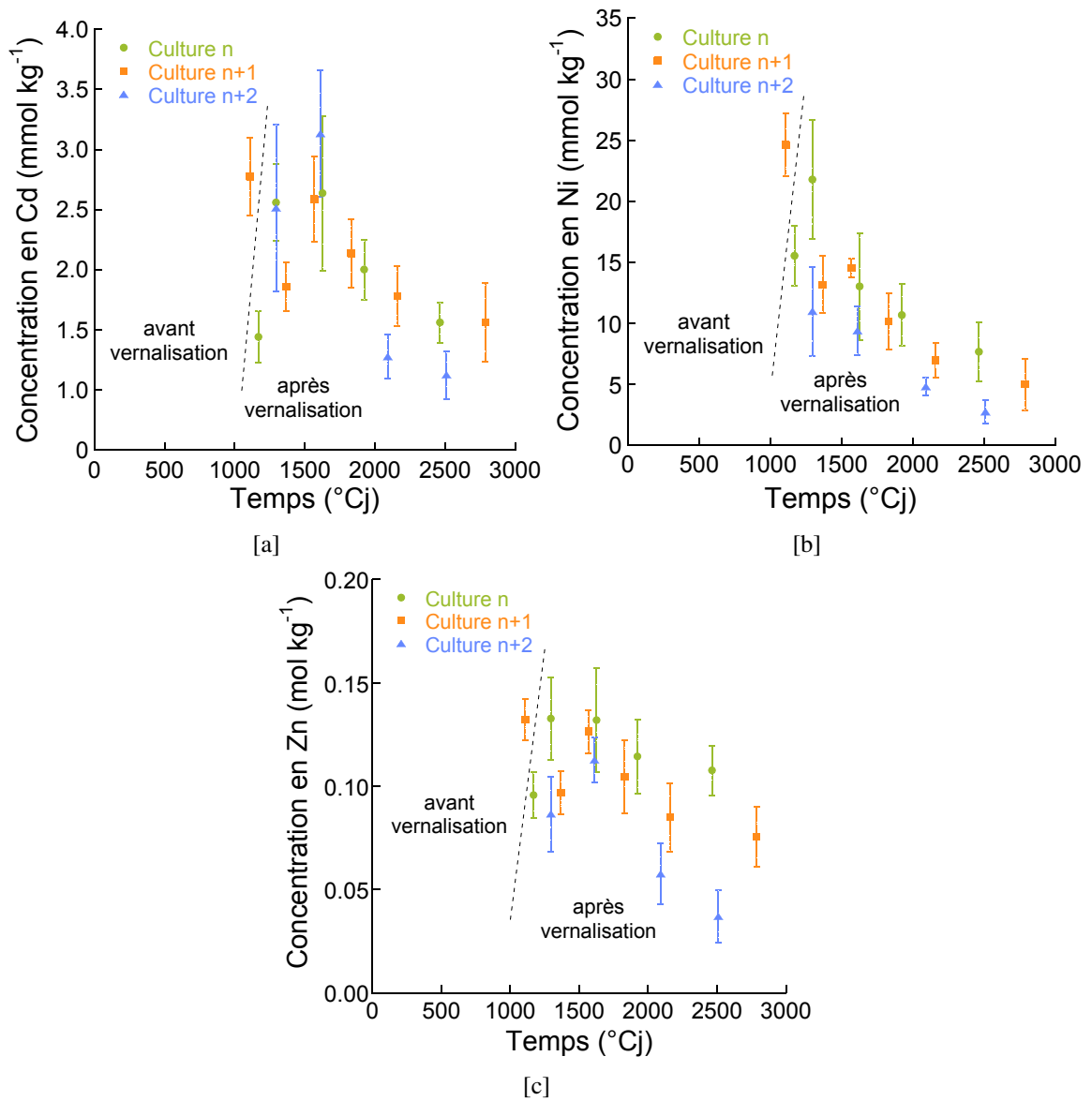


FIGURE 4.10 – Concentrations en Cd (a), Ni (b) et Zn (c) dans les parties aériennes de *Nocca caerulea* au cours des trois années de culture en extérieur. Les valeurs présentées sont les moyennes et les écart-types sur sept bacs.

par 1,3 à 2,2 leur concentration en Cd et par 1,3 leur concentration en Zn (Tableau 4.4). Cet état étant moins évident pour le Ni (Figure 4.10[b]). Les concentrations en ces éléments ont ensuite diminué au cours de la maturation de la plante. Une diminution de 50 % à 75 % de la concentration en cadmium est intervenue entre la concentration la plus élevée et le stade déhiscence. La diminution de la concentration en Ni était encore plus importante, les plantes ayant subi une diminution de 65 % à 75 % de leur concentration en Ni (Tableau 4.4). Cependant, on peut noter que les trois éléments ont suivi la même tendance. Lors de la deuxième année de culture (n+1) (seule année avec une récolte avant l'hiver), on remarque que les concentrations les plus fortes sont retrouvées avant l'hiver ($p \leq 0,0001$).

Dans le cas de Cd et Ni, les différentes parties aériennes présentent des concentrations plutôt similaires (Tableau 4.5), y compris dans les graines récoltées lors du stade déhiscence (Cd : $p = 0,083$, ns entre graines et parties aériennes à 2788 °Cj). Les rachis semblent être les parties les moins concentrées en Cd et Ni, suivies des siliques et graines (Figure 4.11). Le Zn est légèrement plus concentré dans les feuilles (feuilles basales et bractées) que dans les hampes florales. Les graines sont les organes les moins concentrés en Zn ($p \leq 0,0001$).

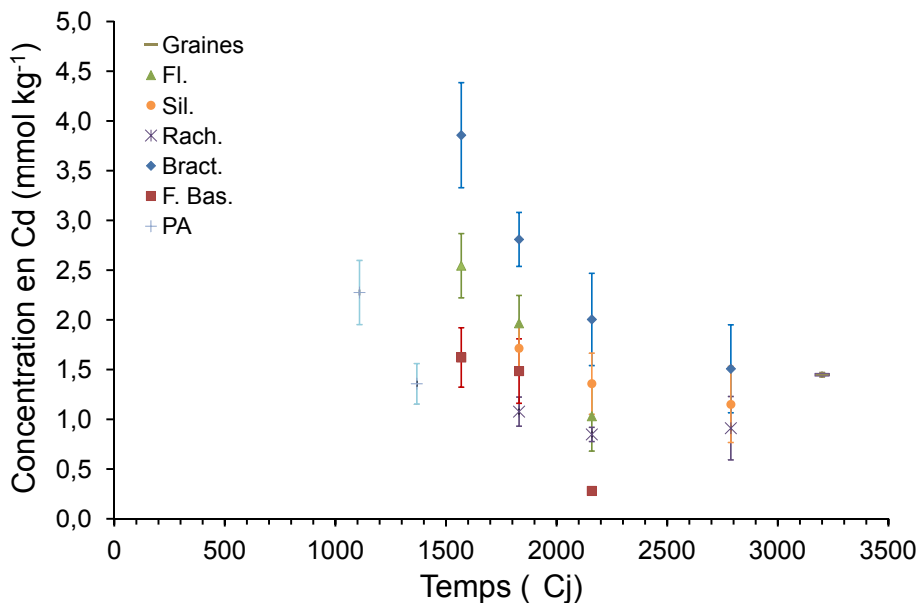


FIGURE 4.11 – Concentrations en Cd dans les différents organes de *Noccaea caerulea* au cours du deuxième cycle de culture en extérieur. Les valeurs présentées sont les moyennes et les écart-types sur sept bacs.

TABLEAU 4.4 – Valeurs moyennes de sept répétitions de la biomasse, de la surface aérienne, des concentrations en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de *Noctcaea caerulea* cultivés en bacs extérieurs, suivies chacune de leur écart-type respectif. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

Année de culture	Âge (°Cj)	Âge (j)	Biomasse (g au m ²)	Surface (dm ² au m ²)	[Cd] (mol kg ⁻¹)	[Ni] (mol kg ⁻¹)	[Zn] (mol kg ⁻¹)
n	1169	205	4,51 ± 2,21 a	6,51 ± 3,22 a	9,41E-04±2,12E-04 d	1,55E-02±2,42E-03 bc	9,57E-02±1,12E-02 b
	1295	224	11,35 ± 5,28 b	20,50± 9,54 b	2,06E-03±3,22E-04 ab	2,18E-02±4,85E-03 c	1,33E-01±2,00E-02 a
	1627	252	85,69 ±38,93 c	73,20±31,96 c	2,14E-03±6,43E-04 ab	1,30E-02±4,37E-03abc	1,32E-01±2,51E-02 a
	1923	272	177,60±60,79 d	86,71±32,26 c	1,50E-03±2,50E-04 bc	1,07E-02±2,52E-03 ab	1,14E-01±1,78E-02ab
	2464	307	212,33±51,92 d	93,76±31,21 c	1,06E-03±1,68E-04 c	7,67E-03±2,39E-03 a	1,08E-01±1,20E-02ab
n+1	1109	95	23,14 ± 8,55 a	28,77±10,07ab	2,27E-03±3,23E-04 d	2,46E-02±2,56E-03 d	1,32E-01±9,98E-03 a
	1368	205	38,67 ±24,04ab	33,91±17,33ab	1,36E-03±2,03E-04bcd	1,32E-02±2,33E-03bcd	9,70E-02±1,05E-02cd
	1569	228	56,71 ±11,23bc	54,91± 8,79 a	2,09E-03±3,56E-04 cd	1,45E-02±7,55E-04 cd	1,26E-01±1,03E-02ab
	1830	253	94,11 ±20,93cd	55,89±12,74 a	1,63E-03±2,83E-04abc	1,02E-02±2,30E-03abc	1,05E-01±1,76E-02bc
	2159	282	178,72±60,60cd	19,10± 7,65 b	1,28E-03±2,48E-04 ab	6,96E-03±1,42E-03 ab	8,50E-02±1,65E-02cd
n+2	2788	317	102,43±44,86 d	4,67 ± 3,38 c	1,06E-03±3,27E-04 a	5,01E-03±2,11E-03 a	7,55E-02±1,44E-02 d
	1296	202	43,37 ±22,73 a	40,49±18,33 a	2,01E-03±6,93E-04 a	1,10E-02±3,65E-03 a	8,66E-02±1,81E-02 b
	1612	234	49,52 ±17,61ab	39,18±11,85 a	2,63E-03±5,28E-04 a	9,38E-03±1,98E-03 a	1,13E-01±1,09E-02 a
	2092	272	205,75±47,80 b	25,45± 9,05 a	7,77E-04±1,84E-04 b	4,81E-03±7,12E-04 ab	5,76E-02±1,47E-02cd
	2511	299	75,90 ±19,62 c	0,00 ± 0,00 b	6,24E-04±1,98E-04 b	2,74E-03±9,67E-04 b	3,70E-02±1,29E-02cd

TABLEAU 4.5 – Suivi des concentrations en Cd, Ni et Zn dans les différentes parties aériennes de *Noccaea caerulescens* cultivés en bacs extérieurs, suivies chacune de leur écart-type respectif.

Partie	Année	Âge (°Cj)	[Cd] (mol kg ⁻¹)	[Ni] (mol kg ⁻¹)	[Zn] (mol kg ⁻¹)
Feuilles basales	n	1627	2,52E-03±8,41E-04	1,91E-02±5,53E-03	1,88E-01±4,59E-02
		1923	2,01E-03±3,82E-04	1,71E-02±4,09E-03	1,67E-01±2,46E-02
		2464	1,61E-03±2,22E-04	1,45E-02±2,99E-03	1,62E-01±2,50E-02
	n+1	1569	1,62E-03±2,99E-04	1,39E-02±5,73E-04	1,39E-01±1,38E-02
		1830	1,49E-03±3,24E-04	1,11E-02±1,46E-03	1,43E-01±2,19E-02
		2159	2,80E-04 -	7,34E-03 -	2,63E-01 -
	n+2	1296	2,01E-03±7,14E-04	1,12E-02±3,80E-03	9,07E-02±1,98E-02
		1612	2,33E-03±5,92E-04	8,93E-03±2,24E-03	1,23E-01±6,34E-03
	Bractées	n	1627	2,57E-03±9,38E-04	1,93E-02±9,95E-03
1923			1,60E-03±4,05E-04	1,89E-02±4,16E-03	2,35E-01±2,28E-02
2464			9,54E-04±2,62E-04	1,09E-02±3,73E-03	2,15E-01±2,79E-02
n+1		1569	3,86E-03±5,28E-04	2,06E-02±2,16E-03	1,52E-01±8,33E-03
		1830	2,81E-03±2,71E-04	1,80E-02±3,01E-03	1,65E-01±1,01E-02
		2159	2,00E-03±4,64E-04	1,12E-02±2,12E-03	1,85E-01±3,34E-02
		2788	1,51E-03±4,42E-04	9,61E-03±3,96E-03	1,42E-01±2,28E-02
n+2		1296	2,05E-03±6,53E-04	1,01E-02±3,02E-03	6,11E-02±1,19E-02
		1612	3,42E-03±8,15E-04	1,28E-02±2,91E-03	1,58E-01±1,22E-02
	2092	1,12E-03±5,05E-04	7,95E-03±1,41E-03	1,62E-01±3,03E-02	
Fleurs	n	1627	2,24E-03±7,78E-04	1,03E-02±3,45E-03	6,96E-02±2,10E-02
		1569	2,54E-03±3,23E-04	1,18E-02±1,29E-03	5,04E-02±6,43E-03
	n+1	1830	1,97E-03±2,80E-04	1,17E-02±2,38E-03	7,81E-02±1,46E-02
		2159	1,03E-03±3,50E-04	4,82E-03±9,45E-04	5,28E-02±1,97E-02
		1612	2,65E-03±5,11E-04	9,73E-03±2,16E-03	5,68E-02±5,06E-03
Rachis	n	1627	1,45E-03±4,42E-04	4,40E-03±1,96E-03	7,47E-02±1,68E-02
		1923	9,43E-04±1,12E-04	2,13E-03±5,32E-04	5,06E-02±1,04E-02
		2464	4,66E-04±7,09E-05	1,66E-03±3,72E-04	6,23E-02±8,58E-03
	n+1	1830	1,08E-03±1,47E-04	2,17E-03±3,60E-04	6,02E-02±6,63E-03
		2159	8,48E-04±7,17E-05	1,34E-03±3,17E-04	4,71E-02±1,20E-02
		2788	9,11E-04±3,19E-04	2,88E-03±1,66E-03	7,59E-02±1,85E-02
		1612	1,99E-03±4,96E-04	3,30E-03±7,09E-04	8,16E-02±1,45E-02
n+2	2092	5,64E-04±1,07E-04	9,62E-04±2,89E-04	2,78E-02±4,88E-03	
	Siliques	n	1627	2,14E-03±7,93E-04	1,24E-02±5,05E-03
1923			1,52E-03±2,57E-04	1,00E-02±1,82E-03	9,59E-02±2,05E-02
2464			1,24E-03±2,96E-04	6,68E-03±2,26E-03	7,45E-02±1,38E-02
n+1		1830	1,71E-03±2,20E-04	1,14E-02±2,62E-03	9,14E-02±1,57E-02
		2159	1,36E-03±3,07E-04	8,37E-03±1,70E-03	8,84E-02±1,76E-02
	2788	1,15E-03±3,83E-04	6,45E-03±2,61E-03	6,99E-02±1,75E-02	
n+2	1612	2,23E-03±5,56E-04	1,13E-02±2,44E-03	1,05E-01±1,20E-02	
	2092	8,17E-04±2,01E-04	5,87E-03±9,37E-04	5,81E-02±1,64E-02	
Graines	n		1,41E-03±3,67E-05	5,41E-03±5,25E-04	6,05E-03±1,02E-04
	n+1		1,45E-03±2,26E-05	6,49E-03±1,11E-04	6,85E-03±1,06E-04
	n+2		1,38E-03±8,77E-05	5,49E-03±8,90E-04	5,21E-03±5,20E-04

4.3.4 Accumulation du Cd, Ni et Zn

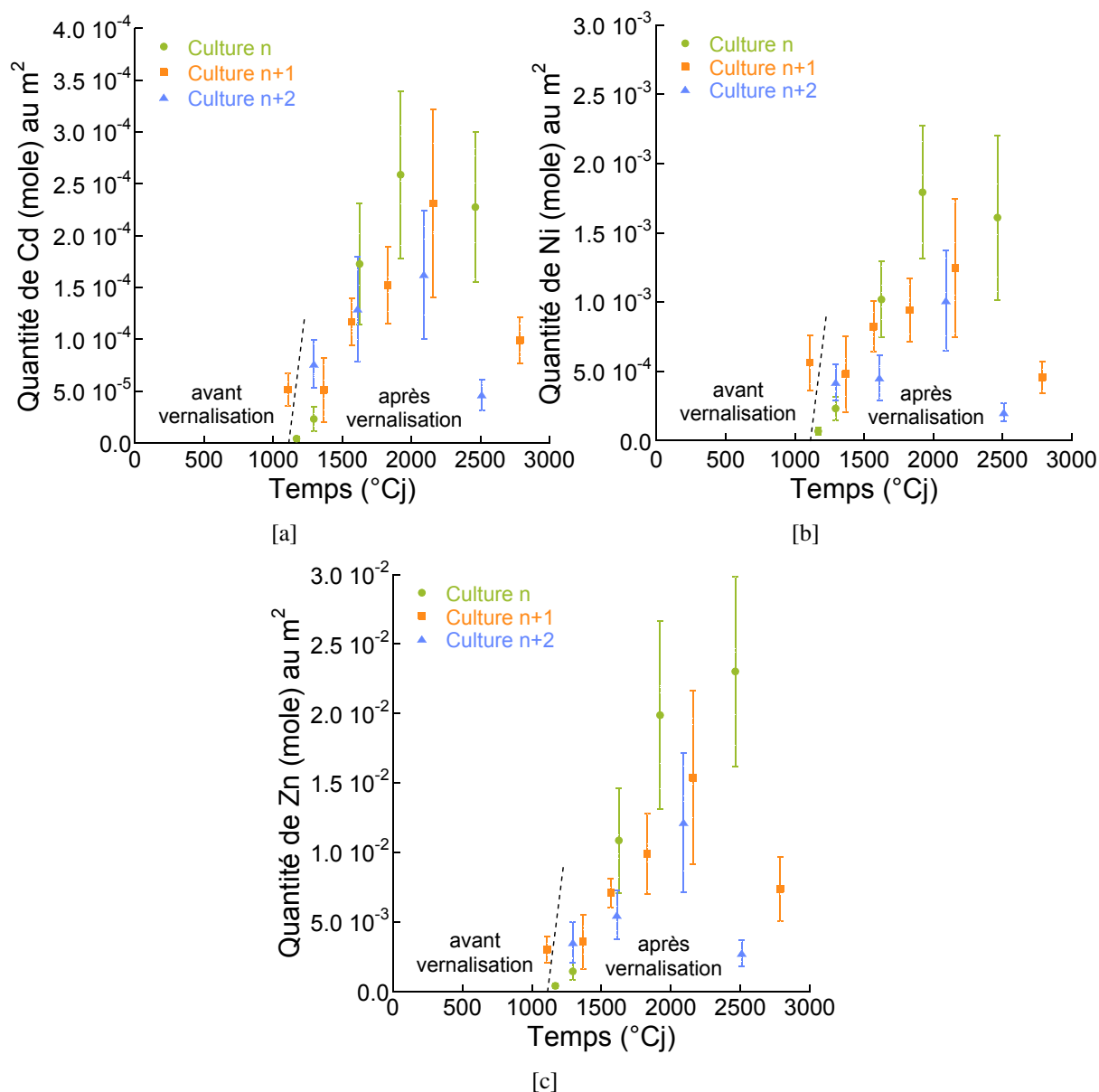


FIGURE 4.12 – Quantités de Cd (a), Ni (b) et Zn (c) accumulés dans les parties aériennes de *Nocca caerulea* au cours des trois années de culture en extérieur. Les valeurs présentées sont les moyennes et les écart-types sur sept bacs.

La quantité de Cd accumulé dans les parties aériennes de *Nocca caerulea* a varié tout au long de la croissance de la plante (Figure 4.12). Lors des trois années de culture, la quantité de Cd a été maximale aux alentours de 2000 °Cj, lorsque les plantes étaient au stade **siliques IV** (Figures 4.12[a], 4.13, 4.14 et 4.15). Cette quantité accumulée dans les parties aériennes a ensuite été plus faible lors du dernier échantillonnage pour les trois cultures, cette baisse étant beaucoup plus marquée pour les cultures n+1 (ns) et n+2 ($p \leq 0,0001$). De même, il est à

noter que la quantité de Cd présente avant et après l'hiver est restée stable. Le Cd accumulé a légèrement différé d'une année à l'autre, selon que la plante soit au début de son cycle de développement ou à la fin. En effet, lors des échantillonnages en début de cycle de végétation, le Cd semble augmenter avec le nombre de cycle, contrairement aux échantillonnages effectués en fin de cycle où la quantité de Cd accumulé semble diminuer avec les cycles de culture (Tableau 4.6).

Le Ni semble suivre la même tendance que le Cd avec des différences peut être moins marquées (Figure 4.12[b]). Le stade déhiscence des siliques est toujours marqué par une quantité moindre que lors des stades précédents (Figures 4.16, 4.17 et 4.18), la première année de culture étant toujours celle où l'on retrouve la quantité maximale de métal dans les parties aériennes. Lors de la deuxième année de culture, nous avons même observé une légère diminution du contenu en nickel entre avant et après l'hiver (ns).

L'accumulation du Zn semble avoir un caractère proche de celle du Cd (Figures 4.12[c], 4.19, 4.20 et 4.21). Une des différences à observer est que la quantité maximale de zinc lors de la première année de culture a été observée lors du dernier échantillonnage, et non aux environs de 2000 °Cj comme pour les autres éléments et cycles de culture.

TABLEAU 4.6 – Valeurs moyennes de sept répétitions de la biomasse, de la surface aérienne, des quantités en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes de *Noctua caerulea* cultivés en bacs extérieurs, suivies chacune de leur écart-type respectif. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes pour un temps thermique proche.

Année de culture	Âge (°Cj)	Biomasse (g au m ²)	Surface (dm ² au m ²)	Quantité de Cd (mole au m ²)	Quantité de Ni (mole au m ²)	Quantité de Zn (mole au m ²)
n	1169	4,51 ± 2,21 a	6,51 ± 3,22 a	4,31E-06±2,23E-06 a	6,80E-05±2,74E-05 a	4,21E-04±1,72E-04a
n+1	1109	23,14 ± 8,55 b	28,77±10,07 b	5,17E-05±1,56E-05 b	5,63E-04±1,99E-04 b	3,02E-03±9,71E-04b
n	1295	11,35 ± 5,28 a	20,50± 9,54 a	2,33E-05±1,16E-05 a	2,32E-04±8,73E-05 a	1,46E-03±6,16E-04a
n+1	1368	38,67 ±24,04 b	33,91±17,33 a	5,13E-05±3,10E-05ab	4,81E-04±2,74E-04 a	3,59E-03±1,97E-03b
n+2	1296	43,37 ±22,73 b	40,49±18,33 a	7,62E-05±2,30E-05 b	4,21E-04±1,33E-04 a	3,53E-03±1,46E-03b
n	1627	85,69 ±38,93 a	73,20±31,96 a	1,73E-04±5,84E-05 a	1,02E-03±2,73E-04 a	1,09E-02±3,77E-03a
n+1	1569	56,71 ±11,23ab	54,91± 8,79 ab	1,17E-04±2,30E-05 a	8,24E-04±1,81E-04 a	7,10E-03±1,05E-03b
n+2	1612	49,52 ±17,61 b	39,18±11,85 b	1,29E-04±5,04E-05 a	4,53E-04±1,61E-04 b	5,51E-03±1,75E-03b
n	1923	177,60±60,79 a	86,71±32,26 a	2,59E-04±8,05E-05 a	1,79E-03±4,80E-04 a	1,99E-02±6,75E-03a
n+1	1830	94,11 ±20,93 b	55,89±12,74 b	1,52E-04±3,72E-05 b	9,43E-04±2,29E-04 b	9,91E-03±2,91E-03b
n+1	2159	178,72±60,60 a	19,10± 7,65 a	2,31E-04±9,10E-05 a	1,25E-03±4,99E-04 a	1,54E-02±6,26E-03a
n+2	2092	205,75±47,80 a	25,45± 9,05 a	1,63E-04±6,19E-05 a	1,01E-03±3,62E-04 a	1,22E-02±4,99E-03a
n	2464	212,33±51,92 a	93,76±31,21 b	2,28E-04±7,24E-05 a	1,61E-03±5,95E-04 a	2,30E-02±6,81E-03a
n+1	2788	102,43±44,86 b	4,67 ± 3,38 ab	9,93E-05±2,22E-05 b	4,58E-04±1,16E-04ab	7,38E-03±2,28E-03b
n+2	2511	75,90 ±19,62 b	0,00 ± 0,00 a	4,66E-05±1,46E-05 b	2,04E-04±6,49E-05 b	2,76E-03±9,39E-04b

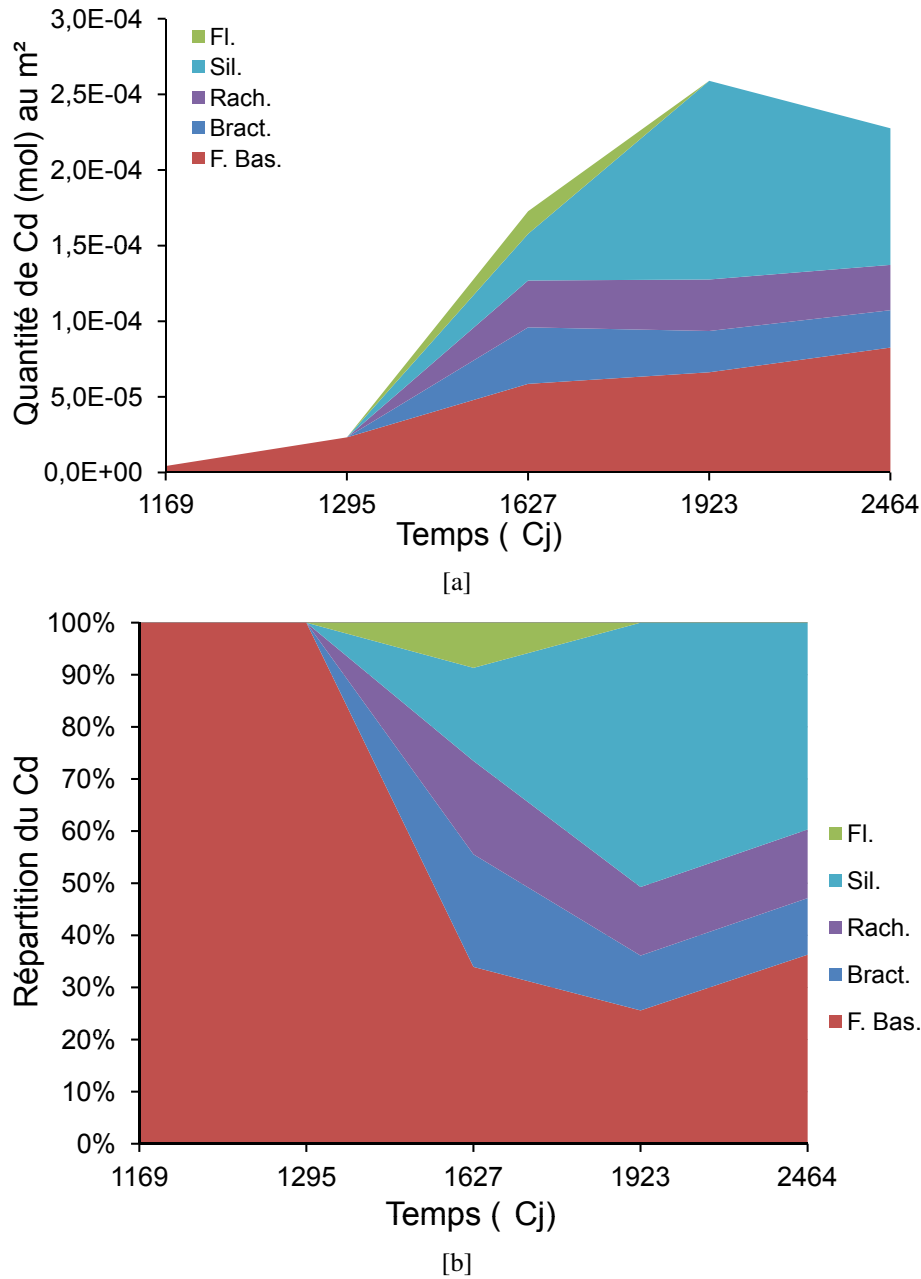


FIGURE 4.13 – Répartition de l'accumulation du Cd chez *Noccaea caerulea* entre les différentes parties lors de la première année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Cd. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

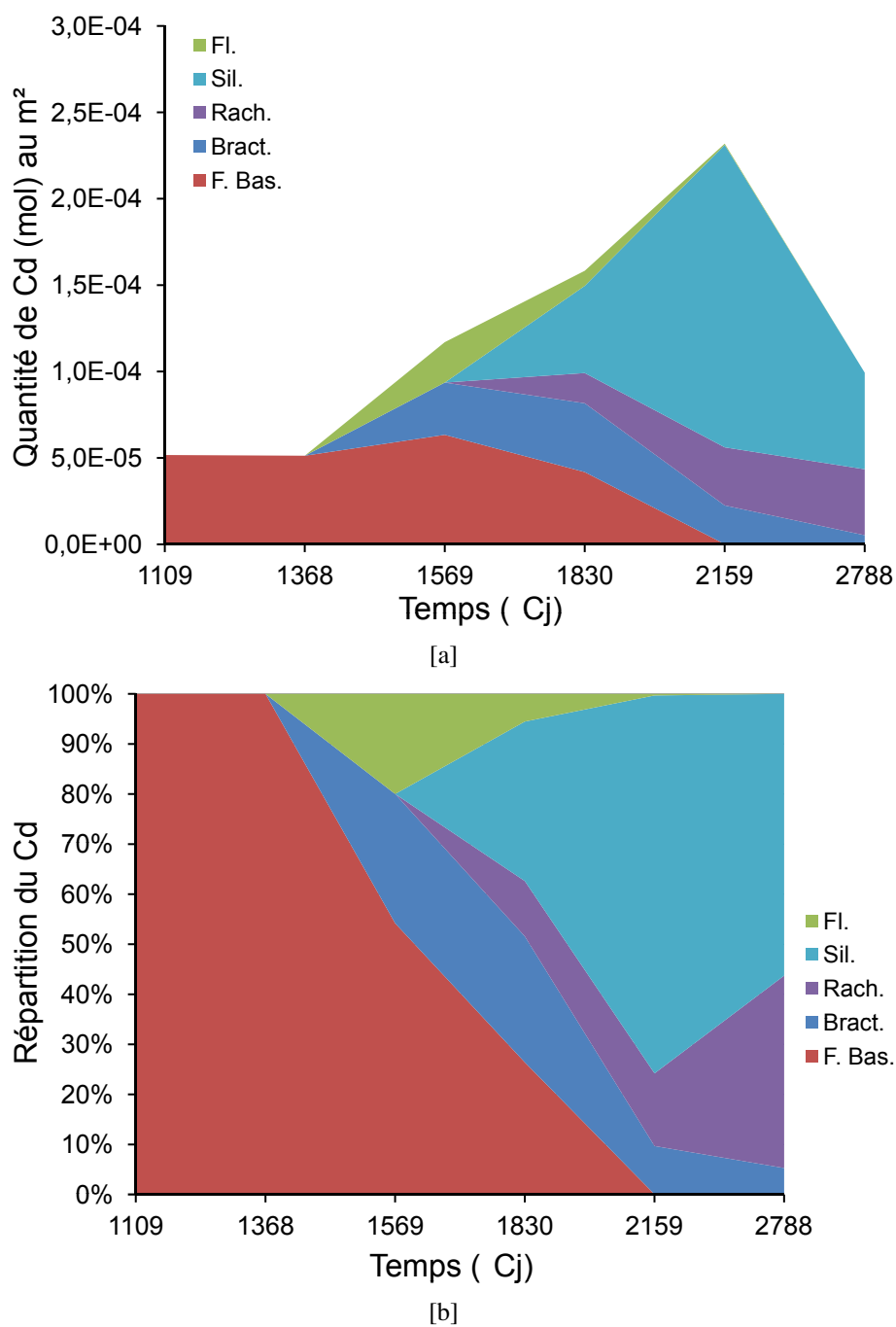
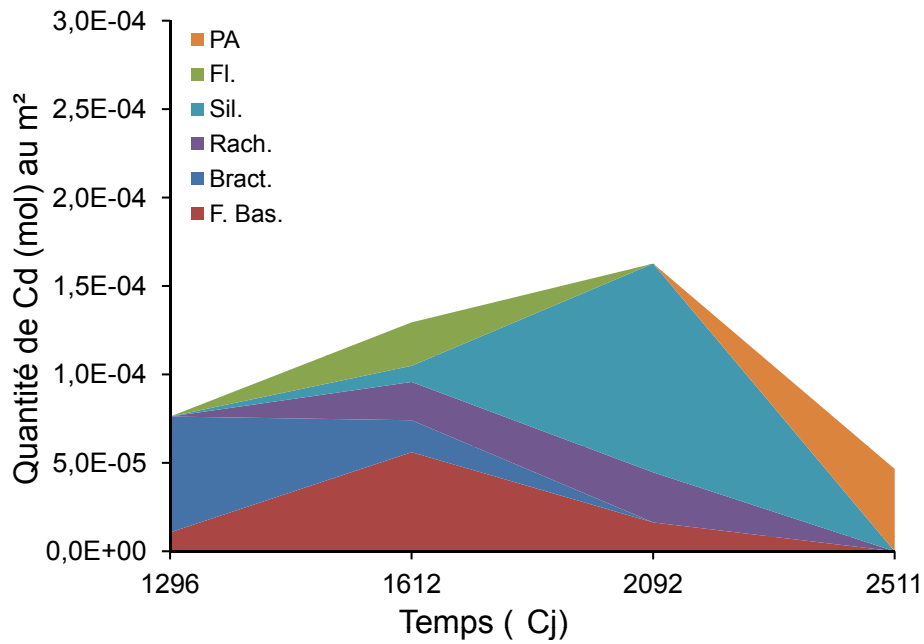
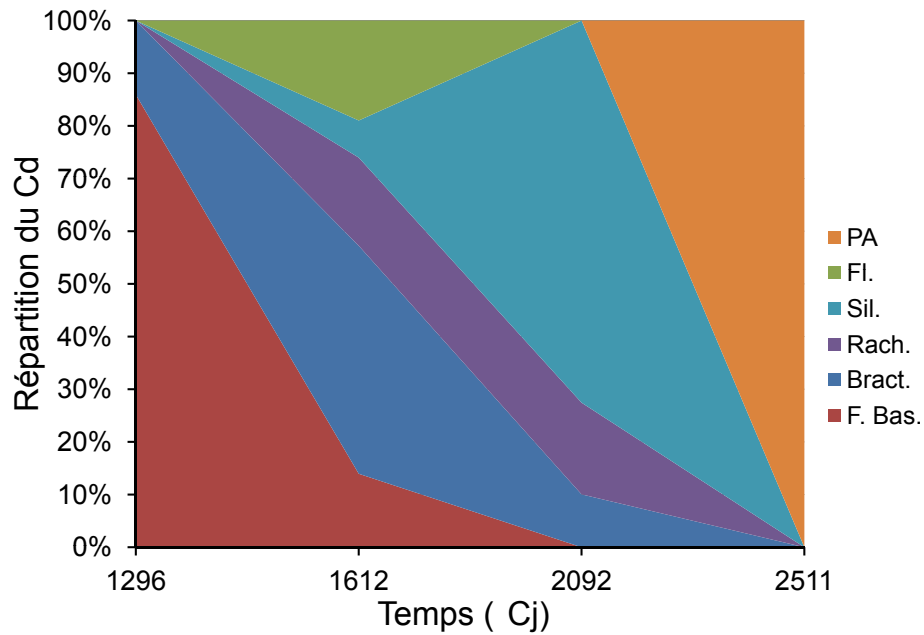


FIGURE 4.14 – Répartition de l'accumulation du Cd chez *Noccaea caerulescens* entre les différentes parties lors de la deuxième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Cd. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).



[a]



[b]

FIGURE 4.15 – Répartition de l'accumulation du Cd chez *Noccea caerulescens* entre les différentes parties lors de la troisième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Cd. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.), les fleurs (Fl.) et les parties aériennes totales pour la dernière récolte (PA).

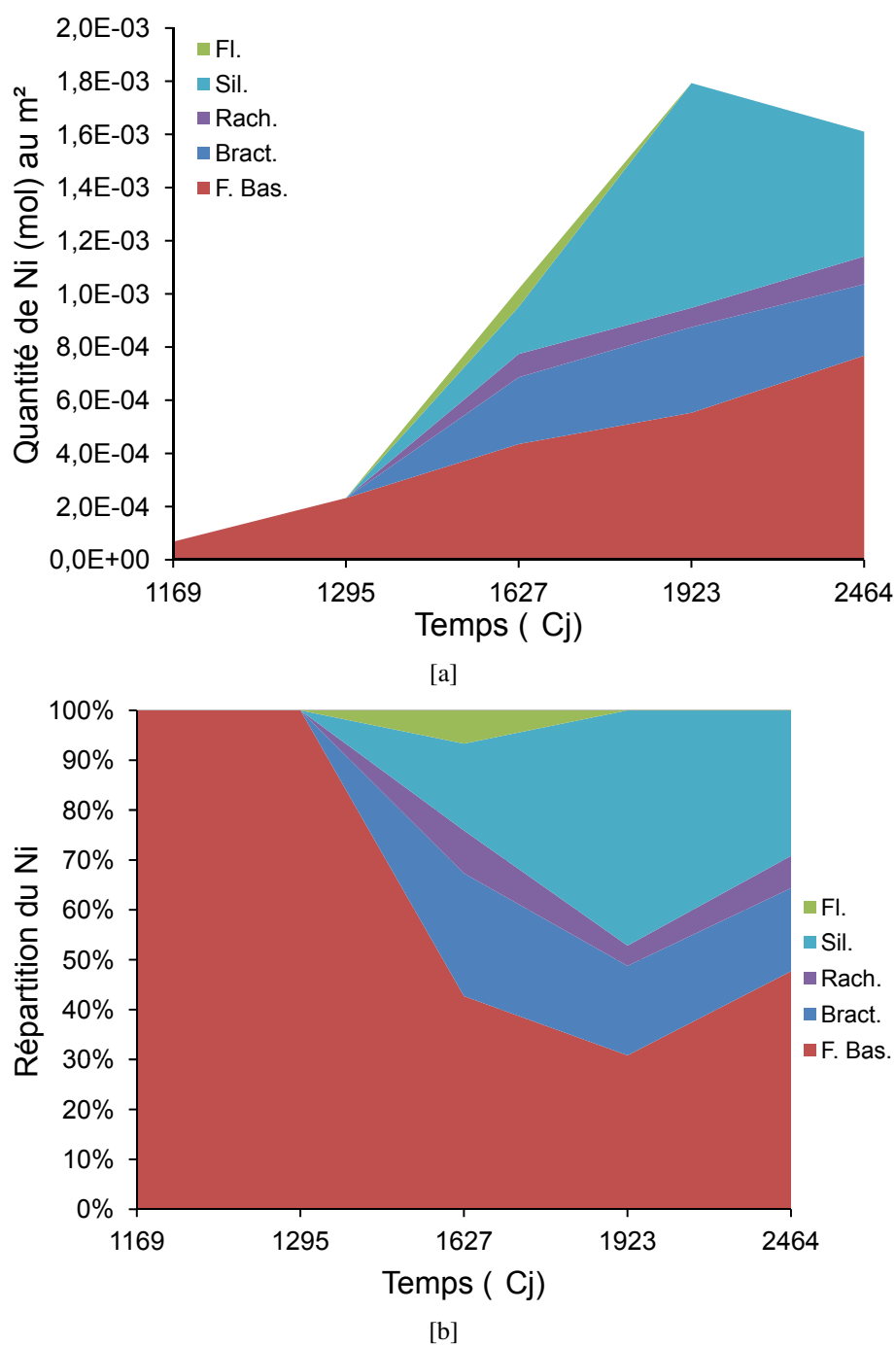


FIGURE 4.16 – Répartition de l'accumulation du Ni chez *Noccaea caeruleascens* entre les différentes parties lors de la première année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Ni. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

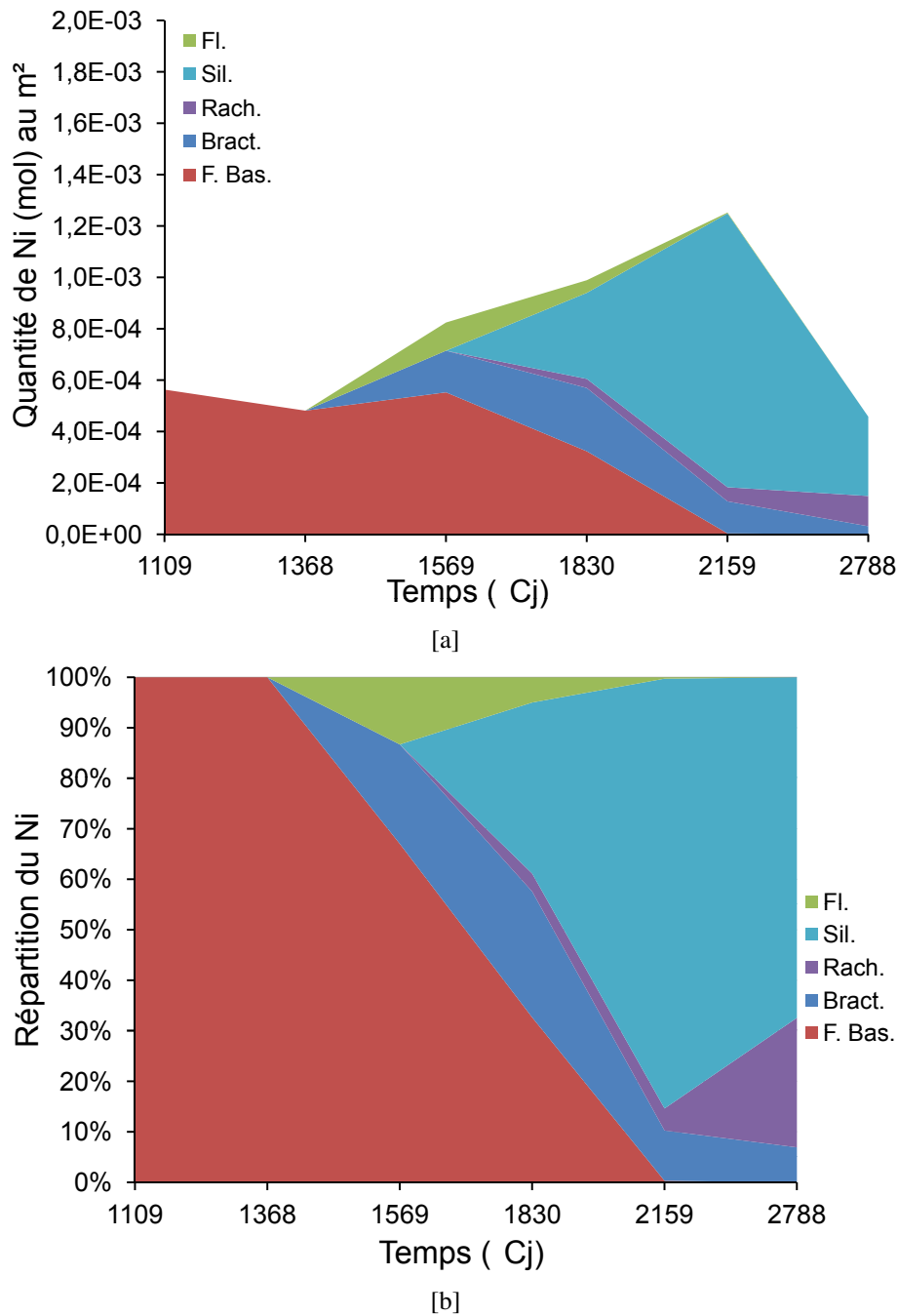


FIGURE 4.17 – Répartition de l'accumulation du Ni chez *Noccaea caerulea* entre les différentes parties lors de la deuxième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Ni. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

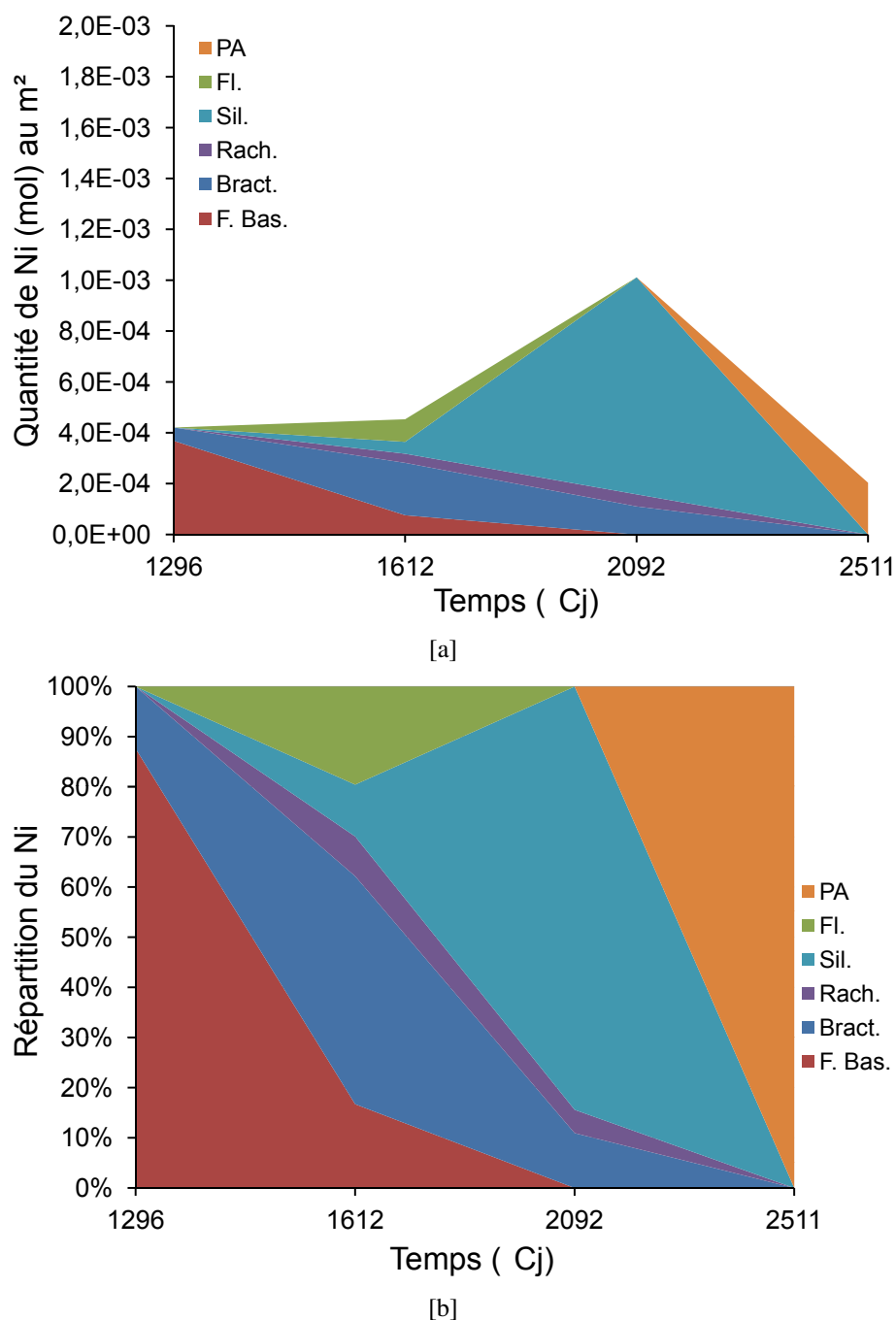


FIGURE 4.18 – Répartition de l'accumulation du Ni chez *Noccaea caerulescens* entre les différentes parties lors de la troisième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Ni. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.), les fleurs (Fl.) et les parties aériennes totales pour la dernière récolte (PA).

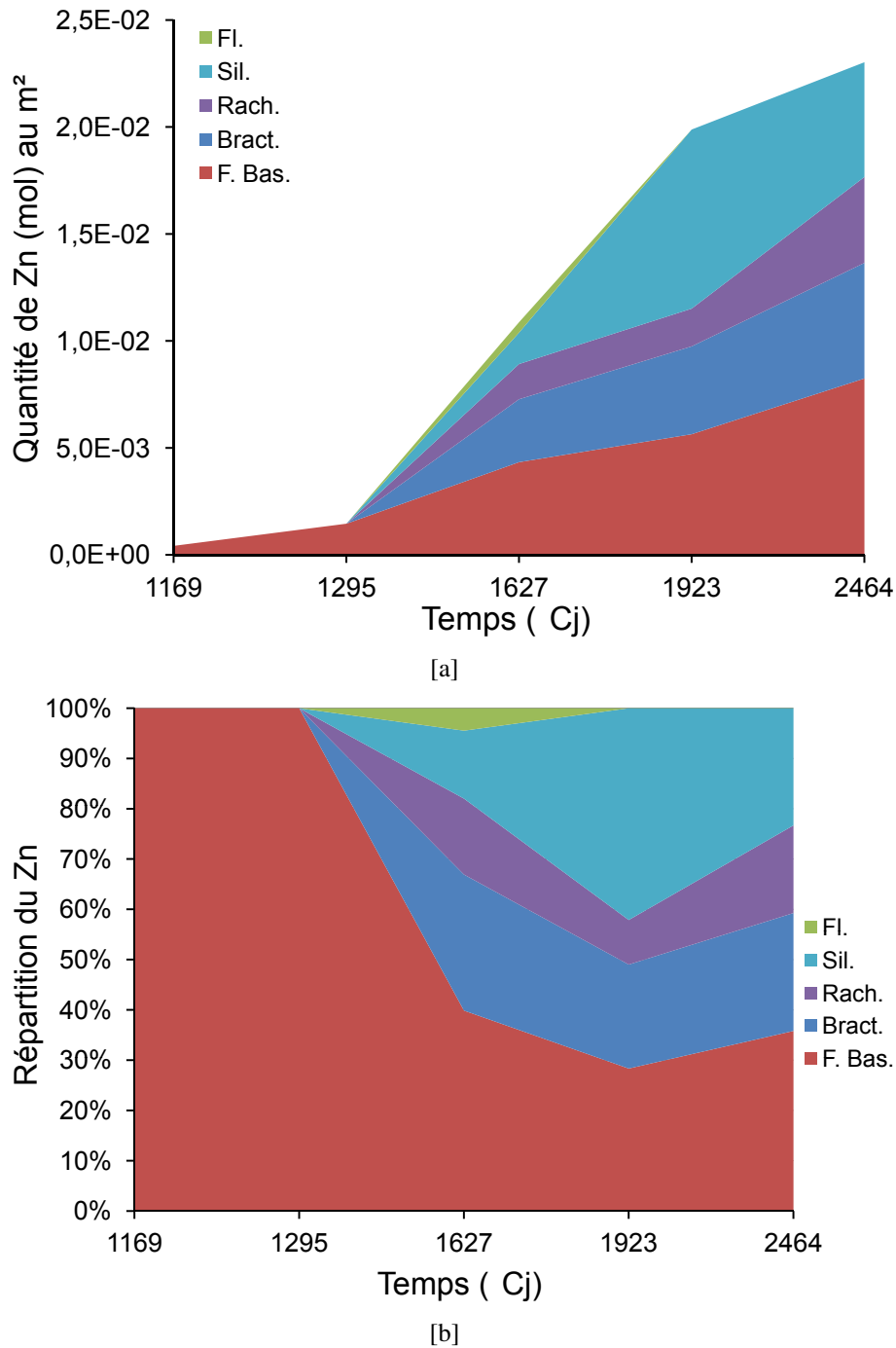


FIGURE 4.19 – Répartition de l'accumulation du Zn chez *Noccaea caerulea* entre les différentes parties lors de la première année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Zn. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).

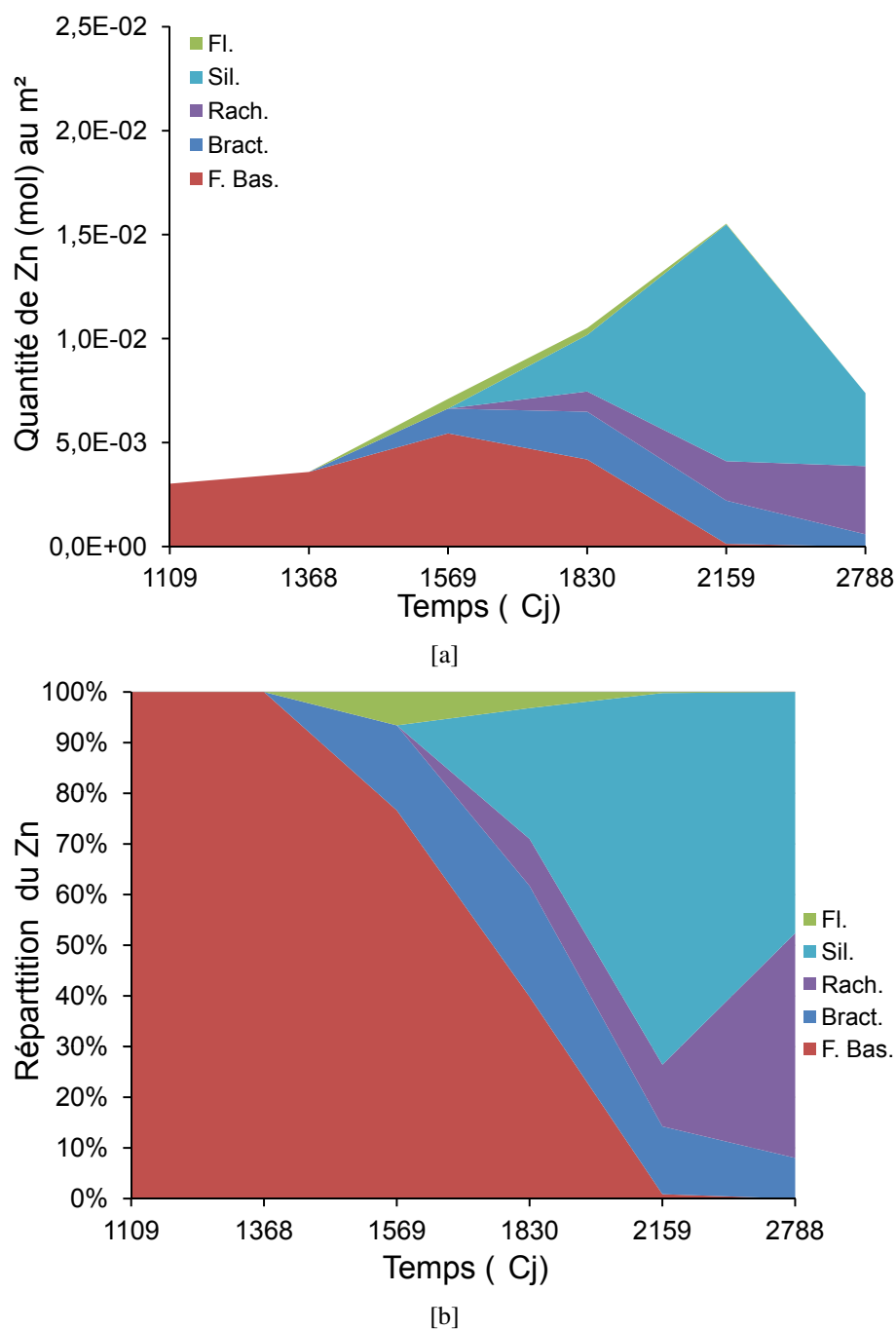
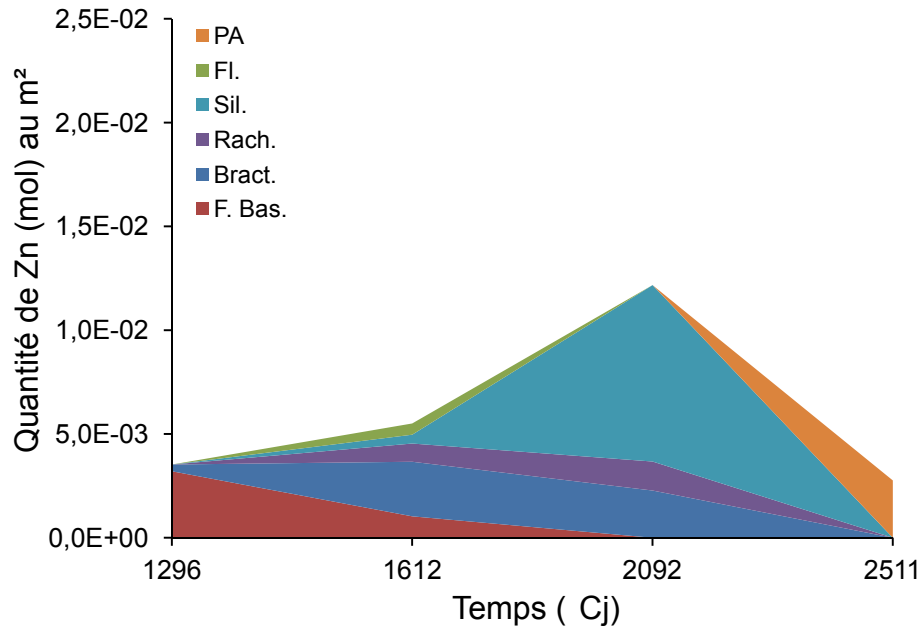
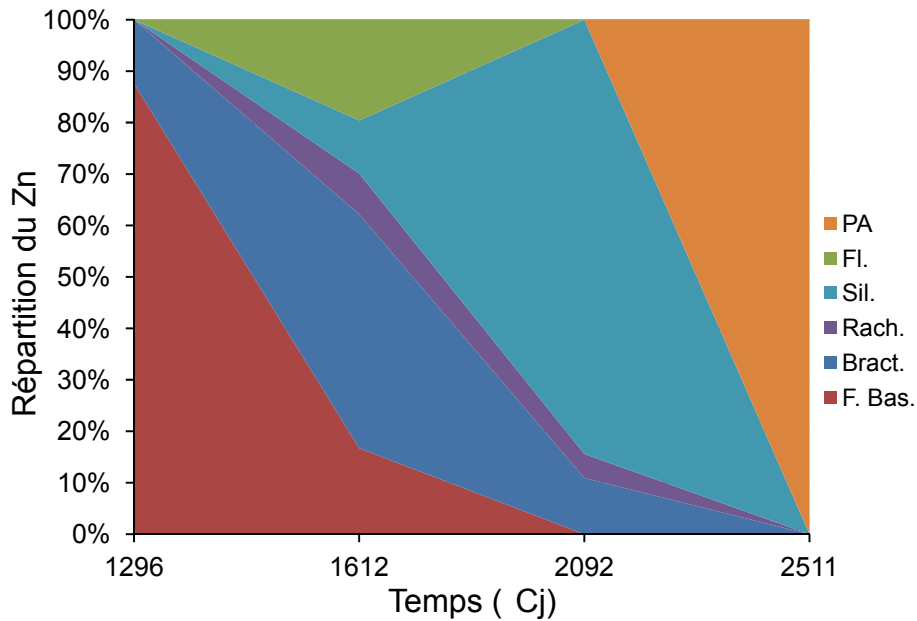


FIGURE 4.20 – Répartition de l'accumulation du Zn chez *Noccaea caerulescens* entre les différentes parties lors de la deuxième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Zn. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.) et les fleurs (Fl.).



[a]



[b]

FIGURE 4.21 – Répartition de l'accumulation du Zn chez *Noccaea caerulea* entre les différentes parties lors de la troisième année de culture en extérieur. Contributions absolue (a) et relative (b) des différentes parties à l'accumulation du Zn. Les différentes parties analysées sont les feuilles basales (F. Bas.), les bractées (Bract.), les rachis (Rach.), les siliques et graines (Sil.), les fleurs (Fl.) et les parties aériennes totales pour la dernière récolte (PA).

4.3.5 Facteurs de bioconcentration du Cd

Les facteurs de bioconcentration (BCF) en Cd des parties aériennes ont été calculés en faisant le rapport entre les concentrations en Cd dans les parties aériennes totales à différents temps d'échantillonnage (moyenne de sept bacs pour chaque échantillonnage) et la concentration en Cd de la solution du sol (prélevée grâce à des micro-bougies en janvier 2012, cf. 2.2.2.4 p. 39). Ne disposant pas de la teneur exacte en Cd²⁺ dans la solution du sol, deux hypothèses ont été formulées. Dans le premier cas (Tableau 4.7), on considère que la totalité du Cd est sous forme Cd²⁺. Dans le deuxième cas (Tableau 4.8), on considère que seulement 30 % du Cd est sous forme Cd²⁺. De plus, les racines n'ayant pas été échantillonnées afin de ne pas perturber l'ho-

TABLEAU 4.7 – Facteurs de bioconcentration du Cd pour les cultures de *N. caerulea* en extérieur si l'on considère que 100 % du Cd en solution est sous forme Cd²⁺.

Année de culture	Profondeur d'exploration des racines (cm)	Facteur de bioconcentration L g ⁻¹			
		Temps (°Cj)	1627	1923	2464
n		10	83,9	59,0	41,7
		15	121	84,7	59,9
		20	145	102	72,0
		30	182	128	90,2
		Temps (°Cj)	1569	2159	2788
n+1		10	82,0	50,4	41,7
		15	118	72,3	59,9
		20	141	86,9	72,0
		30	177	109	90,3
		Temps (°Cj)	1612	2092	2511
n+2		10	103	30,5	24,5
		15	148	43,8	35,2
		20	178	52,7	42,3
		30	224	66,0	53,1
		Temps (°Cj)	1612	2092	2511

rization des couches de pollution, il ne nous est pas possible de savoir exactement jusqu'à quelle profondeur les racines sont descendues dans le bac. Or cette profondeur d'exploration racinaire va conditionner la teneur en Cd à laquelle vont être exposées les plantes. En effet, la composition de la solution du sol n'est pas la même à 5 cm qu'à 25 cm. Pour cela, plusieurs profondeurs d'enracinement sont étudiées, de 10 à 30 cm. Différents moments dans la culture sont également considérés, en début de printemps (avant le début de la floraison), à la fin de la floraison (silique IV, lorsque la quantité de Cd dans la plante est maximale) ainsi que pendant la déhiscence des siliques. Dans le tableau 4.7, on peut observer une diminution du BCF lorsque les plantes deviennent plus âgées. À l'inverse, le BCF tend à augmenter lorsque l'on consi-

dère une profondeur d'exploration racinaire plus importante. Quand on augmente le nombre de cycles de culture, le BCF_{PA} diminue, hormis lors du début de la floraison de l'année n+2. Les BCF_{PA} varient entre 24521 L kg⁻¹ et 223728 L kg⁻¹.

Si l'on considère que seulement 30 % du Cd de la solution du sol est sous forme Cd²⁺ (Tableau 4.8), les facteurs de bioconcentration augmentent fortement, se situant entre 41717 L kg⁻¹ et 745758 L kg⁻¹. De plus, les facteurs diminuent toujours avec la maturation de la plante et l'augmentation du nombre de cycles de cultures (sauf pour les plantes en début de la floraison de l'année n+2). En contrepartie, les BCF_{PA} diminuent lorsque l'on considère que les racines explorent plus profondément le sol.

TABLEAU 4.8 – Facteurs de bioconcentration du Cd pour les cultures de *N. caerulea* en extérieur si l'on considère que 30 % du Cd en solution est sous forme Cd²⁺.

Année de culture	Profondeur d'exploration des racines (cm)	Facteur de bioconcentration L g ⁻¹		
		Temps (°Cj)	1627	1923
n	10	280	197	139
	15	402	282	200
	20	483	340	240
	30	606	426	301
n+1	10	273	50,4	41,7
	15	392	72,37	59,90
	20	472	86,9	72,0
	30	591	109	90,3
n+2	10	345	102	81,7
	15	495	146	117
	20	595	176	141
	30	746	220	177

4.4 Discussion

4.4.1 Croissance de *N. caerulescens* à l'extérieur

Nous avons observé une densité plus importante de plantules ayant levé lors de la deuxième année de culture. Ceci peut être expliqué par le mode de semis. En effet, lors de la première année de culture, les graines de *Noccaea caerulescens* ont été semées manuellement. Lors des cultures suivantes, aucun semis n'a été effectué, les plantules provenaient de graines tombées à terre lors de la culture précédente. La densité de semis a ensuite été régulée par un éclaircissement une fois toutes les plantules levées, pour arriver à une densité de 200 plants par m².

Les stades de développement du colza conviennent à la description de ceux de *N. caerulescens*. La plante, une fois la rosette formée (1140 °Cj), passe rapidement, en environ 1000 °Cj de la montaison à la fructification. On remarque qu'en conditions extérieures, la montaison est intervenue plus tôt qu'en aéroponie (environ 1700 °Cj). Ceci pourrait être dû au fait que les plantes en aéroponie ont subi la vernalisation à partir de 1500 °Cj, alors qu'à l'extérieur celle-ci est intervenue à partir de 1100 °Cj environ.

La première année de culture a produit une biomasse plus importante que les autres années de culture hormis en début de saison. Un statut azoté plus riche lors de la première année pourrait peut-être expliquer cela. En effet, aucun ajout de nutriment n'a été opéré durant les trois années. *N. caerulescens* est connue pour répondre positivement à un enrichissement en azote du sol en augmentant sa biomasse (Monsant *et al.* 2008 ; Sirguy *et al.* 2006 ; Xie *et al.* 2009) ; sa croissance pourrait avoir été réduite du fait d'un appauvrissement du sol en cet élément lors des années n+1 et n+2. Cet appauvrissement pourrait également être responsable de la chute des feuilles de la rosette et de l'augmentation de la biomasse des hampes florales, l'azote étant connu pour favoriser la croissance végétative au détriment des organes reproducteurs. On notera que la perte des feuilles de la rosette en fin de cycle de végétation est un phénomène fréquemment observé sur les plantes *in situ*.

La surface foliaire a plutôt suivi la même évolution que la biomasse aérienne, ainsi qu'en témoigne l'étroite relation linéaire entre surface et biomasse (Figure 4.9), exception faite les plantes ne présentant plus de feuille basale. Cette différence de ratio pour les plantes ayant perdu leurs feuilles basales pourrait s'expliquer par une épaisseur plus importante des feuilles de la rosette contrairement aux bractées. Les bractées auraient donc une surface foliaire spécifique plus importante.

4.4.2 Concentrations et prélèvements en Cd, Ni et Zn

Les concentrations en Cd sont les mêmes quel que soit l'organe considéré. Ces résultats confirment ce qui a été observé en aéroponie.

Nous pouvons bien parler ici d'hyperaccumulation du Cd, dans la mesure où les concentrations en Cd dans les parties aériennes sont supérieures à 100 mg kg^{-1} . Cependant, les seuils d'hyperaccumulation du Ni et du Zn ne sont pas atteints.

En sortie d'hiver (1200 °Cj à 1500 °Cj), les concentrations des trois ETM apparaissent plus faibles qu'avant l'hiver (pour l'année n+1) et qu'au cours du prélèvement suivant. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cela. D'une part, cela pourrait être dû à une allocation de Cd aux racines pendant la vernalisation voire à une sortie de Cd de la plante. Ces faits n'ont cependant pas été observés en aéroponie à la sortie de la vernalisation. D'autre part, il est probable qu'il y ait eu des pertes de feuilles durant l'hiver avec une repousse de nouvelles feuilles par la suite mais le prélèvement de Cd étant plus faible, la concentration s'en trouve diminuée. Un influx racinaire plus faible à basse température ou une disponibilité du Cd dans le sol qui diminue avec la température pourraient être à l'origine d'un prélèvement de Cd plus faible.

En aéroponie, les concentrations en Cd dans les organes aériens restaient stables, contrairement à ce que l'on observe ici. Par ailleurs, le Ni et le Zn suivent également cette tendance à la diminution de la concentration avec l'avancée de la plante vers la floraison. Une telle diminution des concentrations en Ni entre le stade de floraison et le fin de son cycle de vie a déjà été observé lors de cultures en plein champs d'*Alyssum murale* mais le stade végétatif présentait une concentration en Ni plus faible que le stade en fleurs (Bani 2009). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette diminution :

- le prélèvement par la plante varie en fonction de son âge, du fait d'une évolution de son homéostasie. On peut imaginer que l'influx racinaire diminue à mesure que le système racinaire vieillit ; la translocation aux organes aériens a peut-être diminué également. Dans cette hypothèse, il resterait à expliquer pourquoi nous avons pu observer un tel comportement en conditions extérieures et pas en aéroponie.
- les propriétés d'absorption, de translocation et de stockage de la plante n'ont pas varié mais le ratio biomasse des racines sur biomasse des parties aériennes a diminué au cours de la croissance de la plante contrairement à ce qu'il s'est passé en aéroponie.
- l'offre du sol a diminué au cours du temps, soit par épuisement de la quantité de Cd disponible soit par assèchement du sol (baisse de l'humidité du sol).

Afin de tester cette dernière hypothèse, nous avons utilisé le modèle de Barber-Cushman. Les résultats de l'année de culture n+1 ont été utilisés pour modéliser le prélèvement de Cd dans les bacs. Cette année est intermédiaire et considérée représentative des trois années de culture ; un prélèvement de sol a également été effectué à l'issue de cette année de culture, qui a permis la mesure des variables de disponibilité du Cd (Tableau 2.2). Aucun prélèvement de racine n'a été réalisé durant les cycles de culture de façon à ne pas perturber le dispositif. La profondeur à laquelle est descendu le système racinaire n'a donc pas été déterminée. On peut néanmoins raisonnablement estimer que cette profondeur se situe entre 15 et 30 cm, avec une

présence très importante du chevelu racinaire dans les 15 premiers centimètres (Schwartz *et al.* 1999 ; Whiting *et al.* 2000). Dans la suite seront présentés les résultats issus de la modélisation en considérant un profil racinaire homogène descendu jusque 30 cm, 20 cm et 15 cm.

Les paramètres utilisés pour la modélisation sont présentés dans le tableau 4.9.

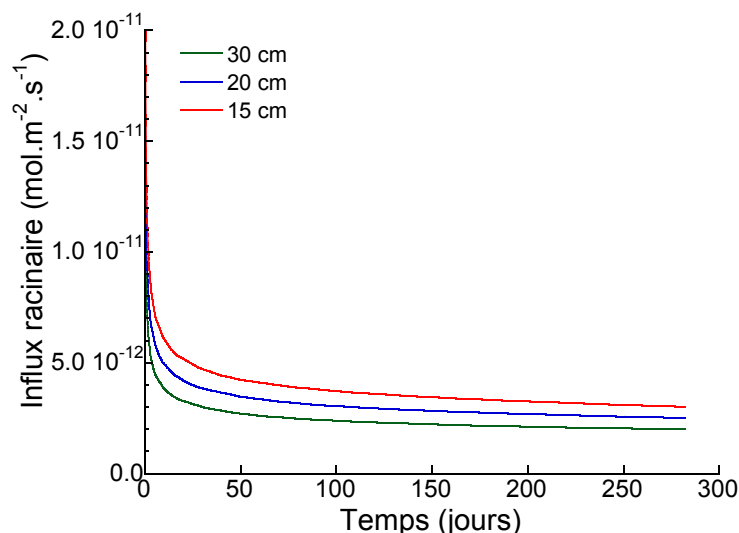


FIGURE 4.22 – Influx racinaire en Cd, I_{Cd} , estimé par le modèle en fonction de la profondeur d’exploration des racines jusqu’à 282 jours de culture.

L’influx racinaire I_{Cd} calculé directement par le modèle diminue très fortement dans les premiers jours d’installation de la culture mais sa décroissance au cours du temps est ensuite faible voire très faible si on considère un enracinement sur 30 cm (Figure 4.22). La profondeur à laquelle est descendue le front racinaire semble très peu jouer sur l’influx.

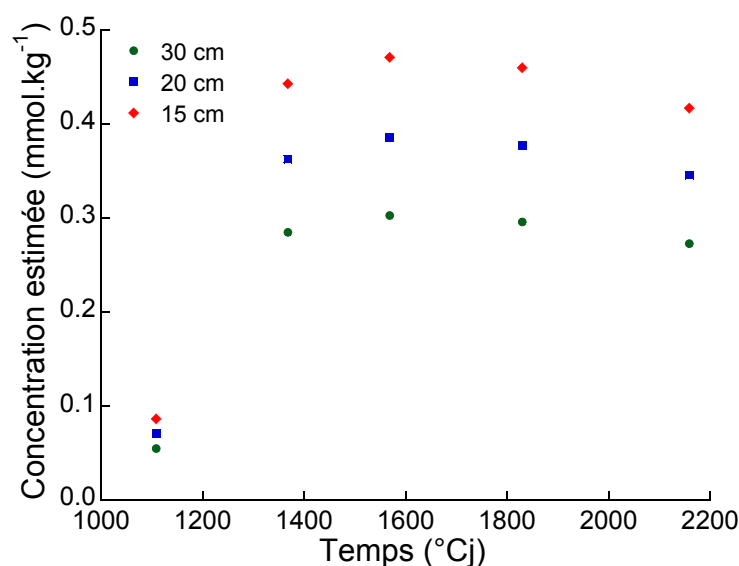


FIGURE 4.23 – Concentrations en Cd dans les parties aériennes estimées par le modèle en fonction de la profondeur des racines et du temps de culture.

TABLEAU 4.9 – Paramètres utilisés pour la modélisation du prélèvement racinaire.

Symbole	Définition	Variantes	Valeur	Unité	Référence
θ	Humidité volumétrique		0,20	$\text{m}^3 \text{m}^{-3}$	-
C_i	Concentration initiale de Cd en solution	30 cm 20 cm 10 cm	$1,18.10^{-05}$ $1,47.10^{-05}$ $1,77.10^{-05}$	mol m^{-3}	-
b	Pouvoir tampon de Cd : $\frac{\text{Cd échangeable (mol m}^{-3} \text{ de sol)}}{\text{Cd en solution (mol m}^{-3} \text{ de solution)}}$	30 cm 20 cm 15 cm	697,16 805,63 877,61	$\text{m}^3 \text{m}^{-3}$	-
D_l	Coefficient de diffusion de Cd dans l'eau libre		$5,00^{-10}$	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	-
D^*	Coefficient de diffusion de Cd libre dans la solution du sol. $D^* = \theta^{3/2} D_l$		$7,07^{-10}$	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	-
V	Volume du milieu	30 cm 20 cm 15 cm	0,130 0,084 0,063	m^3	-
L_0	Longueur racinaire totale initiale dans la terre		11,102	m	-
L_f	Longueur racinaire totale finale, mesurée pour le volume considéré	205 jours 228 jours 282 jours	710,33 1041,58 3282,56	m	-
r_0	Rayon racinaire moyen		$1,18^{-04}$	m	Sterckeman <i>et al.</i> (2004)
r_1	Épaisseur de la zone influencée par la racine		$\frac{1}{\sqrt{\pi^* L_f / V}}$	m	-
I_{max}	Influx maximal de Cd		$1,60^{-06}$	$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Sterckeman <i>et al.</i> (2004)
K_m	Constante de Michaelis-Menten		$1,80^{-01}$	mol m^{-3}	Sterckeman <i>et al.</i> (2004)
t_f	Durée de simulation	205 jours 228 jours 282 jours	$1,77^{+07}$ $1,97^{+07}$ $2,44^{+07}$	s	-
cr	Taux de croissance racinaire		2.3293^{-07}	s^{-1}	-

En outre, les profils de concentration en Cd en solution en fin de culture (Figure 4.26) montrent un faible épuisement des teneurs en Cd dans la solution du sol. Ces résultats indiquent donc que la disponibilité en Cd du sol n'a pas été fortement réduite au cours du prélèvement et que l'offre du sol en Cd est demeurée constante. Le modèle permet d'estimer la quantité de Cd accumulée dans la plante, Q_{PE} . Les quantités accumulées dans les parties aériennes, Q_{PA} , ont été estimées à partir de Q_{PE} en utilisant le facteur d'allocation $A_{PA} = 0,962$ observé par Perriguy (2006) ; en rapportant Q_{PA} à la biomasse aérienne DM_{PA} , on en a déduit les concentrations dans les parties aériennes $[Cd]_{PA}$ de la culture de l'année n+1 (Figure 4.23).

Les principaux résultats issus de la modélisation sont présentés dans le Tableau 4.10. Globalement, les prélèvements simulés représentent 15 % à 33 % de ceux mesurés. On retrouve ici une tendance déjà observée par Perriguy (2006). En effet, Perriguy (2006) estimait que le modèle de Barber-Cushman conduisait à une sous-estimation de 10 fois le prélèvement du Cd dans *N. caerulescens* (Tableau 4.10, Simulations *Lg* Barber). Les simulations obtenues ici avec ce modèle sont inférieures d'un facteur 13,9 en moyenne aux prélèvements mesurés. Il a ensuite été choisi d'utiliser une fonction ajustée sur les biomasses aériennes en y appliquant le ratio $\frac{\text{Longueur racinaire}}{\text{Biomasse aérienne}}$ de Perriguy (2006) plutôt que la fonction de croissance racinaire du modèle de Barber-Cushman, $Lg = Lg_0 \cdot e^{(cr \cdot t)}$ avec $cr = \frac{\log\left(\frac{Lr}{Lg_0}\right)}{t_f}$. En effet, ce dernier apparaît sous-estimer très fortement la longueur racinaire durant tout le temps de simulation (Figure 4.25[a]) alors que la fonction exponentielle obtenue ici ($Lg = 11.102 \cdot e^{(cr \cdot t)}$ avec $cr = 2,3293 \cdot 10^{-7}$) paraît plus proche (Figure 4.25[b]). L'utilisation de cette fonction de croissance racinaire (Tableau 4.10, Simulations *Lg* ajustée), permet une sous-estimation un peu plus faible.

Il n'y a pas d'explication claire à l'écart entre prélèvement mesuré et simulé. Comme le suggère Ingwersen *et al.* (2006), la surface racinaire de *N. caerulescens* pourrait être largement sous estimée du fait de l'existence de nombreux poils absorbants et de racines très fines non pris en compte dans l'estimation de la surface racinaire. Ces racines fines et poils absorbants, moins subérisés, pourraient être à l'origine d'une part non négligeable de l'absorption racinaire. Il n'est pas exclu non plus que la disponibilité mesurée par l'extraction du Cd échangeable à la cobaltihexamine conduise à sous estimer le pouvoir tampon du sol. Pour finir, les paramètres K_m et I_{max} du prélèvement décrit par une équation de Michaelis-Menten ont été déterminés en culture hydroponique, où les propriétés d'absorption d'éléments traces par les racines ne sont pas les mêmes que celles des racines de plantes cultivées en sol (Redjala *et al.* 2010a).

En ce qui concerne le premier point de simulation (Figure 4.23), la concentration simulée est nettement inférieure à celle des temps ultérieurs, ce qui est contraire à l'allure des concentrations observées dans les parties aériennes. Avant l'hiver, les concentrations dans les parties aériennes sont nettement supérieures à celles mesurées à la reprise de végétation (Figure 4.10). Une sous-estimation encore plus forte de la surface racinaire pour le stade rosette de la plante pourrait être à l'origine de cela (Figure 4.24).

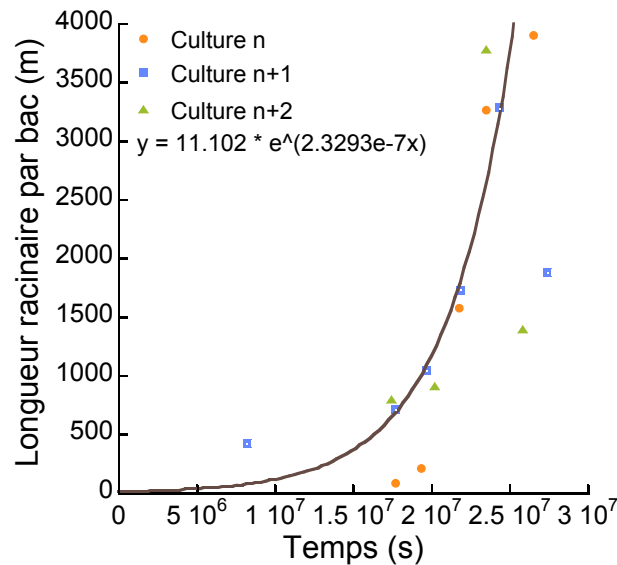
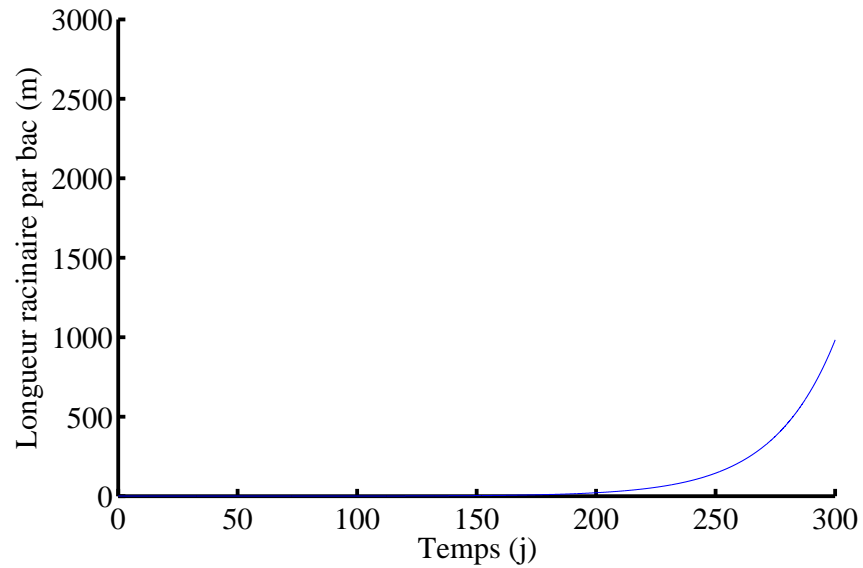


FIGURE 4.24 – Longueur racinaire estimée pour les trois années de culture et sa fonction associée. La croissance a été estimée grâce au facteur d'allocation de Perrigüey (2006), $A_{PA} = 0,962$. La fonction exponentielle de longueur racinaire a été estimée à partir des résultats du printemps de la culture n+1.

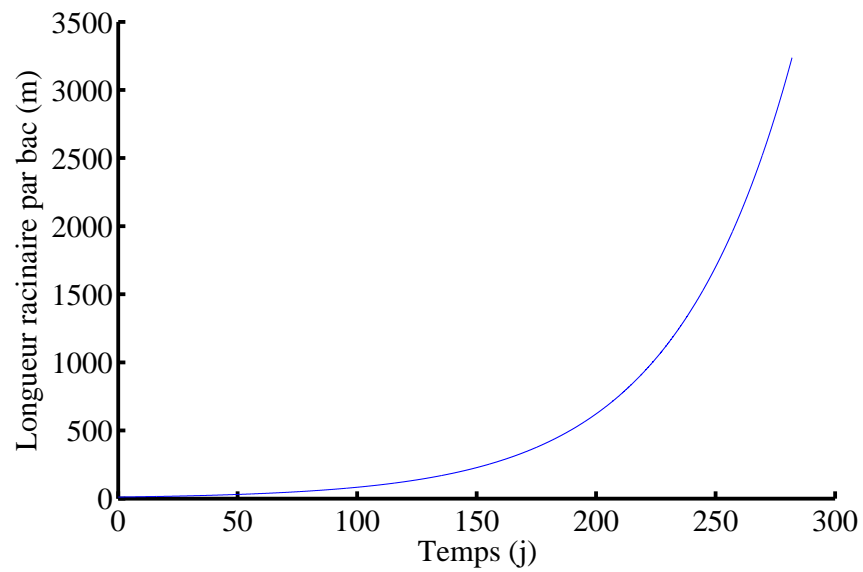
Les autres points de simulation (Figure 4.23) conduisent à des concentrations constantes dans les parties aériennes, comme cela a été observé en aéroponie et contrairement à ce qui a été mesuré en conditions extérieures. Ceci suggère que l'offre du sol modélisée a peu évolué au cours du temps, ainsi que le montrent les profils de concentration en Cd au voisinage des racines et l'évolution de l'influx racinaire au cours du temps (Figures 4.26) ; l'épuisement du Cd de la solution du sol est relativement faible après plus de 300 jours de simulation. En outre, pour ces moments de la culture, les valeurs simulées ne sont plus inférieures à celles observées que d'un facteur 4,4 en moyenne.

Il est à noter que le modèle ne prend pas en compte l'évolution de l'humidité du sol, considérée comme constante et relativement élevée ($\theta = 0,2$). Or celle-ci diminue très probablement assez nettement au moment où le prélèvement de Cd est le plus fort, c'est à dire entre la sortie de l'hiver (sol quasiment à saturation de sa capacité au champ) et la déhiscence, en juin, où la terre est très asséchée. Le modèle est sensible au taux d'humidité volumétrique auquel la diffusivité du Cd est proportionnelle. Il serait donc nécessaire de le modifier, de formaliser l'évolution de l'humidité du sol et d'évaluer l'impact de celle-ci sur le prélèvement.

Les trois éléments métalliques étudiés ici présentant un comportement similaire, le Cd reste donc un modèle intéressant pour la poursuite des travaux. Ce comportement similaire du Cd, Ni et Zn suggère de rechercher une explication commune pour la baisse de leurs concentrations dans les parties aériennes. Ainsi la baisse de l'humidité du sol pourrait être une meilleure explication qu'une modification de l'homéostasie de la plante avec son développement, les mécanismes et voies d'accumulation de ces trois éléments étant différents.

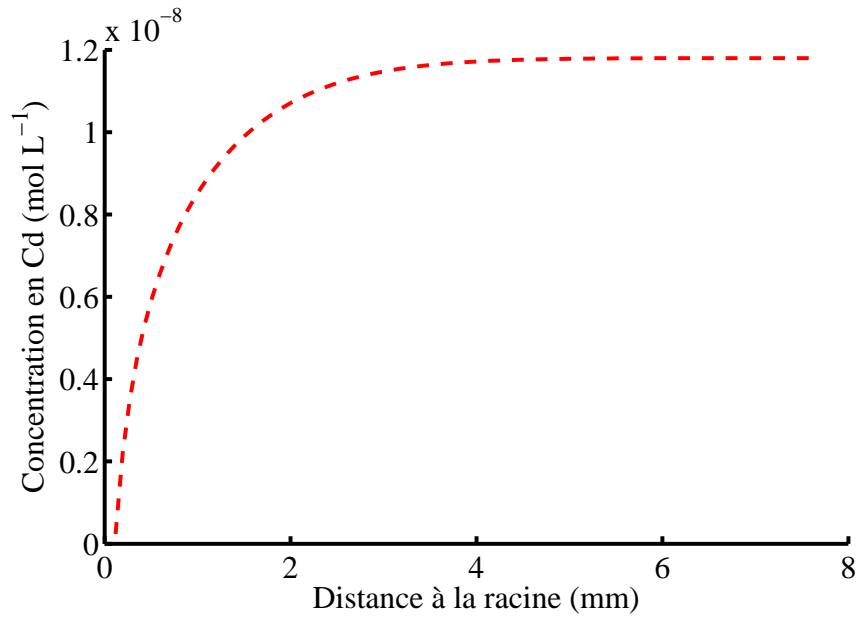


[a]

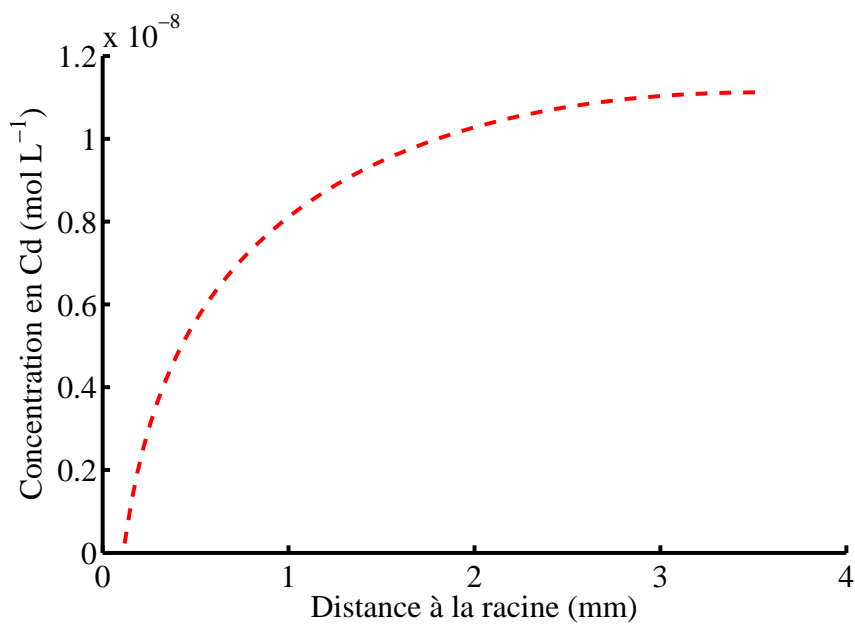


[b]

FIGURE 4.25 – Longueurs racinaires estimées par le modèle en utilisant la fonction de Barber-Cushman (a) ou en utilisant la fonction ajustée à partir de la biomasse aérienne obtenue en extérieur (b). Ces modélisations ont été faites jusqu'à 282 jours de culture, avec un système racinaire descendant à 30 centimètre de profondeur.



[a]



[b]

FIGURE 4.26 – Profils modélisés de concentration en Cd dans la solution du sol lors de la deuxième année de culture au voisinage de la racine à 205 jours de culture (a) et 282 jours de culture (b). Profils obtenus pour système racinaire sur les 30 premiers centimètres.

TABLEAU 4.10 – Quantités prélevées dans la plante entière Q_{PE} , les parties aériennes Q_{PA} et concentrations dans les parties aériennes $[Cd]_{PA}$ de *Nocca caerulescens* cultivé l'année n+1 en conditions extérieures. Valeurs mesurées et valeurs simulées par le modèle de [Custos et al. \(2012\)](#) pour une fonction de croissance racinaire ajustée sur les mesures de biomasse aérienne (Simulations Lg ajustée) et pour la fonction initiale de Barber-Cushman (front racinaire à 30 cm, Simulations Lg Barber).

Temps (jours)	Profondeur des racines (cm)	Valeurs mesurées		Simulations Lg ajustée		Simulations Lg Barber	
		Q_{PA} (mol par bac)	$[Cd]_{PA}$ (mol kg ⁻¹)	Q_{PE} (mol par bac)	Q_{PA} (mol kg ⁻¹)	Q_{PE} (mol par bac)	Q_{PA} (mol par bac)
95,00	30			5,57.10 ⁻⁰⁷	5,50.10 ⁻⁰⁵	5,91.10 ⁻⁰⁷	5,68.10 ⁻⁰⁷
	20	2,17.10 ⁻⁰⁵	2,23.10 ⁻⁰³	7,16.10 ⁻⁰⁷	7,08.10 ⁻⁰⁵		
	15			8,77.10 ⁻⁰⁷	8,66.10 ⁻⁰⁵		
205,00	30			4,82.10 ⁻⁰⁶	2,85.10 ⁻⁰⁴	1,79.10 ⁻⁰⁶	1,72.10 ⁻⁰⁶
	20	2,15.10 ⁻⁰⁵	1,33.10 ⁻⁰³	6,15.10 ⁻⁰⁶	3,63.10 ⁻⁰⁴		
	15			7,50.10 ⁻⁰⁶	4,43.10 ⁻⁰⁴		
228,00	30			7,51.10 ⁻⁰⁶	3,03.10 ⁻⁰⁴	2,77.10 ⁻⁰⁶	2,66.10 ⁻⁰⁶
	20	4,91.10 ⁻⁰⁵	2,06.10 ⁻⁰³	9,58.10 ⁻⁰⁶	3,86.10 ⁻⁰⁴		
	15			1,17.10 ⁻⁰⁵	4,71.10 ⁻⁰⁴		
253,00	30			1,22.10 ⁻⁰⁵	2,96.10 ⁻⁰⁴	4,81.10 ⁻⁰⁶	4,62.10 ⁻⁰⁶
	20	6,40.10 ⁻⁰⁵	1,62.10 ⁻⁰³	1,55.10 ⁻⁰⁵	3,77.10 ⁻⁰⁴		
	15			1,89.10 ⁻⁰⁵	4,60.10 ⁻⁰⁴		
282,00	30			2,14.10 ⁻⁰⁵	2,73.10 ⁻⁰⁴	9,48.10 ⁻⁰⁶	9,10.10 ⁻⁰⁶
	20	9,72.10 ⁻⁰⁵	1,29.10 ⁻⁰³	2,70.10 ⁻⁰⁵	3,46.10 ⁻⁰⁴		
	15			3,26.10 ⁻⁰⁵	4,17.10 ⁻⁰⁴		
317,00	30			4,24.10 ⁻⁰⁵	9,46.10 ⁻⁰⁴	6,29.10 ⁻⁰⁶	6,04.10 ⁻⁰⁶
	20	4,17.10 ⁻⁰⁵	9,70.10 ⁻⁰⁴	5,39.10 ⁻⁰⁵	1,20.10 ⁻⁰³		
	15			6,56.10 ⁻⁰⁵	1,46.10 ⁻⁰³		

4.4.3 Prédiction de l'accumulation du Cd

Les calculs réalisés précédemment à partir du modèle de Barber-Cushman développé par [Custos et al. \(2012\)](#) ont montré une sous estimation du prélèvement, d'un facteur 13,9 en moyenne. L'amélioration de la prédiction nous semble passer par une estimation plus fine de la surface racinaire, avec notamment une meilleure mesure des surfaces de très petites racines et poils absorbants ([Ingwersen et al. 2006](#)). Il convient également de mieux décrire l'évolution de cette surface au cours de la culture ; à ce niveau, l'utilisation d'un modèle architecturé de croissance racinaire pourrait constituer une amélioration. Il semble également nécessaire de mieux prendre en compte les variations de l'humidité du sol au cours de la culture, car celle-ci joue nettement sur la diffusion du Cd dans le sol. Les facteurs de bioconcentration sont une autre voie de prédiction des concentrations du Cd dans les tissus de *N. caerulescens*. Les BCF_{PA} des plantes cultivées en extérieur, de l'ordre de 25000 L kg^{-1} à 224000 L kg^{-1} sont, pour certains, du même ordre de grandeur mais nettement inférieurs à ceux évalués en aéroponie (qui variaient entre 598000 L kg^{-1} et 807000 L kg^{-1}). Ces valeurs obtenues en culture sur sol sont également en accord avec celles observées par [Maxted et al. \(2007\)](#) lors d'essais en pot et de plein champ, bien que légèrement supérieures.

Ils évoluent avec la concentration dans les parties aériennes et diminuent donc avec l'augmentation du temps de culture (Tableaux 4.7 et 4.8), contrairement à ce que nous avons pu observer durant les cultures en aéroponie (Figure 3.13 p. 61) lorsque la concentration d'exposition était maintenue constante. Les BCF_{PA} estimés en aéroponie et appliqués à la solution du sol conduisent à estimer la concentration dans les parties aériennes de $7,03 \text{ mmol kg}^{-1}$ à $20,54 \text{ mmol kg}^{-1}$ selon la profondeur d'enracinement et le BCF utilisé (Tableau 4.11). On constate donc un facteur d'erreur d'environ 4,5 à 6,8 (si l'on considère le BCF minimum, 598000 L kg^{-1}) entre les valeurs estimées et les valeurs observées, erreurs nettement inférieures à celles obtenues par le modèle mécaniste (facteur 13,9 en moyenne).

TABLEAU 4.11 – Concentrations en Cd $[Cd]_{PA}$ dans les parties aériennes de *N. caerulescens* estimées grâce aux BCF minimum et maximum obtenus en aéroponie et concentration en Cd moyenne mesurée sur l'ensemble des années de culture et échantillonnages.

Profondeur des racines (cm)	$[Cd]_{PA}$ estimées par le		$[Cd]_{PA}$ mesurée
	BCF minimum	BCF maximum	
	(mmol kg ⁻¹)		
30	7,03	9,49	1,56
20	8,82	11,9	
15	10,6	14,3	
10	15,2	20,5	

4.4.4 Phytoextraction du Cd

Les quantités extraites dans les parties aériennes (291 g ha^{-1}) de *N. caerulescens* sont similaires à celles déjà rapportées dans la littérature lors de cultures en conditions extérieures (Keller *et al.* 2003 ; Maxted *et al.* 2007 ; McGrath *et al.* 2000) où les quantités exportées variaient entre 130 g ha^{-1} et 300 g ha^{-1} . La diminution de la quantité accumulée en fin de culture s'explique tout simplement par l'abscission des feuilles de la rosette en fin de culture pour les trois années.

Une augmentation de la disponibilité du Cd dans le sol pourrait expliquer l'augmentation de la quantité prélevée en début de cycle de la plante avec l'augmentation du nombre de cycles de culture. L'état de stress hydrique des plantes en fin de culture pourrait expliquer le fait que Q_{PA} diminue en fin de cycle de la plante avec l'augmentation de nombre de successions de cultures. Les cultures n+1 et n+2 ayant subi moins de précipitations que l'année n.

Avant de lancer les cultures, le sol des bacs de culture contenait $9,29 \text{ kg}$ de Cd par hectare (soit 13 mg kg^{-1} sur 5 cm). Les plantes ayant prélevé $0,291 \text{ kg}$ de Cd par hectare lors de la première année de culture, le délai estimé pour ramener la teneur en Cd sous le seuil fixé par la réglementation (2 mg kg^{-1}) serait de $22,7$ ans, sans prendre en compte la baisse de rendement au fil des ans.

Un rendement qui ne diminue pas au fil des cultures passerait par une absence de diminution de l'accumulation du Cd par *N. caerulescens*. Cela suppose également un maintien de la disponibilité en Cd au même niveau. Cette hypothèse est justifiée par le modèle de Barber-Cushman qui montre que la disponibilité du Cd demeurerait élevée au cours des cultures.

Dans le cas d'un sol plus profondément contaminé en Cd, à 5 mg kg^{-1} sur 25 cm , le délai pour passer sous le seuil de 2 mg kg^{-1} est estimé à 31 ans dans des conditions identiques (absence de fertilisation).

Une fertilisation raisonnée, notamment azotée, permettrait de stabiliser voire d'améliorer ce rendement de phytoextraction puisque *N. caerulescens* est connue pour y répondre positivement.

Une augmentation de la production de biomasse par sélection des individus les plus intéressants (forte biomasse et BCF élevé, allocation dans les parties aériennes accrue) permettrait également d'améliorer le rendement. En effet, en sélectionnant les plantes ayant un facteur de bioconcentration double de celui constaté ici et en doublant la production de biomasse (fertilisation et sélection), on pourrait aisément ramener à 6 le nombre de cycles nécessaire pour dépolluer ce sol en Cd.

Une autre piste d'amélioration de la phytoextraction par *N. caerulescens* serait d'accélérer son cycle de vie afin de procéder à deux cultures par an. Cela semble possible, ainsi qu'en témoignent certains travaux ayant conduit à la production de mutants n'ayant pas besoin de vernalisation pour fleurir (O Lochlainn *et al.* 2011).

Enfin, nous l'avons vu ci-dessus, le stade au cours duquel la quantité de Cd dans les parties aériennes est maximale est situé aux alentours de 2000 °Cj à 2100 °Cj, ce qui correspond au stade siliques IV. La période conseillée pour la récolte de *Noccaea caerulescens* à visée de phytoextraction est donc la deuxième moitié du mois de mai dans le Nord-Est de la France.

Conclusion générale et perspectives



La compréhension de la dynamique d'accumulation des métaux dans les plantes est une condition nécessaire pour l'évaluation des risques et l'identification des moyens de remédiation de sols pollués. L'offre du sol a été beaucoup étudiée et modélisée alors que la demande de la plante en métal n'est à ce jour, pas encore bien comprise et prédite.

L'objectif de nos travaux de recherche était de contribuer, à travers une vision synthétique de l'homéostasie du Cd, à l'étude des cinétiques de prélèvement et d'accumulation du Cd chez *Noccaea caerulescens*, ainsi que de proposer une prédiction simplifiée de ces phénomènes.

Pour répondre à cet objectif, nous avons dans un premier temps réalisé une étude du prélèvement et de la répartition du Cd chez *N. caerulescens* à différents stades de développement sous exposition constante et environnement contrôlé.

En parallèle à cette première expérimentation, des cultures en conditions extérieures, dans des bacs, ont été réalisées sur un sol contaminé artificiellement en Cd, Ni et Zn. Les relations entre production de biomasse et prélèvement de Cd mises en évidence grâce aux expérimentations à exposition constante ont pu être testées.

À exposition constante, les concentrations dans les plantes entières, parties aériennes et parties racinaires ainsi que chacun des organes des parties aériennes sont restées constantes. Lors du passage au stade en fleurs, l'homéostasie vis à vis du Cd n'a pas été modifiée. Ce stade a présenté, dans chacun des tissus aériens, des concentrations similaires pour chaque niveau d'exposition. L'allocation du carbone est restée constante au cours du temps et insensible aux niveaux d'exposition auxquels les plantes ont été soumises.

Une relation linéaire très étroite existe entre quantité de Cd prélevé, biomasse et concentration d'exposition. De cette relation linéaire nous avons pu déduire les facteurs de bioconcentration. L'influx en Cd tel que nous le définissons est constant dans les conditions utilisées en aéroponie :

$$I_{Cd}(t) = \frac{BCF_p \cdot [Cd]_s \cdot b}{k}$$

avec

$$BCF_x = \frac{[Cd]_x(t)}{[Cd]_s} = C$$

de sorte que la quantité de Cd prélevé peut être calculée à partir de :

$$Q_{Cd_x}(t) = BCF_x \cdot [Cd]_s \cdot MS_x(t)$$

Le modèle a été validé en conditions expérimentales contrôlées et exposition constante. Les concentrations et quantités de Cd dans les différentes parties de la plante pourraient également être prédites à partir du prélèvement global Q_{CdPE} estimé à partir de l'équation de Barber-Cushman et les quantités absorbées seraient ensuite redistribuées dans les différents organes en utilisant le facteur d'allocation A_{CdPA}

$$A_{CdPA} = \frac{DM_{PA} * BCF_{PA}}{DM_{PE} * BCF_{PE}}$$

Cependant, le modèle mécaniste montre une nette tendance à sous estimer le prélèvement de Cd, probablement à cause d'une sous-estimation de la surface racinaire et une modélisation inadaptée de sa cinétique de croissance.

Les cultures en conditions extérieures ont permis de caractériser les stades phénologiques de *N. caerulea*. Le cycle de vie de la plante cultivée à l'extérieur est plus rapide que lors des cultures en conditions contrôlées car la vernalisation est intervenue plus tôt dans le cycle.

Les concentrations entre les différents organes des parties aériennes, tout comme en conditions contrôlées, sont identiques y compris dans les graines.

Cependant, il a été observé une variation de la concentration en Cd dans les parties aériennes au cours de la culture. La concentration a décliné assez régulièrement depuis la formation de la rosette jusqu'à la maturité de la plante, avec cependant une chute brutale de la teneur dans les tissus aériens durant l'hiver. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette dynamique : une retranslocation de Cd aux racines pendant l'hiver voire une sortie de Cd de la plante (ce phénomène n'a pas été observé à l'issue de la vernalisation en culture aéroponique), des pertes de feuilles durant l'hiver (avec une repousse de nouvelles feuilles par la suite mais le prélèvement de Cd étant plus faible, la concentration s'en trouve diminuée), un influx racinaire plus faible à basse température ou une diminution de disponibilité du Cd dans le sol avec la température.

À l'issue de la vernalisation, la baisse régulière de la concentration de la rosette (après la chute brutale) pourrait être expliquée par une diminution de la diffusion du Cd dans le sol, causée par une humidité du sol plus faible.

Les deux autres éléments étudiés, Ni et Zn, ont suivi la même dynamique que le Cd. La même démarche de modélisation pour la prédiction de leur accumulation pourrait donc être envisagée.

Le facteur de bioconcentration mesuré en aéroponie permet une prédiction meilleure des concentrations dans les parties aériennes que le modèle mécaniste.

Un découplage entre prélèvement racinaire et accumulation aérienne serait nécessaire afin de déterminer si le moteur de la demande de la plante est la capacité d'accumulation de la biomasse aérienne (par le nombre de site de stockage) ou la surface racinaire (par le nombre de sites de prélèvement et l'influx). Cela pourrait se faire par une modification du rapport entre biomasse aérienne et biomasse racinaire. Afin d'améliorer le modèle, les concentrations en Cd

dans la solution du sol et sa spéciation pourraient être suivis de manière plus fine et permettraient d'améliorer l'évaluation des facteurs de bioconcentration.

La modélisation mécaniste du prélèvement de métal pourrait être améliorée par la mesure précise de la profondeur d'enracinement et une modélisation architecturée de sa cinétique de croissance racinaire en sol. Le modèle mécaniste gagnerait également probablement en précision en évaluant mieux le pouvoir tampon du sol et en tenant compte de l'évolution de l'humidité du sol.

Dans un objectif de phytoextraction, il est recommandé de prélever les plantes au stade Siliques IV, correspondant à 2000-2100 °Cj et équivalent à une récolte la deuxième moitié du mois de mai. Dans le sol utilisé ici, qui contenait de l'ordre de 13 mg kg⁻¹ de Cd, il faudrait 23 années pour ramener sa teneur en Cd à 2 mg kg⁻¹. Étant donné la forte variabilité intraspécifique, une sélection des plantes à forte biomasse et facteur de bioconcentration élevé permettrait d'augmenter le rendement. En améliorant les performances de *N. caerulea* par dix (raccourcissement du cycle de vie, fertilisation, sélection des meilleurs individus), le délai pour dépolluer ce sol pourrait donc être ramené à 3 ans.

Bibliographie

- ADHIKARI, T. et RATTAN, R. (2000). Modelling zinc uptake by rice crop using a barber-cushman approach. *Plant and Soil*, 227:235–242.
- ALLOWAY, B. J. (1995). Cadmium. In ALLOWAY, B. J., éditeur : *Heavy metals in soils*, pages 122–151. Blackie Academic & Professional, Glasgow, second édition.
- ARAKI, R., MURATA, J. et MURATA, Y. (2011). A novel barley yellow stripe 1-like transporter (hvysl2) localized to the root endodermis transports metal-phytosiderophore complexes. *Plant and Cell Physiology*, 52(11):1931–1940.
- ARNOLD, T., KIRK, G. J. D., WISSUWA, M., FREI, M., ZHAO, F.-J., MASON, T. F. D. et WEISS, D. J. (2010). Evidence for the mechanisms of zinc uptake by rice using isotope fractionation. *Plant, Cell & Environment*, 33(3):370–381.
- ASSUNCAO, A. G. L., BOOKUM, W. M., NELISSEN, H. J. M., VOOJIS, R., SCHAT, H. et ERNST, W. H. O. (2003). Differential metal-specific tolerance and accumulation patterns among thlaspi caerulescens populations originating from different soil types. *New Phytologist*, 159(2):411–419.
- BAIZE, D., DESLAIS, W. et GAIFFE, M. (1999). Anomalies naturelles en cadmium dans les sols de France. *Etude et Gestion des Sols*, 6(2):85–104.
- BAKER, A. (1981). Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4):643–654.
- BAKER, A. et BROOKS, R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1:81–126.

- BAKER, A., McGRATH, P. et REEVES, R. (2000). Metal hyperaccumulator plants : a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In TERRY, N., BANUELOS, G. et VANGRONVELD, J., éditeurs : *Phytoremediation of soil and water*, pages 85–107. Lewis Publishers, Boca Raton, Fl. USA.
- BAKER, A., McGRATH, S., REEVES, R. et SMITH, J. (1999). Metal hyperaccumulator plants : A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, pages 85–107. CRC Press.
- BAKER, A., McGRATH, S., SIDOLI, C. et REEVES, R. (1994). The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources, Conservation and Recycling*, 11:41–49.
- BALSBERG PÅHLSSON, A.-M. (1989). Toxicity of heavy metals (zn, cu, cd, pb) to vascular plants. *Water, Air, & Soil Pollution*, 47:287–319.
- BANI, A. (2009). *Phytoextraction minière du nickel de sols de serpentine par l'hyperaccumulateur A. murale*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Université agricole de Tirana.
- BARBAROUX, R., PLASARI, E., MERCIER, G., SIMONNOT, M., MOREL, J. et BLAIS, J. (2012). A new process for nickel ammonium disulfate production from ash of the hyperaccumulating plant *alyssum murale*. *Science of The Total Environment*, 423(0):111 – 119.
- BARBER, S. et CUSHMAN, J. (1981). Nitrogen uptake model for agronomic crops. In ISKANDAR, J., éditeur : *Modeling waste water renovation-land treatment*, pages 382–409. J. Wiley Inter-Science, New York, first édition.
- BARBER, S. A. (1962). A diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. *Soil Science*, 93:39–49.
- BENZARTI, S., MOHRI, S. et ONO, Y. (2008). Plant response to heavy metal toxicity : Comparative study between the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens* (ecotype ganges) and nonaccumulator plants : Lettuce, radish, and alfalfa. *Environmental Toxicology*, 23(5):607–616.
- BERKELAAR, E. et HALE, B. (2000). The relationship between root morphology and cadmium accumulation in seedlings of two durum wheat cultivars. *Canadian Journal of Botany*, 78: 381–387.
- BERKELAAR, E. et HALE, B. (2003a). Cadmium accumulation by durum wheat roots in ligand-buffered hydroponic culture : uptake of cd-ligand complexes or enhanced diffusion? *Canadian Journal of Botany*, 81(7):755–763.
- BERKELAAR, E. et HALE, B. A. (2003b). Accumulation of cadmium by durum wheat roots : Bases for citrate-mediated exceptions to the free ion model. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(5):1155–1161.

- BOISSET, M. (1996). Effets toxiques majeurs du cadmium chez l'animal et l'homme. In BOISSET, M., éditeur : *Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque*, pages 119–130. Lavoisier Technique et Documentation, Paris.
- BOURENNANE, H., DOUAY, F., STERCKEMAN, T., VILLANNEAU, E., CIESIELSKI, H., KING, D. et BAIZE, D. (2010). Mapping of anthropogenic trace elements inputs in agricultural topsoil from northern France using enrichment factors. *Geoderma*, 157(3-4):165 – 174.
- BRISSON, N., GARY, C., JUSTES, E., ROCHE, R., MARY, B., RIPOCHE, D., ZIMMER, D., SIERRA, J., BERTUZZI, P. et BURGER, P. (2003). An overview of the crop model. *European Journal of Agronomy*, 18(3-4):309–332.
- BRISSON, N., MARY, B., RIPOCHE, D., JEUFFROY, M. H., RUGET, F., NICOULLAUD, B., GATE, P., DEVIENNE-BARET, F., ANTONIOLETTI, R., DURR, C., RICHARD, G., BEAUDOIN, N., RECOUS, S., TAYOT, X., PLENET, D., CELLIER, P., MACHET, J.-M., MEYNARD, J.-M. et DELÉCOLLE, R. (1998). Stics : a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. i. theory and parameterization applied to wheat and corn. *agronomie*, 18:311–346.
- BROOKS, R. (1983). *Biological Methods of Prospecting for Minerals*. John Wiley, New York.
- BROOKS, R., CHAMBERS, M., NICKS, L. et ROBINSON, B. (1998). Phytomining. *Trends in Plant Science*, 3(9):359–362.
- BROWN, S. L., CHANEY, R. L., ANGLE, J. S. et BAKER, A. J. M. (1995). Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *thlaspi caerulescens* and metal tolerant *silene vulgaris* grown on sludge-amended soils. *Environmental Science and Technology*, 29(6):1581–1585.
- CATALDO, D. A., GARLAND, T. R. et WILDUNG, R. E. (1983). Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiology*, 73:844–848.
- CATALDO, D. A., MCFADDEN, K. M., GARLAND, T. R. et WILDUNG, R. E. (1988). Organic constituents and complexation of nickel(ii), iron(iii), cadmium(ii), and plutonium(iv) in soybean xylem exudates. *Plant Physiology*, Vol. 86, No. 3:734–739.
- CETIOM (2009). Stades repères du colza. <http://www.cetiom.fr/colza/cultiver-du-colza/atouts-rendez-vous/stades-reperes/>.
- CHAIGNON, V., BEDIN, F. et HINSINGER, P. (2002). Copper bioavailability and rhizosphere pH changes as affected by nitrogen supply for tomato and oilseed rape cropped on an acidic and calcareous soil. *Plant and Soil*, 243:219–228.
- CHANEY, R. (1983). Plant uptake of inorganic waste constituents. In PARR, J., MARSH, B. et KLA, J., éditeurs : *Land Treat of Hazard Wastes*, pages 50–76. Noyes Data Corp., Park Ridge, NJ.
- CHARDONNENS, A. N., ten BOOKUM, W. M., KUIJPER, L. D. J., VERKLEIJ, J. A. C. et ERNST, W. H. O. (1998). Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 104:75–80.

- CHAUDRI, A. M., ZHAO, F. J., McGRATH, S. P. et CROSLAND, A. R. (1995). The cadmium content of british wheat grain. *Journal of Environmental Quality*, 24:850–855.
- CHRISTENSEN, T. H. (1984). Cadmium soil sorption at low concentrations : I. effect of time, cadmium load, ph, and calcium. *Water, Air, and Soil Pollution*, 21:105–114.
- CIESLINSKI, G., VAN REES, K. C. J., HUANG, P. M., KOZAK, L. M., ROSTAD, H. P. W. et KNOTT, D. R. (1996). Cadmium uptake and bioaccumulation in selected cultivars of durum wheat and flax as affected by soil type. *Plant and Soil*, 182:115–124.
- CLAASSEN, N., SYRING, K. et JUNGK, A. (1986). Verification of a mathematical model by simulating potassium uptake from soil. *Plant and Soil*, 95:209–220.
- CLEMENS, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212:475–486.
- CLEMENS, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88(11):1707–1719.
- CLEMENS, S., ANTOSIEWICZ, D. M., WARD, J. M., SCHACHTMAN, D. P. et SCHROEDER, J. I. (1998). The plant cDNA lct1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(20):12043–12048.
- CLEMENS, S., PALMGREN, M. G. et KRAMER, U. (2002). A long way ahead : understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science*, 7(7):309–315.
- COBBETT, C. S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*, 123:825–832.
- COHEN, C. K., FOX, T. C., GARVIN, D. F. et KOCHIAN, L. V. (1998). The role of iron-deficiency stress responses in stimulating heavy-metal transport in plants. *Plant Physiology*, 116:1063–1072.
- COLLINS, R. N., MERRINGTON, G., McLAUGHLIN, M. J. et KNUDSEN, C. (2002). Uptake of intact zinc-ethylenediaminetetraacetic acid from soil is dependent on plant species and complex concentration. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(9):1940–1945.
- COMMISSION-EUROPÉENNE (2006). Commission regulation (ec) n1881/2006 of 19 december 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
- COSIO, C., DESANTIS, L., FREY, B., DIALLO, S. et KELLER, C. (2005). Distribution of cadmium in leaves of *thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, 56:765–775.
- COSTA, G. et MOREL, J. L. (1993). Cadmium uptake by *lupinus albus* (L.) : Cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance. *Journal of Plant Nutrition*, 16(10):1921–1929.
- COSTA, G. et MOREL, J. L. (1994). Efficiency of h⁺atpase activity on cadmium uptake by four cultivars of lettuce. *Journal of Plant Nutrition*, 17(4):627–637.

- CUSTOS, J.-M. (2012). *Modélisation de processus rhizosphériques : prélèvement de cadmium en présence de ligand organique et modification du pH par les racines*. Mémoire de doctorat, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy.
- CUSTOS, J.-M., MOYNE, C., TREILLON, T. et STERCKEMAN, T. (2012). Contribution of dissociation of cd complexes and direct absorption to cadmium root uptake. *En préparation*.
- DALCORSO, G., FARINATI, S., MAISTRI, S. et FURINI, A. (2008). How plants cope with cadmium : Staking all on metabolism and gene expression. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(10): 1268–1280.
- DAS, P., SAMANTARAY, S. et ROUT, G. R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants : A review. *Environmental Pollution*, 98(1):29–36.
- DAUTHIEU, M., DENAIX, L., NGUYEN, C., PANFILI, F., PERROT, F. et POTIN-GAUTIER, M. (2009). Cadmium uptake and distribution in arabidopsis thaliana exposed to low chronic concentrations depends on plant growth. *Plant and Soil*, 322(1):239–249.
- DECHAMPS, C., ROSENS, N. H., HOTTE, C. et MEERTS, P. (2005). Growth and mineral element composition in two ecotypes of thlaspi caerulescens on cd contaminated soil. *Plant and Soil*, 273(1 - 2):327–335.
- DEGRYSE, F., BUEKERS, J. et SMOLDERS, E. (2004). Radio-labile cadmium and zinc in soils as affected by ph and source of contamination. *European Journal of Soil Science*, 55(1):113–122.
- DEGRYSE, F., SMOLDERS, E. et MERCKX, R. (2006). Labile cd complexes increase cd availability to plants. *Environmental Science & Technology*, 40(3):830–836.
- DOUAY, F., PRUVOT, C., WATERLOT, C., FRITSCH, C., FOURRIER, H., LORIETTE, A., BIDAR, G., GRAND, C., de VAUFLEURY, A. et SCHEIFLER, R. (2009). Contamination of woody habitat soils around a former lead smelter in the north of france. *Science of The Total Environment*, 407(21):5564 – 5577.
- DUNBAR, K. R., McLAUGHLIN, M. J. et REID, R. J. (2003). The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (solanum tuberosum l.). *Journal of Experimental Botany*, 54(381): 349–354.
- EBBS, S. D., ZAMBRANO, M. C., SPILLER, S. M. et NEWVILLE, M. (2009). Cadmium sorption, influx, and efflux at the mesophyll layer of leaves from ecotypes of the zn/cd hyperaccumulator thlaspi caerulescens. 181(3):626–636.
- EEA (2012). European environment agency (eea) environmental topics, <http://www.eea.europa.eu/themes>.
- EFSA (2009). Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the european commission on cadmium in food. *The EFSA Journal*, 980:1–139.

- EL HINNAWY, E. (1956). *Some aspects of mineral nutrition and flowering*. Thèse de doctorat, Veenman, Wageningen.
- ERNST, W. H. O., KRAUSS, G.-J., VERKLEIJ, J. A. C. et WESENBERG, D. (2008). Interaction of heavy metals with the sulphur metabolism in angiosperms from an ecological point of view. *Plant, Cell & Environment*, 31(1):123–143.
- ESCARRÉ, J., LEFÈVRE, C., RABOYEAU, S., DOSSANTOS, A., GRUBER, W., CLEYET MAREL, J., FRÉROT, H., NORET, N., MAHIEU, S., COLLIN, C. et van OORT, F. (2011). Heavy metal concentration survey in soils and plants of the les malines mining district (southern france) : Implications for soil restoration. *Water, Air, & Soil Pollution*, 216:485–504.
- FISMES, J., ECHEVARRIA, G., LECLERC-CESSAC, E. et MOREL, J. L. (2005). Uptake and transport of radioactive nickel and cadmium into three vegetables after wet aerial contamination. *Journal of Environmental Quality*, 34(5):1497–1507.
- FUJIMAKI, S., SUZUI, N., ISHIOKA, N. S., KAWACHI, N., ITO, S., CHINO, M. et NAKAMURA, S.-i. (2010). Tracing cadmium from culture to spikelet : Noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport, and accumulation of cadmium in an intact rice plant. *Plant Physiology*, 152(4):1796–1806.
- GENDRE, D., CZERNIC, P., CONÉJÉRO, G., PIANELLI, K., BRIAT, J.-F., LEBRUN, M. et MARI, S. (2007). Tcysl3, a member of the ysl gene family from the hyper-accumulator thlaspi caerulescens, encodes a nicotianamine-ni/fe transporter. *The Plant Journal*, 49(1):1–15.
- GIRLING, C. et PETERSON, P. (1981). The significance of the cadmium species in uptake and metabolism of cadmium in crop plants. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4):707–720.
- GISOL (2011). L'état des sols de france. Rapport technique, Groupement d'intérêt scientifique sur les sols.
- GÉRARD, E., ECHEVARRIA, G., STERCKEMAN, T. et MOREL, J. L. (2000). Cadmium availability to three plant species varying in cadmium accumulation pattern. *Journal of Environmental Quality*, 29(4):1117–1123.
- GREGER, M. et LOFSTEDT, M. (2004). Comparison of uptake and distribution of cadmium in different cultivars of bread and durum wheat. *Crop Science*, 44(2):501–507.
- GUIMARÃES, M. d. A., GUSTIN, J. L. et SALT, D. E. (2009). Reciprocal grafting separates the roles of the root and shoot in zinc hyperaccumulation in thlaspi caerulescens. *New Phytologist*, 184(2):323–329.
- GUO, W.-J., MEETAM, M. et GOLDSBROUGH, P. B. (2008). Examining the specific contributions of individual arabidopsis metallothioneins to copper distribution and metal tolerance. *Plant Physiology*, 146(4):1697–1706.
- HALL, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance.

- HANIKENNE, M. et NOUET, C. (2011). Metal hyperaccumulation and hypertolerance : a model for plant evolutionary genomics. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3):252–259.
- HARRIS, N. et TAYLOR, G. (2004). Cadmium uptake and translocation in seedlings of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation. *BMC Plant Biology*, 4(1):4.
- HART, J. J., WELCH, R. M., NORVELL, W. A., SULLIVAN, L. A. et KOCHIAN, L. V. (1998). Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiology*, 116:1413–1420.
- HELMKE, P. (1999). Chemistry of cadmium in soil solution. In M.J. McLaughlin, B.R. Singh (Co-ordinateurs), *Cadmium in soils and plants. Developments in plant and soil sciences.*, pages 39–64. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- HINSINGER, P., PLASSARD, C., TANG, C. et JAILLARD, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints : A review. *Plant and Soil*, 248:43–59.
- HUTCHINSON, J. J., YOUNG, S. D., McGRATH, S. P., WEST, H. M., BLACK, C. R. et BAKER, A. J. M. (2000). Determining uptake of 'non-labile' soil cadmium by *thlaspi caerulescens* using isotopic dilution techniques. *New Phytologist*, 146:453–460.
- INGWERSEN, J., BUCHERL, B., NEUMANN, G. et STRECK, T. (2006). Cadmium leaching from micro-lysimeters planted with the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens* : experimental findings and modeling. *Journal of Environmental Quality*, 35(6):2055–2065.
- JANOT, C. (1990). *Contribution à l'étude du transfert sol-plante du cadmium. Essai de validation du modèle "Uptake" (Barber) pour Lactuca sativa L. & Lupinus albus L.* Mémoire de DEA, Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy.
- JARVIS, S. C., JONES, L. H. P. et HOPPER, M. J. (1976). Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots. *Plant and Soil*, 44:179–191.
- JUSTES, E., MARY, B., MEYNARD, J. M., MACHET, J. M. et THELIER-HUCHE, L. (1994). Determination of a critical nitrogen dilution curve for winterwheat crops. *Annals of Botany*, 74(4):397–407.
- KABATA-PENDIAS, A. (2001). *Trace elements in soils and plants*, volume Third edition. CRC Press.
- KELLER, C., HAMMER, D., KAYSER, A., RICHNER, W., BRODBECK, M. et SENNHAUSER, M. (2003). Root development and heavy metal phytoextraction efficiency : comparison of different plant species in the field. *Plant and Soil*, 249(1):67–81.
- KELLER, C., LUDWIG, C., DAVOLI, F. et WOCHLE, J. (2005). Thermal treatment of metal-enriched biomass produced from heavy metal phytoextraction.

- KIM, D.-Y., BOVET, L., MAESHIMA, M., MARTINOIA, E. et LEE, Y. (2007). The abc transporter atpdr8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance. *The Plant Journal*, 50(2):207–218.
- KOOPMANS, G. F., RÖMKENS, P., FOKKEMA, M. J., SONG, J., LUO, Y. M., JAPENGA, J. et ZHAO, F. J. (2008). Feasibility of phytoextraction to remediate cadmium and zinc contaminated soils. *Environmental Pollution*, 156(3):905–914.
- KORENKOV, V., KING, B., HIRSCHI, K. et WAGNER, G. J. (2009). Root-selective expression of atcax4 and atcax2 results in reduced lamina cadmium in field-grown nicotiana tabacum l. *Plant Biotechnology Journal*, 7(3):219–226.
- KORENKOV, V., PARK, S., CHENG, N.-H., SREEVIDYA, C., LACHMANSINGH, J., MORRIS, J., HIRSCHI, K. et WAGNER, G. J. (2007). Enhanced cd²⁺-selective root-tonoplast-transport in tobaccos expressing arabidopsis cation exchanger. *Planta*, 225:403–411.
- KORSHUNOVA, Y. O., EIDE, D., GREGG CLARK, W., LOU GUERINOT, M. et PAKRASI, H. B. (1999). The irt1 protein from arabidopsis thaliana is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant Molecular Biology*, 40:37–44.
- KRÄMER, U. (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1):517–534.
- KRÄMER, U., SMITH, R. D., WENZEL, W. W., RASKIN, I. et SALT, D. E. (1997). The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by thlaspi goesingense halacsy. *Plant Physiology*, 115:1641–1650.
- KRÄMER, U., TALKE, I. N. et HANIKENNE, M. (2007). Transition metal transport. *FEBS Letters*, 581(12):2263–2272.
- KUPPER, H., MIJOVILOVITCH, A., MEYER-KLAUCKE, W. et KRONECK, P. M. H. (2004). Tissue- and age-dependant differences in the complexation of cadmium and zinc in the cadmium/zinc hyperaccumulator thlaspi caerulescens (ganges ecotype) revealed by x-ray absorption spectroscopy. *Plant Physiology*, 134:748–757.
- LANE, T. W., SAITO, M. A., GEORGE, G. N., PICKERING, I. J., PRINCE, R. C. et MOREL, F. M. M. (2005). The first cadmium enzyme - carbonic anhydrase 2 from the marine diatom thalassiosira weissflogii. SSRL Scienc High.
- LEBLANC, J.-C., VERGER, P., GUÉRIN, T. et VOLATIER, J.-L. (2004). Etude de l'alimentation totale française. mycotoxines, minéraux et éléments traces. Rapport technique, Institut National Agronomique paris-Grignon Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, Paris.
- LEITENMAIER, B. et KÜPPER, H. (2011). Cadmium uptake and sequestration kinetics in individual leaf cell protoplasts of the cd/zn hyperaccumulator thlaspi caerulescens. *Plant, Cell & Environment*, 34(2):208–219.

- LI, Y., CHANEY, R., ANGLE, J., CHEN, K., KERSCHNER, B. et BAKER, A. (1996). Genotypical differences in zinc and cadmium hyperaccumulation in *thlaspi caerulescens*. *Agron Abstr*, 27.
- LIU, C. P., SHEN, Z. G. et LI, X. D. (2007). Accumulation and detoxification of cadmium in *brassica pekinensis* and *b. chinensis*. *Biologia Plantarum*, V51(1):116–120.
- LIU, M.-Q., YANAI, J., JIANG, R.-F., ZHANG, F., McGRATH, S. P. et ZHAO, F.-J. (2008). Does cadmium play a physiological role in the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*? *Chemosphere*, 71(7):1276–1283.
- LOMBI, E., TEARALL, K. L., HOWARTH, J. R., ZHAO, F.-J., HAWKESFORD, M. J. et McGRATH, S. P. (2002). Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, 128:1359–1367.
- LOMBI, E., ZHAO, F. J., DUNHAM, S. J. et McGRATH, S. P. (2000). Cadmium accumulation in populations of *thlaspi caerulescens* and *thlaspi goesingense*. *New Phytologist*, 145:11–20.
- LOMBI, E., ZHAO, F. J., McGRATH, S. P., YOUNG, S. D. et SACCHI, G. E. (2001). Physiological evidence for a high-affinity cadmium transporter highly expressed in a *thlaspi caerulescens* ecotype. *New Phytologist*, 149:53–60.
- LOVY, L., LATT, D. et STERCKEMAN, T. (2013). Cadmium uptake and partitioning in the hyperaccumulator *noccaea caerulescens* exposed to constant cd concentrations throughout complete growth cycles. *Plant and Soil*, 362:345–354.
- LU, L.-l., TIAN, S.-k., YANG, X.-e., WANG, X.-c., BROWN, P., LI, T.-q. et HE, Z.-l. (2008). Enhanced root-to-shoot translocation of cadmium in the hyperaccumulating ecotype of *sedum alfredii*. *Journal of Experimental Botany*, 59(11):3203–3213.
- LUX, A., MARTINKA, M., VACULÍK, M. et WHITE, P. J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere : a review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1):21–37.
- MARSCHNER, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Special Publications of the Society for General Microbiology. Academic Press.
- MARTIN-GARIN, A., VAN CAPPELLEN, P. et CHARLET, L. (2003). Aqueous cadmium uptake by calcite : A stirred flow-through reactor study. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(15): 2763–2774.
- MARTINEFSKY, M. J., ASSUERO, S. G., MOLLIER, A. et PELLERIN, S. (2010). Analysis of the response of two tall fescue cultivars of different origin to p deficiency. *Environmental and Experimental Botany*, 69(3):250–258.
- MAXTED, A. P., BLACK, C. R., WEST, H. M., CROUT, N. M. J., McGRATH, S. P. et YOUNG, S. D. (2007). Phytoextraction of cadmium and zinc from arable soils amended with sewage sludge using *thlaspi caerulescens* : Development of a predictive model. *Environmental Pollution*, 150(3):363–372.

- McGRATH, S. P., DUNHAM, S. J. et CORRELL, R. L. (2000). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, chapitre Potential for phytoextraction of zinc and cadmium from soils using hyperaccumulator plants., pages 109–128. Lewis Publishers.
- McLAUGHLIN, M. J., ANDREW, S. J., SMART, M. K. et SMOLDERS, E. (1998a). Effects of sulfate on cadmium uptake by swiss chard : I. effects of complexation and calcium competition in nutrient solutions. *Plant and Soil*, 202(2):211–216.
- McLAUGHLIN, M. J., LAMBRECHTS, R. M., SMOLDERS, E. et SMART, M. K. (1998b). Effects of sulfate on cadmium uptake by swiss chard : Ii. effects due to sulfate addition to soil. *Plant and Soil*, 202(2):217–222.
- McLAUGHLIN, M. J., TILLER, K. G. et SMART, M. K. (1997). Speciation of cadmium in soil solutions of saline/sodic soils and relationship with cadmium concentrations in potato tubers (*solanum tuberosum* L.). *Australian Journal of Soil Research*, 35:183–198.
- MENCH, M., BAIZE, D., DENAIX, L., SAPPIN-DIDIER, V. et STERCKEMAN, T. (2001). Exposition de végétaux aux éléments traces via la solution du sol : diagnostic de contamination des récoltes, diagnostic de danger, pratiques agricoles pour prévenir ou assainir. In THÉVENET, G. et JOUBERT, A., éditeurs : *5emes Rencontres de la Fertilisation Raisonnée et de l'Analyse de Terre. Les nouveaux Défis de la Fertilisation Raisonnée.*, pages 317–331, Blois. GEMAS et COMIFER.
- MILNER, M. J. et KOCHIAN, L. V. (2008). Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *thlaspi caerulescens* as a model system. *Annals of Botany*, 102(1):3–13.
- MÜLLER, I., SCHMID, B. et WEINER, J. (2000). The effect of nutrient availability on biomass allocation patterns in 27 species of herbaceous plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 3(2):115 – 127.
- MONSANT, A., WANG, Y. et TANG, C. (2010). Nitrate nutrition enhances zinc hyperaccumulation in *noccaea caerulescens* (prayon). *Plant and Soil*, 336:391–404.
- MONSANT, A. C., TANG, C. et BAKER, A. J. M. (2008). The effect of nitrogen form on rhizosphere soil ph and zinc phytoextraction by *thlaspi caerulescens*. *Chemosphere*, 73(5):635–642.
- MOREL, M., CROUZET, J., GRAVOT, A., AUROY, P., LEONHARDT, N., VAVASSEUR, A. et RICHAUD, P. (2009). Athma3, a p1b-atpase allowing cd/znco/pb vacuolar storage in arabidopsis. *American Society of Plant Biologists*, 149 no. 2:894–904.
- MULLINS, G., SOMMERS, L. et BARBER, S. (1986). Modelling the plant uptake of cadmium and zinc from soils treated with sewage sludge. *Soil Science Society of America Journal*, 50:1245–1250.
- NOCITO, F. F., LANCILLI, C., DENDENA, B., LUCCHINI, G. et SACCHI, G. A. (2011). Cadmium retention in rice roots is influenced by cadmium availability, chelation and translocation. *Plant, Cell & Environment*, 34(6):994–1008.

- NOWACK, B., SCHULIN, R. et ROBINSON, B. H. (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Environmental Science & Technology*, 40(17):5225–5232.
- NYE, P. et MARRIOTT, F. (1969). A theoretical study of the distribution of substances around roots resulting from simultaneous diffusion and mass flow. *Plant and Soil*, 30(3):459–473.
- O LOCHLAINN, S., FRAY, R. G., HAMMOND, J. P., KING, G. J., WHITE, P. J., YOUNG, S. D. et BROADLEY, M. R. (2011). Generation of nonvernal-obligate, faster-cycling *noccaea caerulescens* lines through fast neutron mutagenesis. *New Phytologist*, 189(2):409–414.
- OOMEN, R. J. F. J., WU, J., LELIÈVRE, F., BLANCHET, S., RICHAUD, P., BARBIER-BRYGOO, H., AARTS, M. G. M. et THOMINE, S. (2009). Functional characterization of nramp3 and nramp4 from the metal hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 181(3):637–650.
- PAGE, V., BAYON, R.-C. L. et FELLER, U. (2006). Partitioning of zinc, cadmium, manganese and cobalt in wheat (*triticum aestivum*) and lupin (*lupinus albus*) and further release into the soil. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3):269–278.
- PALMER, C. E., WARWICK, S. et KELLER, W. (2001). Brassicaceae (cruciferae) family, plant biotechnology, and phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 3(3):245–287.
- PANFILI, F., SCHNEIDER, A., VIVES, A., PERROT, F., HUBERT, P. et PELLERIN, S. (2009). Cadmium uptake by durum wheat in presence of citrate. *Plant and Soil*, 316:299–309.
- PEDAS, P., YTTING, C. K., FUGLSANG, A. T., JAHN, T. P., SCHJOERRING, J. K. et HUSTED, S. (2008). Manganese efficiency in barley : Identification and characterization of the metal ion transporter hvirt1. *Plant Physiology*, 148(1):455–466.
- PENCE, N. S., LARSEN, P. B., EBBS, S. D., LETHAM, D. L. D., LASAT, M. M., GARVIN, D. F., EIDE, D. et KOCHIAN, L. V. (2000). The molecular physiology of heavy metal transport in the zn/cd hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences Of the United States of America*, 97(9):4956–4960.
- PERFUS-BARBEOCH, L., LEONHARDT, N., VAVASSEUR, A. et FORESTIER, C. (2002). Heavy metal toxicity : Cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant Journal*, 32(4):539–548.
- PERRIGUEY, J. (2006). *Modélisation du prélèvement de cadmium par le maïs (Zea mays L.) et le tabouret calaminaire (Thlaspi caerulescens J & C Presl.)*. Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy.
- PERRONNET, K., SCHWARTZ, C. et MOREL, J. L. (2003). Distribution of cadmium and zinc in the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens* grown on multicontaminated soil. *Plant and Soil*, 249(1):19–25.

- PERSSON, D. P., HANSEN, T. H., HOLM, P. E., SCHJOERRING, J. K., HANSEN, H. C. B., NIELSEN, J., ÇAKMAK, I. et HUSTED, S. (2006). Multi-elemental speciation analysis of barley genotypes differing in tolerance to cadmium toxicity using sec-icp-ms and esi-tof-ms. *J. Anal. At. Spectrom.*, 21(10):996–1005.
- PINEROS, M. A., SHAFF, J. E. et KOCHIAN, L. V. (1998). Development, characterization, and application of a cadmium-selective microelectrode for the measurement of cadmium fluxes in roots of thlaspi species and wheat. *Plant Physiology*, 116:1393–1401.
- PLAZA, S., TEARALL, K. L., ZHAO, F.-J., BUCHNER, P., McGRATH, S. P. et HAWKESFORD, M. J. (2007). Expression and functional analysis of metal transporter genes in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator thlaspi caerulescens. *Journal of Experimental Botany*, 58(7):1717–1728.
- POORTER, H. et NAGEL, O. (2000). The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, co₂, nutrients and water : a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27(12):1191–1191.
- PTASHNYK, M., ROOSE, T., JONES, D. L. et KIRK, G. J. D. (2011). Enhanced zinc uptake by rice through phytosiderophore secretion : a modelling study. *Plant, Cell & Environment*, 34(12):2038–2046.
- RASCIO, N. et NAVARI-IZZO, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants : How and why do they do it ? and what makes them so interesting ? *Plant Science*, 180(2):169–181.
- REDJALA, T., STERCKEMAN, T. et MOREL, J. L. (2009). Cadmium uptake by roots : Contribution of apoplast and of high- and low-affinity membrane transport systems. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1):235–242.
- REDJALA, T., STERCKEMAN, T. et MOREL, J.-L. (2010a). Determination of the different components of cadmium short-term uptake by roots. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(6): 935–945.
- REDJALA, T., STERCKEMAN, T., SKIKER, S. et ECHEVARRIA, G. (2010b). Contribution of apoplast and symplast to short term nickel uptake by maize and leptoplax emarginata roots. *Environmental and Experimental Botany*, 68(1):99 – 106.
- REDJALA, T., ZELKO, I., STERCKEMAN, T., LEGUÉ, V. et LUX, A. (2011). Relationship between root structure and root cadmium uptake in maize. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2):241 – 248.
- REEVES, R. D., SCHWARTZ, C., MOREL, J. L. et EDMONDSON, J. (2001). Distribution and metal-accumulating behavior of thlaspi caerulescens and associated metallophytes in france. *International Journal of Phytoremediation*, 3(2):145–172.

- ROBINSON, B. H., LEBLANC, M., PETIT, D., BROOKS, R. R., KIRKMAN, J. H. et GREGG, P. E. H. (1998). The potential of *thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant and Soil*, 203:47–56.
- ROOSENS, N., VERBRUGGEN, N., MEERTS, P., XIMÉNEZ-EMBÚN, P. et SMITH, J. A. C. (2003). Natural variation in cadmium tolerance and its relationship to metal hyperaccumulation for seven populations of *thlaspi caerulescens* from western europe. *Plant, Cell and Environment*, 26(10):1657–1672.
- SADANA, U. et CLAASSEN, N. (2000). Manganese dynamics in the rhizosphere and mn uptake by different crops evaluated by a mechanistic model. *Plant and Soil*, 218:233–238.
- SALAH et BARRINGTON (2006). Effect of soil fertility and transpiration rate on young wheat plants cd/zn uptake and yield. *Agricultural water management*, 82:177–192.
- SALT, D., BLAYLOCK, M., KUMAR, N., DUSHENKOV, V., ENSLEY, B., CHET, I. et RASKIN, I. (1995a). Phytoremediation : a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/Technology*, 13(5):468–474.
- SALT, D. E., PRINCE, R. C., PICKERING, I. J. et RASKIN, I. (1995b). Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *Plant Physiology*, 109:1427–1433.
- SALT, D. E. et WAGNER, G. J. (1993). Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. evidence for a cd^{2+}/h^{+} antiport activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(17):12297–12302.
- SARRET, G., VANGRONSVELD, J., MANCEAU, A., MUSSO, M., D'HAEN, J., MENTHONNEX, J.-J. et HAZEMANN, J.-L. (2001). Accumulation forms of zn and pb in *phaseolus vulgaris* in the presence and absence of edta. *Environmental Science & Technology*, 35(13):2854–2859.
- SAUVÉ, S., HENDERSHOT, W. et ALLEN, H. E. (2000). Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils : Dependence on ph, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science & Technology*, 34(7):1125–1131.
- SCHAIDER, L., PARKER, D. et SEDLAK, D. (2006). Uptake of edta-complexed pb, cd and fe by solution- and sand-cultured *brassica juncea*. *Plant and Soil*, 286(1):377–391.
- SCHAT, H., LLUGANY, M., VOOIJS, R., HARTLEY-WHITAKER, J. et BLEEKER, P. M. (2002). The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *Journal of Experimental Botany*, 53(379):2381–2392.
- SCHMITT-SIRGUEY, C. (2004). *Dynamique du Cd disponible du sol sous l'influence de l'hyperaccumulateur Thlaspi caerulescens*. Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-Lès-Nancy.
- SCHNEIDER, A. (2008). An exchange method to investigate the kinetics of cd complexation in soil solutions. *Environmental Science & Technology*, 42(11):4076–4082.

- SCHNEIDER, A. et NGUYEN, C. (2011). Use of an exchange method to estimate the association and dissociation rate constants of cadmium complexes formed with low-molecular-weight organic acids commonly exuded by plant roots. *J. Environ. Qual.*, 40(6):1857–1862.
- SCHWARTZ, C., MOREL, J. L., SAUMIER, S., WHITING, S. N. et BAKER, A. J. (1999). Root development of the zinc-hyperaccumulator plant *thlaspi caerulescens* as affected by metal origin, content and localization in soil. *Plant and Soil*, 208(1):103–115.
- SENDEN, M., van der MEER, A., VERBURG, T. et WOLTERBEEK, H. (1995). Citric acid in tomato plant roots and its effect on cadmium uptake and distribution. *Plant and Soil*, 171:333–339.
- SHENKER, M., FAN, T. W.-M. et CROWLEY, D. E. (2001). Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. *Journal of Environmental Quality*, 30: 2091–2098.
- SHEORAN, V., SHEORAN, A. et POONIA, P. (2009). Phytomining : A review. *Minerals Engineering*, 22(12):1007 – 1019.
- SHIM, D., HWANG, J.-U., LEE, J., LEE, S., CHOI, Y., AN, G., MARTINOIA, E. et LEE, Y. (2009). Orthologs of the class a4 heat shock transcription factor *hsfa4a* confer cadmium tolerance in wheat and rice. *The Plant Cell Online*, 21(12):4031–4043.
- SHIPLEY, B. et MEZIANE, D. (2002). The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology*, 16(3):326–331.
- SILBERBUSH, M. et BARBER, S. (1983). Prediction of phosphorus and potassium uptake by soybeans with a mechanistic mathematical model. *Soil Science Society of America Journal*, 47:262–265.
- SIRGUEY, C., SCHWARTZ, C. et MOREL, J. L. (2006). Response of *thlaspi caerulescens* to nitrogen, phosphorus and sulfur fertilisation. *International Journal of Phytoremediation*, 8:149–161.
- SMOLDERS, E. et McLAUGHLIN, M. J. (1996). Chloride increases cadmium uptake in swiss chard in a resin-buffered nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal*, 60:1443–1447.
- STERCKEMAN, T. (2008). *Origine et devenir des éléments en traces dans le système sol-plante*. Mémoire de HDR, Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy.
- STERCKEMAN, T. (2009). Dépolluer les sols par des plantes, la phytoremédiation. *INRA Mensuel, Dossier Le Sol*, Janvier 2009:132–134.
- STERCKEMAN, T., CARIGNAN, J., SRAYEDDIN, I., BAIZE, D. et CLOQUET, C. (2009). Availability of soil cadmium using stable and radioactive isotope dilution. *Geoderma*, 153(3-4):372–378.
- STERCKEMAN, T., DUQUENE, L., PERRIGUEY, J. et MOREL, J. L. (2005). Quantifying the effect of rhizosphere processes on the availability of soil cadmium and zinc. *Plant and Soil*, 276:335–345.

- STERCKEMAN, T., PERRIGUEY, J., CAËL, M., SCHWARTZ, C. et MOREL, J. (2004). Applying a mechanistic model to cadmium uptake by zea mays and thlaspi caerulescens : Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil*, 262(1-2):289–302.
- STERCKEMAN, T., REDJALA, T. et MOREL, J. L. (2011). Influence of exposure solution composition and of plant cadmium content on root cadmium short-term uptake. *Environmental and Experimental Botany*, 74(0):131 – 139.
- SUN, Q., YE, Z. H., WANG, X. R. et WONG, M. H. (2007). Cadmium hyperaccumulation leads to an increase of glutathione rather than phytochelatins in the cadmium hyperaccumulator sedum alfredii. *Journal of Plant Physiology*, 164(11):1489 – 1498.
- THOMINE, S., LELIÈVRE, F., DEBARBIEUX, E., SCHROEDER, J. I. et BARBIER-BRYGOO, H. (2003). AtNramp3, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency. *The Plant Journal*, 34(5):685–695.
- THOMINE, S., WANG, R., WARD, J. M., CRAWFORD, N. M. et SCHROEDER, J. I. (2000). Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in arabidopsis with homology to nramp genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9):4991–4996.
- TOMMASINI, R., VOGT, E., FROMENTEAU, M., HÖRTENSTEINER, S., MATILE, P., AMRHEIN, N. et MARTINOIA, E. (1998). An abc-transporter of arabidopsis thaliana has both glutathione-conjugate and chlorophyll catabolite transport activity. *The Plant Journal*, 13(6):773–780.
- UENO, D., IWASHITA, T., ZHAO, F.-J. et MA, J. F. (2008). Characterization of cd translocation and identification of the cd form in xylem sap of the cd-hyperaccumulator arabidopsis halleri. *Plant & Cell Physiology*, 49(4):540–548.
- UENO, D., KOYAMA, E., YAMAJI, N. et MA, J. F. (2011a). Physiological, genetic, and molecular characterization of a high-cd-accumulating rice cultivar, jarjan. *Journal of Experimental Botany*, 62(7):2265–2272.
- UENO, D., MILNER, M. J., YAMAJI, N., YOKOSHO, K., KOYAMA, E., CLEMENCIA ZAMBRANO, M., KASKIE, M., EBBS, S., KOCHIAN, L. V. et MA, J. F. (2011b). Elevated expression of tchma3 plays a key role in the extreme cd tolerance in a cd-hyperaccumulating ecotype of thlaspi caerulescens. *The Plant Journal*, 66(5):852–862.
- URAGUCHI, S., MORI, S., KURAMATA, M., KAWASAKI, A., ARAO, T. et ISHIKAWA, S. (2009a). Root-to-shoot cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 60(9):2677–2688.
- URAGUCHI, S., WATANABE, I., YOSHITOMI, A., KIYONO, M. et KUNO, K. (2009b). Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel cd-accumulating crops, avena strigosa and crotalaria juncea. *Journal of Experimental Botany*, 57(12):2955–2965.

- VAN DE MORTEL, J. E., SCHAT, H., MOERLAND, P. D., VAN THEMAAT, E. V. L., VAN DER ENT, S., BLANKESTIJN, H., GHANDILYAN, A., TSIATSIANI, S. et AARTS, M. G. M. (2008). Expression differences for genes involved in lignin, glutathione and sulphate metabolism in response to cadmium in *Arabidopsis thaliana* and the related zn/cd-hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell and Environment*, 31(3):301–324.
- VERBRUGGEN, N., HERMANS, C. et SCHAT, H. (2009). Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, 181(4):759–776.
- VOLLENWEIDER, P., COSIO, C., GUNTARDT-GOERG, M. S. et KELLER, C. (2006). Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) : Part ii microlocalization and cellular effects of cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3):25–40.
- VON WIRÉN, N., MARSCHNER, H. et RÖMHELD, V. (1996). Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. *Plant Physiology*, 111:1119–1125.
- WANG, P., ZHOU, D., LUO, X. et LI, L. (2009). Effects of zn-complexes on zinc uptake by wheat (*Triticum aestivum*) roots : a comprehensive consideration of physical, chemical and biological processes on biouptake. *Plant and Soil*, 316:177–192.
- WEDEPOHL, K. H. (1995). The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(7):1217–1232.
- WEGGLER, K., McLAUGHLIN, M. J. et GRAHAM, R. D. (2004). Effect of chloride in soil solution on the plant availability of biosolid-borne cadmium. *Journal of Environmental Quality*, 33:496–504.
- WELCH, R. M. et NORVELL, W. A. (1999). Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In McLAUGHLIN, M. J. et SINGH, B. R., éditeurs : *Cadmium in soils and plants*, pages 125–150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- WENGER, K., GUPTA, S. K., FURRER, G. et SCHULIN, R. (2003). The role of nitrilotriacetate in copper uptake by tobacco. *Journal of Environmental Quality*, 32:1669–1676.
- WENZEL, W. W., BLUM, W. E. H., BRANDSTETTER, A., JOCKWER, F., KÖCHL, A., OBERFORSTER, M., OBERLÄNDER, H. E., RIEDLER, C., ROTH, K. et VLADAVA, I. (1996). Effects of soil properties and cultivar on cadmium accumulation in wheat grain. *Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde*, 159:609–614.
- WHITE, P. J. (2001). The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany*, 358:892–899.
- WHITE, P. J. et BROADLEY, M. R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92:487–511.

- WHITING, S., LEAKE, J., McGRATH, S. et BAKER, A. (2000). Positive responses to zn and cd by roots of the zn and cd hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 145(2):199–210.
- WOJAS, S., HENNIG, J., PLAZA, S., GEISLER, M., SIEMIANOWSKI, O., SKODOWSKA, A., RUSZCZYSKA, A., BULSKA, E. et ANTOSIEWICZ, D. M. (2009). Ectopic expression of arabidopsis abc transporter *mrp7* modifies cadmium root-to-shoot transport and accumulation. *Environmental Pollution*, 157(10):2781 – 2789.
- WONG, C. K. E. et COBBETT, C. S. (2009). Hma p-type atpases are the major mechanism for root-to-shoot cd translocation in arabidopsis thaliana. *New Phytologist*, 181(1):71–78.
- WU, Q. T. (1989). *Biodisponibilité du cadmium dans les systèmes sol-plante*. Phd, Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy.
- XIE, H. L., JIANG, R. F., ZHANG, F. S., McGRATH, S. P. et ZHAO, F. J. (2009). Effect of nitrogen form on the rhizosphere dynamics and uptake of cadmium and zinc by the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, 318(1-2):205–215.
- YANAI, J., ZHAO, F.-J., McGRATH, S. P. et KOSAKI, T. (2006). Effect of soil characteristics on cd uptake by the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens*. *Environmental Pollution*, 139(1):167–175.
- ZHANG, F., RÖMHELD, V. et MARSCHNER, H. (1989). Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. *Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde*, 152:205–210.
- ZHAO, F. J., HAMON, R. E. et McLAUGHLIN, M. J. (2001). Root exudates of the hyperaccumulator *thlaspi caerulescens* do not enhance metal mobilization. *New Phytologist*, 151:613–620.
- ZHAO, F. J., JIANG, R. F., DUNHAM, S. J. et McGRATH, S. P. (2006). Cadmium uptake, translocation and tolerance in the hyperaccumulator arabidopsis halleri. *New Phytologist*, 172(4):646–654.
- ZHU, X. F., ZHENG, C., HU, Y. T., JIANG, T., LIU, Y., DONG, N. Y., YANG, J. L. et ZHENG, S. J. (2011). Cadmium-induced oxalate secretion from root apex is associated with cadmium exclusion and resistance in *lycopersicon esulentum*. *Plant, Cell & Environment*, 34(7):1055–1064.

HYPERACCUMULATION DU CADMIUM PAR *NOCCAEA CAERULESCENS* :
CINÉTIQUE, RÉPARTITION ET PRÉDICTION

Résumé

La prédiction du transfert de cadmium du sol à la plante passe par l'élaboration d'un modèle décrivant la dynamique du métal dans le végétal. Cette thèse analyse les cinétiques d'accumulation et de répartition du Cd dans *Noccaea caerulescens*, à l'échelle de la plante entière, de ses organes et au cours de son cycle de végétation. Elle cherche également à établir un modèle prédictif simple, fondé sur les relations entre concentrations d'exposition et en Cd dans la plante.

Lorsque *N. caerulescens* est exposée à une concentration constante en conditions contrôlées, l'allocation de biomasse et la translocation du Cd aux parties aériennes sont constantes dans le temps. Une relation linéaire étroite existe entre la quantité de Cd prélevé, la biomasse et la concentration d'exposition, représentée par le facteur de bioconcentration (BCF). Le développement de la plante n'a pas d'effet sur l'influx racinaire en Cd, qui reste constant dans le temps et proportionnel à l'exposition. Ces résultats suggèrent que le Cd est alloué aux différents tissus aériens de la plante sans prédilection. À contrario, lors des cultures extérieures en terre, les concentrations en Cd, Ni et Zn diminuent au cours du temps après la vernalisation. Les trois métaux ont des comportements similaires en termes d'accumulation dans les différents tissus. La quantité maximale de Cd dans les organes aériens de *N. caerulescens* est observée à 2100 °Cj. Lorsque la plante est en fleur, elle ne semble pas présenter d'organe aérien privilégié pour l'hyperaccumulation du Cd, les BCF étant constants dans le temps.

L'utilisation du BCF permet une prédiction correcte des concentrations dans les parties aériennes, contrairement au modèle mécaniste de Barber-Cushman.

Mots clés : phytoextraction, hyperaccumulation, cadmium, *Noccaea caerulescens*, facteur de bioconcentration, phénologie, exposition, organe aérien, influx racinaire

CADMIUM HYPERACCUMULATION BY *NOCCAEA CAERULESCENS* :
KINETICS, DISTRIBUTION AND PREDICTION

Summary

Prediction of cadmium transfer from soil to plant can be achieved by the development of a model describing metal dynamics in the plant. This thesis analyzes Cd accumulation and distribution kinetics in *Noccaea caerulescens*, in the whole plant and its organs during a growth cycle. A simple predictive model, based on the relationship between Cd exposure concentration and plant Cd concentration, is also developed. This work is based on long-term experiments in controlled conditions with a constant exposure and on outside soil experiments. When *N. caerulescens* is exposed to a constant Cd concentration under controlled conditions, biomass allocation and Cd translocation to the shoots are constant over time. A strong linear relationship exists between the amount of Cd taken up, biomass and exposure concentration, represented by the bioconcentration factor (BCF). The plant development has no effect on Cd root influx, which remains constant during time and proportional to Cd exposure concentration. These results suggest that Cd is allocated to the various shoots' tissues without predilection. On the other hand, in the field, Cd, Ni and Zn concentrations in shoots decrease over time after vernalization. The three metals have similar behaviors in terms of accumulation in the different tissues. The maximum amount of Cd in shoots is observed at 2100 °Cdays. When the plant is in flower, no privileged shoots parts appear in Cd hyperaccumulation, the BCF is constant over time. The use of the BCF, measured in controlled conditions, allows a correct prediction of shoots concentrations, unlike the mechanistic Barber-Cushman model.

Keywords : phytoextraction, hyperaccumulation, cadmium, *Noccaea caerulescens*, bioconcentration factor, phenology, exposition, shoots parts, root influx