



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

ÉCOLE DOCTORALE « Ressources Procédés Produits Environnement »

Laboratoire Sols et Environnement

UMR 1120, Université de Lorraine-INRA

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lorraine en Sciences Agronomiques

par **Joan Dupuy**

Soutenue le 15 décembre 2014

**Interactions entre les hydrocarbures aromatiques
polycycliques et les plantes supérieures : prélèvement
et réponses toxiques**

Composition du jury :

Pierre-Marie BADOT , Professeur, Université de Franche-Comté	Rapporteur
Pierre BENOIT , Chargé de Recherche INRA, HDR, AgroParisTech	Rapporteur
Francis DOUAY , Professeur, ISA Lille	Examineur
Jean Louis MOREL , Professeur, Université de Lorraine	Examineur
Stéphanie OUVRARD , Chargé de Recherche INRA, LSE	Co-directrice
Thibault STERCKEMAN , Ingénieur de Recherche INRA, HDR, LSE	Directeur
Pierre LEGLIZE , Maître de conférences, Université de Lorraine	Invité

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les membres du jury, Pierre-Marie Badot, Pierre Benoit, Francis Douay et Jean Louis Morel, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie très sincèrement mes directeurs de thèse, Thibault Sterckeman et Stéphanie Ouvrard, ainsi que mon encadrant « officieux » Pierre Leglize, pour m'avoir donné la chance de réaliser ce projet. Je tiens à leur exprimer ma reconnaissance pour m'avoir guidée durant ce long parcours, pour leur confiance, et surtout pour leur soutien infailible durant certains moments difficiles. Je souhaite à tous doctorants de pouvoir évoluer dans un cadre aussi enrichissant que l'a été le mien durant ces trois dernières années.

Je tiens également à adresser mes remerciements à Jean Louis Morel et Christophe Schwartz, directeurs du Laboratoire Sols et Environnement, pour leur accueil au sein de cette unité si chaleureuse et productive.

Un grand merci à toute l'équipe technique qui m'a aidée à de nombreuses reprises à la bonne conduite de mes expérimentations et analyses : Adeline Bouchard, Stéphane Colin, Jean-Claude Bégin, Romain Goudon, Alain Rakoto, Lucas Charrois, ainsi que Rémi Baldo du GISFI et Jean-Claude Gallois pour les phytotrons. Merci également à Séverine Bonenberger, Sylvia L'Huillier et Laetitia Despouy pour leur grande aide dans les méandres de l'administration et de m'avoir ainsi permis d'éviter de nombreux tracas. Je remercie également l'ensemble des chercheurs du laboratoire pour leur bonne humeur et leur accessibilité : Appoline Auclerc, Marie-Laure Bonis, Élodie Chenot, Sophie Leguédois, Catherine Sirguy, Françoise Watteau, Émile Benizri, Guillaume Echevarria et Geoffrey Seré.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à Catherine Lorgeoux du G2R pour son grand secours dans mes analyses en GC-MS, Christophe Robin du LAE pour ses conseils en physiologie végétale et Christian Mustin du LIEC pour son aide précieuse en microscopie. Je tiens à remercier également Alexander Lux, Marek Vaculik, Michal Martinka ainsi que le reste de l'équipe pour leur accueil chaleureux et enrichissant à l'Université de Comenius, à Bratislava.

Une partie de ce travail n'aurait pas pu être réalisée sans l'aide de mes supers stagiaires, Sébastien Dewitt et Quentin Vincent, qui ont vraiment assumé leurs rôles. Je les en remercie.

Tous mes remerciements aux anciens doctorants, Fabien, Jean-Marc, Lucie, Hermine et Audrey, pour leurs conseils avisés et bon courage aux futurs docteurs Sophie, Amina et Billy.

Merci à Elise, Catherine, Mélanie, Anne, Moktar, Cédric, Sarah, Tenghaobo, Pierre, Lucia, Ivan, mes compagnons de route et amis. Nous avons vécu de belles aventures tous ensemble. Une pensée particulière à mon frère d'arme, présent depuis le début, le célèbre Frédéric. Nous avons parcouru ce long parcours ensemble, et ce, toujours dans la bonne humeur et autour d'une tasse de thé. Merci pour ton écoute et ta sagesse alsacienne. Cette aventure n'aurait pas été la même sans notre cher camarade Robin ! Ton flegme britannique a enrichi notre thé de lait et nos soirées de bières orléanaises. Ces déjeuners en votre compagnie au RU étaient des moments privilégiés. Merci aussi à Marie, touche féminine mais renversante du groupe. Ton énergie a apporté un nouveau souffle mais n'oublie pas de respirer entre deux manips ! Merci également à Ryad. Ta gentillesse et tes boureks ont souvent réchauffé nos cœurs et estomacs. Vous êtes devenus des amis précieux et que ça continue !

Je tiens à remercier mes parents, mes grands-parents, mes frères, ma belle-sœur, mes chenapans de neveux et nièce, pour m'avoir soutenue toutes ces années et transmis la chaleur du sud-ouest qui me manque tant. Merci également à ma belle-famille pour m'avoir accueillie à Nancy.

Le destin me réservait de belles surprises à Nancy et une rencontre a changé ma vie. Aujourd'hui, j'ai pu accomplir une étape professionnelle importante, et ce, grâce au soutien sans faille de celui qui est devenu mon mari, Dimitri. Les mots me manquent pour t'exprimer toute la reconnaissance et la gratitude que j'ai pour toi. Merci pour tout mon bien aimé.

Mes derniers mots sont pour toi, notre petit amour à venir, notre nouvelle aventure.

VALORISATIONS SCIENTIFIQUES

Publications

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. 2015. Morphological and physiological responses of maize (*Zea mays*) exposed to sand contaminated by phenanthrene. *Chemosphere*, 124, 110–115.

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T., Prediction of PAH Plant Uptake: Comparison of Passive Sampler and Tenax Extraction Methods. En préparation.

Dupuy, J., Leglize, P., Vincent, Q., Ouvrard, S., Mustin, C., Zelko, I., Sterckeman, T., Effect of phenanthrene exposure on suberization of apoplastic barriers of maize, consequence on plant development. En préparation.

Kleja, D. B., Enell, A., Pettersson, M., Kumpiene, J., Cornelissen, G., Arp, H. S., Dupuy, J., Leglize P., Ouvrard, S., Sterckeman T., Smolders, E., Hamels, F., Sonnet, P. 2015. IBRACS: Integrating Bioavailability in Risk Assessment of Contaminated Soils: opportunities and feasibilities. SNOWMAN NETWORK: Final Research Report (Project No. SN03-06).

Posters

Dupuy, J., Leglize, P., Ouvrard, S., Sterckeman, T. Symptômes d'intoxication du maïs exposé au phénanthrène. Séminaire de l'école doctorale RP2E, Nancy (France), 13 janvier 2013.

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. Symptoms of intoxication in maize exposed to phenanthrene. 10th International Phytotechnologies Conference, Syracuse (New York, US), 1-4 octobre 2013.

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. Morphological and physiological responses of maize (*Zea mays*) exposed to formerly multicontaminated soils. 11th International Phytotechnologies Conference, Heraklion (Grèce), 30 septembre - 3 octobre 2014.

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. Evaluation of availability tools for PAH plant uptake prediction. 10th SETAC Europe Special Science Symposium « Bioavailability of organic chemicals: Linking science to risk assessment and regulation », Bruxelles (Belgique), 14-15 octobre 2014.

Communications orales

Dupuy J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. 2012. Physiological responses of maize to polycyclic aromatic hydrocarbons - preliminary results. Université Comenius, Bratislava (Slovaquie), 4 octobre 2012.

Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P., Sterckeman, T. Intégration de la biodisponibilité dans l'évaluation du transfert sol/plante des hydrocarbures aromatiques polycycliques. 3^{èmes} Rencontres Nationales de la Recherche sur les Sites et Sols Pollués, Paris (France), 18-19 novembre 2014.

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : État de l'art	5
1 Les sols de friches industrielles pollués par les HAP	7
1.1 Définition, origine et propriétés des HAP.....	7
1.2 Dynamique des HAP dans le sol.....	11
1.2.1 Principaux mécanismes réactionnels	11
1.2.2 Disponibilité.....	13
1.3 Réhabilitation des sols pollués par les HAP	16
1.3.1 Principes et mécanismes de la phytoremédiation.....	17
1.3.2 Avantages et inconvénients liés à la phytoremédiation.....	18
2 Fonctionnement de la plante en présence de HAP.....	20
2.1 Généralités sur la physiologie des plantes supérieures	20
2.2 Le système racinaire	22
2.2.1 Structure et développement	22
2.2.2 Fonctionnement.....	26
2.3 Les relations HAP-plante-microorganismes	27
2.3.1 Effets de la plante sur le polluant.....	27
2.3.2 Biodégradation des HAP par les micro-organismes.....	27
2.3.3 Transfert des HAP dans la plante : du sol aux racines	30
2.3.4 Mécanismes de prélèvement.....	30
2.3.5 Transport des HAP dans la plante	32
2.3.6 Modélisation du prélèvement des HAP par les plantes	32
2.3.7 Phytotoxicité des HAP.....	37
3 Conclusion et objectifs de thèse.....	42
Chapitre 2 : Matériels et méthodes.....	45
1 Matériels	47
1.1 La plante : le maïs (<i>Zea mays</i>).....	47
1.1.1 Variété.....	47
1.1.2 Pré-germination.....	47
1.2 Support de culture.....	48
1.2.1 Sable contaminé en phénanthrène.....	48
1.2.2 Terres industrielles polluées	49
1.3 Solution nutritive	53
2 Expérimentations de culture en conditions contrôlées de laboratoire.....	53
2.1 Cultures sur sable contaminé par le phénanthrène	53
2.1.1 Pour l'étude histologique de la racine séminale principale – Expérience I.....	54
2.1.2 Pour l'étude physiologique de la plante – Expérience II.....	54
2.2 Culture sur terres industrielles – Expérience III	56
3 Méthodes de caractérisation et outils d'analyses	57
3.1 Préparation et conditionnement des échantillons.....	57

3.1.1	<i>Lyophilisation</i>	57
3.1.2	<i>Broyage</i>	58
3.2	Méthodes de caractérisation des terres	58
3.2.1	<i>Mesure de la capacité de rétention en eau (CRE)</i>	58
3.2.2	<i>Quantification du PHE total du sable</i>	59
3.2.3	<i>Quantification des HAP dits « totaux » des terres industrielles</i>	59
3.2.4	<i>Estimation de la fraction de HAP disponibles</i>	61
3.2.5	<i>Estimation de la concentration en HAP dans l'eau porale par échantillonneur passif</i>	62
3.3	Caractérisation des plantes	64
3.3.1	<i>Quantification des éléments nutritifs</i>	64
3.3.2	<i>Dosage du carbone organique et de l'azote</i>	64
3.3.3	<i>Photosynthèse et transpiration</i>	65
3.3.4	<i>Humidité pondérale</i>	66
3.3.5	<i>Allocation de la biomasse</i>	66
3.3.6	<i>Caractéristiques géométriques du système foliaire</i>	66
3.3.7	<i>Caractéristiques géométriques du système racinaire</i>	67
3.3.8	<i>Évaluation de la subérfication de la racine séminale principale</i>	68
3.3.9	<i>Quantification des HAP dans le système racinaire</i>	71
3.3.10	<i>Quantification des HAP dans le système aérien</i>	71
3.4	Caractérisation des solutions de culture.....	72
3.4.1	<i>Quantification du PHE</i>	72
3.4.2	<i>Dosage des nitrates en solution</i>	72
3.5	Méthodes d'analyse	72
3.5.1	<i>Analyse et quantification des HAP par HPLC</i>	72
3.5.2	<i>Analyse et quantification des 16 HAP par GCMS</i>	75
3.5.3	<i>Localisation du PHE par microscopie en épifluorescence</i>	76
3.5.4	<i>Observations en microscopie confocale à balayage laser</i>	77
3.5.5	<i>Analyses statistiques</i>	78
Chapitre 3	: Transfert des HAP du sol à la plante	79
1	Évaluation de la bioaccumulation des HAP dans le maïs.....	82
1.1	Caractérisation de la contamination organique et des HAP totaux dans les terres industrielles	83
1.2	HAP accumulés dans les racines	86
1.3	HAP transloqués aux parties aériennes.....	89
2	Estimation de la disponibilité des HAP dans les terres.....	93
2.1	Fraction extraite par résine Tenax®	93
2.2	Concentration en HAP dissous dans l'eau porale	96
3	Prédiction de la bioaccumulation des HAP dans le maïs.....	99
3.1	Corrélations avec les fractions de HAP quantifiées dans les terres	99
3.2	Modélisation du prélèvement racinaire des HAP	101
3.3	Modélisation de la translocation aux parties aériennes des HAP	114
4	Localisation d'un HAP dans les racines à l'échelle cellulaire	118
5	Conclusion	124
Chapitre 4	: Fonctionnement du maïs exposé aux HAP.....	127
1	Fonctionnement du maïs exposé aux HAP	130
1.1	Allocation de la biomasse	130

1.2	Géométrie racinaire	134
1.3	Nutrition minérale.....	138
1.3.1	<i>Prélèvement de l'eau.....</i>	<i>138</i>
1.3.2	<i>Éléments dans les racines</i>	<i>140</i>
1.3.3	<i>Éléments dans les parties aériennes.....</i>	<i>147</i>
1.4	Effets des terres sur le fonctionnement du maïs	153
2	Fonctionnement du maïs exposé au PHE	156
2.1	Devenir du PHE dans le milieu	156
2.1.1	<i>Observation du PHE au sein du support de culture.....</i>	<i>156</i>
2.1.2	<i>Devenir dans le temps</i>	<i>156</i>
2.2	Réponses physiologiques du maïs	160
2.2.1	<i>Allocation de la biomasse</i>	<i>160</i>
2.2.2	<i>Géométrie du système foliaire.....</i>	<i>163</i>
2.2.3	<i>Géométrie du système racinaire.....</i>	<i>164</i>
2.2.4	<i>Fonctions physiologiques.....</i>	<i>168</i>
2.3	Subérisation des tissus racinaires	174
3	Conclusion	179
	Conclusion générale et perspectives.....	184
	Table des illustrations.....	206
	Annexes.....	219

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Introduction générale

Le déclin de l'industrie sidérurgique et minière à la fin du siècle passé a engendré l'apparition de milliers d'hectares de friches à travers le territoire européen. La Lorraine est l'une des régions françaises les plus concernées, avec le Nord Pas de Calais et la Loire. Si une grande partie de ces friches a pu être requalifiée pour accueillir de nouvelles activités industrielles et commerciales, une part non négligeable est restée sans changement depuis l'arrêt de l'activité. Ces anciennes exploitations se caractérisent par des contaminations variées, à la fois organiques (hydrocarbures) et minérales (métaux, sels). Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) y sont parmi les polluants organiques les plus répandus. Du fait de leur caractère récalcitrant, ils sont toujours présents en concentrations très élevées à ce jour. Le long temps de contact entre les HAP et les particules du sol contribue à la complexité de leur état réactionnel. La nocivité de ces composants étant reconnue, leur présence dans l'environnement engendre des risques immédiats ou différés pour la santé humaine et les écosystèmes. Parmi les procédés de dépollution classiques, les techniques physico-chimiques sont efficaces et rapides, mais relativement coûteuses et nécessitent généralement l'excavation des terres à traiter. De plus elles entraînent la perte des fonctions biologiques du sol. Les méthodes biologiques font appel à la capacité d'épuration des microorganismes endogènes des sols, stimulée par l'utilisation éventuelle d'amendements. Moins coûteuses, elles permettent de préserver l'intégrité biologique, chimique et physique des sols limitant la perte de leur fertilité. La rhizodégradation est une déclinaison de ces procédés biologiques qui utilise les végétaux et la microflore associée comme vecteur de la dégradation des polluants organiques. Toutefois, l'efficacité de cette technique, démontrée en conditions contrôlées de laboratoire, est limitée *in situ* par de fortes mortalités ou l'inhibition de croissance de la plante. De plus, la biomasse cultivée sur ces sols de friches représente une menace pour la chaîne alimentaire du fait d'un risque d'accumulation des polluants. Les contraintes d'utilisation de la rhizodégradation soulèvent alors une série de questions sur les interactions entre les plantes

Introduction générale

et les HAP de sols industriels contaminés : à quelle fraction de HAP la plante est-elle exposée ? À quel niveau la plante peut-elle accumuler des HAP ? Quels sont les mécanismes impliqués dans le prélèvement des HAP par la plante ? Comment le fonctionnement de la plante est-il affecté ?

Cette thèse a pour objectif général la compréhension des mécanismes de transfert et de translocation des HAP dans la plante et l'identification des réponses toxiques de celle-ci. Dans cette optique, les travaux de cette thèse se sont attachés à :

- i. aider à l'amélioration de modèles existant pour l'évaluation de la fraction de HAP absorbable par la plante,
- ii. étudier le comportement de HAP dans le sol et la plante en caractérisant les facteurs contrôlant le transfert des HAP à la plante,
- iii. évaluer l'impact des HAP sur les végétaux.

Le premier chapitre présente une synthèse des connaissances déjà acquises sur l'évolution des HAP dans le sol et le fonctionnement de plantes supérieures en leur présence. L'accent est porté sur la pollution des sols de friche industrielle, les caractéristiques des HAP étudiés, leur dynamique dans les sols et l'intérêt de la rhizodégradation dans un contexte de dépollution de ces composés. Sont également présentés le fonctionnement général d'une plante et les relations HAP-plante connues. Le second chapitre présente les matériels sélectionnés ainsi que l'ensemble des techniques analytiques et expérimentations utilisées au cours de ces travaux de thèse. Le troisième chapitre porte sur le transfert des HAP dans le maïs. Il est consacré à l'évaluation d'outils et modèles pour prédire la bioaccumulation des HAP par les plantes afin de valider les mécanismes de prélèvements, caractériser les facteurs pouvant contrôler la bioaccumulation des

Introduction générale

HAP dans la plante et déterminer où et comment un HAP pénètre le système racinaire de la plante. Le quatrième chapitre s'intéresse au fonctionnement physiologique du maïs exposé aux HAP. Leurs effets sur la plante sont évalués sur des systèmes de complexité croissante, depuis un sable contaminé avec un HAP à des terres multicontaminées d'anciennes friches industrielles, à différentes échelles, allant de la cellule à la plante entière. Enfin la dernière partie synthétise les principaux résultats afin de proposer un modèle de fonctionnement de la plante en présence de HAP et d'ouvrir sur de nouvelles perspectives pour aider à l'amélioration de la rhizodégradation appliquée aux terres de friches industrielles.

CHAPITRE 1 : ÉTAT

DE L'ART

SOMMAIRE CHAPITRE 1

1	Les sols de friches industrielles pollués par les HAP	7
1.1	Définition, origine et propriétés des HAP.....	7
1.2	Dynamique des HAP dans le sol.....	11
1.2.1	<i>Principaux mécanismes réactionnels</i>	11
1.2.2	<i>Disponibilité</i>	13
1.3	Réhabilitation des sols pollués par les HAP	16
1.3.1	<i>Principes et mécanismes de la phytoremédiation</i>	17
1.3.2	<i>Avantages et inconvénients liés à la phytoremédiation</i>	18
2	Fonctionnement de la plante en présence de HAP.....	20
2.1	Généralités sur la physiologie des plantes supérieures	20
2.2	Le système racinaire	22
2.2.1	<i>Structure et développement</i>	22
2.2.2	<i>Fonctionnement</i>	26
2.3	Les relations HAP-plante-microorganismes	27
2.3.1	<i>Effets de la plante sur le polluant</i>	27
2.3.2	<i>Biodégradation des HAP par les micro-organismes</i>	27
2.3.3	<i>Transfert des HAP dans la plante : du sol aux racines</i>	30
2.3.4	<i>Mécanismes de prélèvement</i>	30
2.3.5	<i>Transport des HAP dans la plante</i>	32
2.3.6	<i>Modélisation du prélèvement des HAP par les plantes</i>	32
2.3.7	<i>Phytotoxicité des HAP</i>	37
3	Conclusion et objectifs de thèse.....	42

1 Les sols de friches industrielles pollués par les HAP

En 2014, l'Agence Européenne de l'Environnement (AEE) estime à 2,5 millions le nombre de sites potentiellement contaminés à travers l'Europe. Parmi ceux-là, environ 14 % seraient pollués et nécessiteraient une réhabilitation. Un tiers de ces sites sont déjà identifiés et 15 % ont été traités. Chaque année, la gestion des sites et sols pollués en Europe coûterait près de 6,5 millions d'euros aux contribuables et au secteur privé ("Soil contamination widespread in Europe", AEE). En France, près de 5600 sites et sols pollués (ou potentiellement pollués) sont recensés à ce jour et appellent à une action des pouvoirs publics, à titre préventif ou curatif. Ce chiffre est en constante augmentation car régulièrement mis à jour d'après des données historiques sur les anciens sites industrialisés, généralement à l'état de friche. Avec l'accroissement des populations et l'étalement urbain, il convient de réhabiliter des friches industrielles en zones résidentielles ou récréatives. La Lorraine est une des régions des plus concernées, avec quasiment 400 sites répertoriés. En terme d'occurrence, les principaux polluants constatés à l'échelle nationale sont organiques : les hydrocarbures (25 %) et les HAP (11 %), seuls ou en mélange avec des polluants d'autre nature (Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie).

1.1 Définition, origine et propriétés des HAP

Les HAP sont des molécules organiques, exclusivement constituées d'atomes de carbone et d'hydrogène et au moins deux noyaux benzéniques. Les HAP regroupent plusieurs centaines de molécules et peuvent avoir deux origines : pétrogéniques et pyrolitiques. Les HAP d'origine pétrogénique sont formés lors de la transformation géologique de la matière organique (MO) et sont présents dans les matières organiques fossiles (houille, pétrole). Les concentrations individuelles des HAP d'origine naturelle sont de l'ordre de 1 à 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de sol sec soit des

Chapitre 1 : État de l'art

concentrations totales en HAP de 500 à 1500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de sol sec (Wilcke 2000). Les HAP d'origine pyrolytique sont produits par la combustion incomplète ou la pyrolyse de toute MO à haute température. Les HAP produits par la combustion sont la principale source de HAP dans l'environnement (Baek *et al.* 1991; Menzie *et al.* 1992). À la fin du 18^{ème} siècle, le charbon devint la principale source d'énergie et fut le moteur de la révolution industrielle en Europe. Grâce à ses nombreux gisements, la France put exploiter ces ressources durant près de deux siècles, notamment dans les bassins du Nord-Pas-de-Calais, de la Loire et de la Lorraine. Le charbon était ainsi le principal moteur de l'activité sidérurgique et de la production d'électricité. La sidérurgie requiert du charbon concentré en carbone quasi pur, le coke. La fabrication de celui-ci est appelée la cokéfaction. Le charbon subit une pyrolyse dans un four à plus de 1000 °C (Doumergue 1962). Le coke produit peut ensuite être mélangé à du minerai de fer pour fabriquer la fonte et l'acier. La cokéfaction produit également du gaz, transformé pour un usage domestique et des goudrons de houille. Des concentrations plus de 1000 fois supérieures à celles naturelles sont détectées dans les sols de ces anciens sites industriels, tels que des usines à gaz, cokeries et raffineries de pétrole et qui sont parmi les plus contaminés (Wilson et Jones 1993).

L'agence de protection de l'environnement des États-Unis (US-EPA) a retenu 16 HAP en tant que polluants prioritaires pour leur étude et leur élimination dans l'environnement du fait de leur potentiel toxique, cancérigène et mutagène. La Figure 1 représente les structures chimiques et les masses moléculaires de ces HAP.

Chapitre 1 : État de l'art

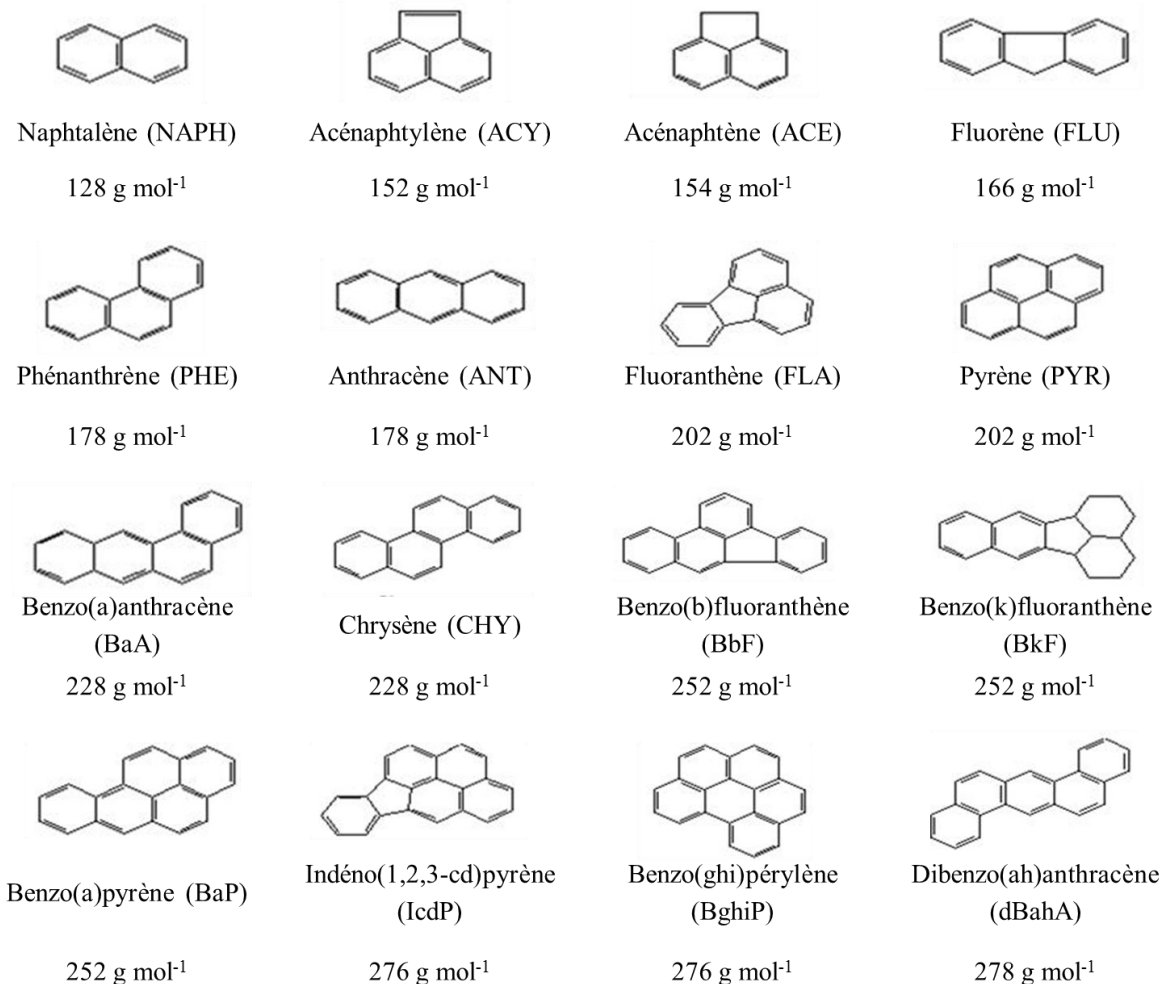


Figure 1 – Représentations des 16 HAP prioritaires retenus par l'US-EPA avec leurs abréviations et leurs masses moléculaires (d'après Mackay et al. 2006)

Les propriétés chimiques et physiques des HAP sont déterminées par la taille, la structure et les atomes qui composent la molécule. Elles sont dépendantes du nombre de cycles aromatiques qui les composent (Tableau 1).

Tableau 1 – Caractéristiques chimiques des 16 HAP prioritaires retenus par l'US-EPA (Mackay et al. 2006)

Molécule	Nombre de cycles aromatiques	Solubilité dans l'eau (mg L ⁻¹ à 25°C)	Pression de vapeur (mPa à 25°C)	Log K _{ow}
NAPH	2	31,8	10500	3,70
ACY	2	3,94	890	4,06
ACE	2	3,70	360	3,92
FLU	2	1,98	90	4,18
PHE	3	1,2	91	4,57
ANT	3	0,04	1,25	4,45
FLA	3	0,26	64	5,20
PYR	4	0,13	0,9	5,23
BaA	4	0,01	6,65 10 ⁻⁴	5,66
CHY	4	2,0 10 ⁻³	8,4 10 ⁻²	5,86
BbF	4	1,5 10 ⁻³	2,12 10 ⁻²	6,57
BkF	4	8,1 10 ⁻⁴	1,3 10 ⁻⁴	6,84
BaP	5	3,8 10 ⁻³	7,3 10 ⁻⁴	6,07
IcdP	5	5,0 10 ⁻⁵	1,3 10 ⁻⁵	6,60
BghiP	6	5,0 10 ⁻⁴	2,6 10 ⁻⁶	6,73
dBahA	5	5,0 10 ⁻⁴	1,3 10 ⁻⁵	6,70

Plus le nombre de cycles aromatiques augmente, plus l'affinité pour une phase organique augmente et de ce fait, son hydrophobie comme l'atteste l'augmentation du coefficient de partage octanol/eau (K_{ow}), exprimé en logarithme, qui correspond au rapport de concentration à l'équilibre du composé organique entre l'eau et une phase *n*-octanol. Inversement, moins il y a de cycles aromatiques, plus sa solubilité dans l'eau et sa volatilité (exprimée par la pression de vapeur) sont élevées. Ainsi, ces propriétés physico-chimiques vont grandement influencer sur le

comportement (persistance, mobilité et biodisponibilité) de ces molécules organiques dans l'environnement.

1.2 Dynamique des HAP dans le sol

1.2.1 Principaux mécanismes réactionnels

Après introduction du polluant organique dans le sol, plusieurs mécanismes, telles que l'absorption, l'adsorption, la désorption et la diffusion peuvent être mis en jeu (Figure 2).

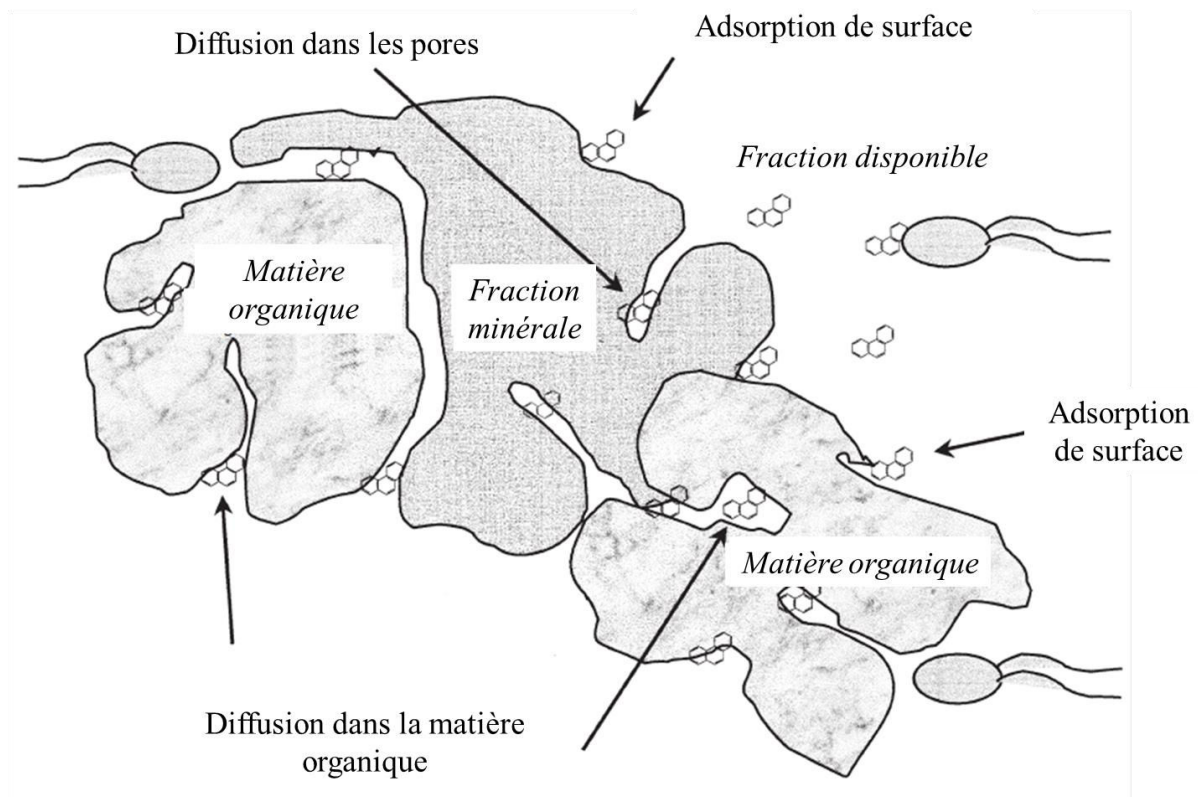


Figure 2 – Mécanismes d'interaction des contaminants organiques avec le sol (d'après Semple et al. 2003)

L'absorption caractérise le transfert d'une espèce chimique de l'extérieur à l'intérieur d'une phase solide, liquide ou gazeuse (Honeyman et Santschi 1988).

L'adsorption caractérise l'association d'une espèce chimique à la surface des composantes solides du sol par des liaisons faibles de type Van der Waals. Dans le cas des HAP, elle peut avoir lieu sur toutes les surfaces des différentes phases solides du sol ; minime sur les particules minérales, elle est très importante sur la MO (Murphy *et al.* 1990). Son mécanisme inverse est la désorption, qui permet le passage des HAP adsorbés en phase aqueuse. Mais la désorption est souvent plus lente que l'adsorption, ce qui traduit un phénomène d'hystérèse (Pignatello et Xing 1996; Alexander 2000). Il est également possible qu'une fraction des HAP ne soit pas désorbée et persiste ainsi dans le sol (Hatzinger et Alexander 1995). La fraction de HAP non désorbée augmente avec le temps de contact avec le sol, ce mécanisme est appelé « vieillissement » (Hatzinger *et al.* 1995). Les travaux de Karickhoff (1981) montrent que les HAP suivent un isotherme de sorption linéaire à faibles concentrations, dont la pente est le coefficient de partage K_d qui dépend de la fraction de matière organique f_{oc} dans la matrice :

$$K_d = K_{oc} \times f_{oc} \text{ (Équation 1)}$$

où K_{oc} est le coefficient de partition de la molécule entre la MO et l'eau, considéré comme le principal paramètre pour décrire le transfert et le devenir de la molécule dans le système sol-eau (Chiou *et al.* 2001; Nguyen *et al.* 2005). Le K_{oc} peut être prédit par les propriétés chimiques de la molécule considérée, telle que son hydrophobie (Nguyen *et al.* 2005) :

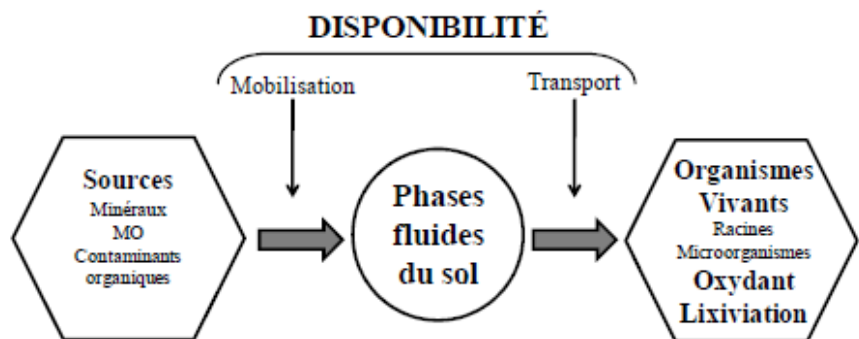
$$\log K_{oc} = 1,14 \log K_{ow} - 1,02 \text{ (Équation 2).}$$

La diffusion est un mécanisme de transfert qui est contrôlé par le gradient de concentration. Il constitue un processus majeur de séquestration des composés organiques à l'intérieur des particules du sol (Pignatello *et al.* 1996; Semple *et al.* 2003). L'élément peut diffuser dans les particules du sol (minérales ou organiques) ainsi que dans la porosité formée entre les particules solides. Une fois piégés, les composés organiques s'adsorbent sur les parois. La cinétique de diffusion est lente, limitant ainsi le transfert. Ces deux effets (séquestration et vitesse de transfert limitée) contribuent à réduire l'accessibilité des HAP pour les micro-organismes et les racines de la plante.

1.2.2 Disponibilité

Selon l'intensité des interactions entre les HAP et la matrice solide du sol, les HAP trouvent sous deux formes différentes : disponible ou non. La disponibilité d'un composé combine deux processus en série : la mobilisation et le transport (

Figure 3). Sous cette forme (e.g. absorption par processus physiques (e.g. lixiviation) absorbables et transformés



ogiques
on) ou
lécules

Figure 3 – Schéma général définissant la disponibilité

Du fait des fortes interactions des HAP avec la phase solide du sol, leur disponibilité est souvent bien inférieure à leur concentration totale déterminée par extraction dans des solvants organiques (Alexander 2000). De ce fait, des techniques ont été développées pour tenter de rendre compte de la quantité ou concentration en HAP à laquelle sont exposés les organismes du sol ou les plantes.

Des extractions utilisant des solvants moins apolaires dites extractions douces, tel que le butanol, sont faciles à mettre en place (Reid *et al.* 2000; Liste et Alexander 2002; Swindell et Reid 2006; Oleszczuk 2009). Ces extractions présentent de bonnes corrélations avec la fraction dégradable par les microorganismes (Kelsey *et al.* 1996; Reid *et al.* 2000; Liste *et al.* 2002).

L'utilisation de molécules « cages » comme l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HPCD) est également possible (Cuypers *et al.* 2002; Swindell *et al.* 2006; Bergknut *et al.* 2007; Oleszczuk 2009). Ce polymère composé de sept molécules de glucose possède une structure en tronc de cône, délimitant ainsi une cavité en son centre. Cette cavité est capable « d'encapsuler » des molécules hydrophobes tels que les HAP, du fait d'un environnement apolaire à l'intérieur de la cavité, tandis que les groupements hydroxyles en périphérie permettent une bonne solubilité du polymère en milieu aqueux. Des études ont ainsi mis en évidence une bonne corrélation entre la fraction de HAP extraits et celle minéralisée par les bactéries (Reid *et al.* 2000; Stokes *et al.* 2005).

Les extractions sur phases solides avec des résines de type Tenax® peuvent être employées. Ces résines se comportent comme des puits en piégeant les HAP présents en phase aqueuse

Chapitre 1 : État de l'art

(Cornelissen *et al.* 1997; Oleszczuk 2008, 2009; Barnier *et al.* 2014). Les capacités de sorption de ce matériau permettent de s'en servir comme « puits » pour les composés organiques se désorbant d'un sol ou d'un sédiment (Pignatello 1990). Un protocole de mesure de disponibilité des HAP a pu être adapté au contexte particulier des sols de friches industrielles (Barnier *et al.* 2014). Le Tenax® a fait l'objet de nombreux travaux (MacRae et Hall 1998; ten Hulscher *et al.* 2003; Oleszczuk 2008, 2009; Heijden et Jonker 2009) qui montrent notamment de bonnes corrélations avec la bioaccumulation de HAP dans des vers de terre. La résine Tenax® peut également servir comme outil de prédiction pour les réponses toxiques d'organismes tels que les plantes. Une bonne corrélation avec la germination de la laitue cultivée sur la terre d'une ancienne usine à gaz ($R^2 = 0,80$) a ainsi été mise en évidence avec la concentration de 5 HAP (BaP, BkF, BaA, dBahA et IcdP) extraits par résine Tenax® (Cofield *et al.* 2008).

Les échantillonneurs passifs, tel que le polyoxyméthylène (POM), sont l'objet d'un intérêt grandissant car ils permettent la détermination de la concentration en HAP dans l'eau porale du sol (Hawthorne *et al.* 2009; Endo *et al.* 2011; Gomez-Eyles *et al.* 2012). Une étude récente a montré une bonne capacité à prédire la quantité de HAP bioaccumulés dans les vers de terre à partir des concentrations déterminées par la méthode POM (Gomez-Eyles *et al.* 2012).

Toutefois, ces méthodes présentent de grandes variabilités selon l'organisme cible. Dans le cas de ray-grass cultivés sur des terres historiquement contaminées, les concentrations obtenues par des extractions réalisées au butanol et au HPCD sont 10 à 1000 fois supérieures à celles mesurées dans la biomasse racinaire, quand celles obtenues avec le POM tendent à sous-estimer cette accumulation (Gomez-Eyles *et al.* 2012).

Prédire la bioaccumulation des HAP dans les organismes qui interagissent avec les sols contaminés représente un enjeu important dans l'évaluation quantitative du risque sanitaire et dans la réhabilitation des sites et sols pollués. Une surestimation pourrait engendrer des frais supplémentaires et des traitements plus longs et/ou plus agressifs pour le sol. Au contraire, sous-estimer les risques de transfert pourrait représenter un danger pour la santé.

1.3 Réhabilitation des sols pollués par les HAP

L'estimation du risque induit par la présence des HAP dans l'environnement est basée sur le croisement entre des aspects liés à leur dangerosité (détermination de leur toxicité) et l'estimation de l'exposition. Lorsque le risque est avéré, il peut y avoir nécessité de dépolluer ces sols et/ou d'en limiter la dispersion. Dans le cas de sols contaminés, il est possible de traiter le sol en place (méthodes *in situ*), soit après excavation directement sur le site (méthode *on site*) ou sur une plateforme de traitement (méthodes *ex situ*). À ce jour, de nombreuses stratégies de remédiation sont possibles : extraction par solvant, oxydation chimique, dégradation photo-catalytique, remédiation électrocinétique, traitement thermique... (Gan *et al.* 2009). Mais ces techniques, basées sur des méthodes physico-chimiques coûteuses, sont souvent peu adaptées au traitement de grandes surfaces et affectent négativement la fertilité et l'activité biologique des sols.

Bien que plus longues, des techniques biologiques telles que la bioremédiation ou la phytoremédiation sont souvent jugées plus respectueuses de l'environnement et moins coûteuses que les techniques classiques de traitement sur site et hors site. Toutefois, les procédés biologiques ne permettent de traiter que la fraction de polluants disponibles. La bioremédiation consiste en l'utilisation d'organismes vivants, en particulier les micro-organismes, pour dépolluer les sols contaminés par des processus de dégradation, d'atténuation ou de transformation (Wenzel

2009). Les micro-organismes utilisent le polluant comme source d'énergie. Il est possible d'accélérer cette biodégradation en inoculant des micro-organismes spécifiques ou en stimulant l'activité microbienne indigène par des améliorations biochimiques du milieu (*e.g.* apports de nutriments, pH, potentiel d'oxydoréduction). La phytoremédiation fait référence à « l'utilisation des plantes vertes et de leur microbiote associé, d'amendement du sol et de techniques agronomiques pour éliminer, contenir, ou rendre moins toxiques les contaminants environnementaux » (Cunningham *et al.* 1995).

1.3.1 Principes et mécanismes de la phytoremédiation

La phytoremédiation recouvre différents procédés dont les principaux sont la phytostabilisation, la rhizodégradation, la phytodégradation, la phytoextraction et la phytovolatilisation (Figure 4).

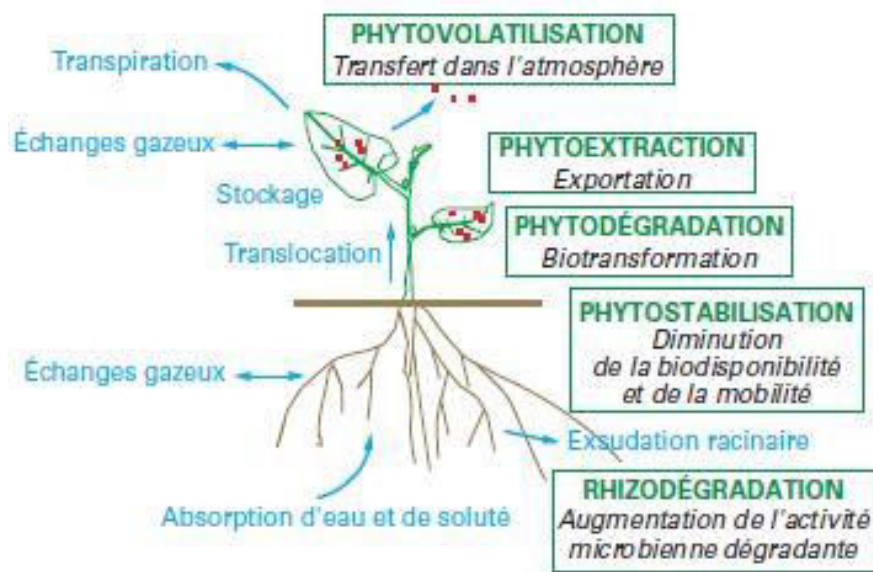


Figure 4 – Principaux mécanismes de phytoremédiation (Sterckeman *et al.* 2012)

Le choix du procédé et de son efficacité potentielle dépendent du type de contaminants (métalliques, organiques, multi-contamination), de leurs caractéristiques (volatilité,

biodégradabilité), de leur disponibilité ainsi que des propriétés agronomiques du sol. La phytostabilisation et la phytoextraction sont des techniques généralement utilisées pour les polluants métalliques. Dans le cas de pollutions organiques des sols, les processus impliqués sont la phytodégradation, la phytovolatilisation, la phytostimulation et la rhizodégradation (Sterckeman *et al.* 2012). La première, la phytodégradation, consiste à dégrader certains composés organiques à travers l'activité métabolique de la plante (*e.g.* production d'enzymes de type déhalogénase, oxygénase). La seconde méthode, la phytovolatilisation, consiste en l'absorption du contaminant dans le sol, sa métabolisation sous forme gazeuse dans la plante et sa libération dans l'atmosphère. La troisième, la rhizodégradation est un processus de remédiation dans lequel les contaminants sont transformés par les micro-organismes de la rhizosphère. La plante stimule l'activité métabolique, et de ce fait, l'activité dégradante des communautés fongiques et bactériennes dans la rhizosphère.

Tous ces procédés sont actifs au sens où ils nécessitent l'implantation d'un couvert végétal spécifique. Dans certains contextes (risque plus limité), un procédé d'atténuation naturelle peut être mis en place. La rhizoatténuation consiste à laisser se développer le couvert végétal local sur le site. L'action naturelle des plantes et les mécanismes de sorption irréversibles suffisent à la dissipation lente de la pollution (Ouvrard *et al.* 2014), sans intervention humaine au cours des années. Ce procédé est toujours accompagné de la mise en place d'un plan de suivi de la pollution.

1.3.2 Avantages et inconvénients liés à la phytoremédiation

Le Grenelle de l'Environnement compte les sites et sols pollués parmi ses champs d'action prioritaires. L'article 43 de la loi Grenelle II précise que « les techniques de dépollution par les

plantes seront de préférence utilisées » pour la réhabilitation des sites pollués. En effet, la phytoremédiation est moins invasive et moins destructive que les procédés de remédiation physico-chimiques. Ces derniers déstructurent le sol et le laissent généralement biologiquement inactif. Le Tableau 2 présente des coûts estimés de traitements sur site et hors site, avec et sans plantes, dans des projets divers de réhabilitation de sites pollués en France et aux États-Unis.

Tableau 2 – Estimations des coûts de procédés de remédiation physico-chimiques et de phytoremédiation de sols en France et aux États-Unis (d'après Sterckeman et al. 2012)

Procédé	Pays	Contaminant	Coût (€ m ⁻² de terre)	
			Minimum ou moyen	Maximum
Confinement <i>in situ</i>	France	Organiques et/ou minéraux	5	60
Extraction chimique hors site	France	Organiques et/ou minéraux	34	546
Désorption thermique sur site	France	Organiques	25	46
Stabilisation physico-chimique sur site	France	Métaux	10	50
Phytoremédiation	États-Unis	Métaux	4	39
Phytostabilisation	France	Organiques et/ou minéraux	2	12
Phytoextraction	France	Métaux	< 4	40

Les coûts liés à la réhabilitation d'un sol varient principalement selon la localisation du site à traiter, le type de contaminant, le niveau et l'étendue (horizontale et verticale) de la contamination, ainsi que les travaux impliqués. Néanmoins, l'excavation et les traitements physico-chimiques sont les moyens les plus onéreux, quand la phytoremédiation apparaît comme étant le procédé le moins cher. De plus, le couvert végétal peut restaurer en partie les services

écosystémiques perdus par le sol. Du fait des risques de transfert des contaminants à la plante, la biomasse ne peut être utilisée pour un usage alimentaire mais elle peut être valorisée par d'autres utilisations comme énergétique ou production de matière première (service d'approvisionnement). La nouvelle végétation peut également participer à une meilleure qualité de l'air et de l'eau alentour, diminuer l'érosion et capter le carbone atmosphérique dans le sol (services de régulation et d'assistance). Elle offre également un nouveau paysage à d'anciens sites urbains abandonnés et autres sites contaminés (service culturel).

Néanmoins, la phytoremédiation requiert plus de temps que les techniques physico-chimiques et peut nécessiter plusieurs successions culturales. De plus, dans les cas de sols fortement contaminés comme ceux de friches industrielles, les végétaux sont soumis au stress de la pollution et leur efficacité de remédiation s'en trouve affectée. Cette efficacité peut être considérée comme multifactorielle : conditions environnementales, nature (origine, type, disponibilité du polluant) et répartition de la pollution, espèce végétale (biomasse, tolérance à la pollution, potentiel absorbant, profondeur d'enracinement).

2 Fonctionnement de la plante en présence de HAP

2.1 Généralités sur la physiologie des plantes supérieures

Les plantes vascularisées, dites supérieures, établissent un réseau entre l'eau, le sol et l'air et présentent un fonctionnement physiologique complexe. Celui-ci exige l'acquisition d'éléments indispensables au développement de la plante et une organisation interne permettant de répondre à ces besoins et aux contraintes environnementales. Étant des organismes autotrophes, les plantes convertissent le carbone minéral (CO_2) et l'eau en carbone organique, sous la forme de sucres, en utilisant l'énergie solaire. C'est la photosynthèse. Ces sucres sont par la suite utilisés pour

Chapitre 1 : État de l'art

produire l'énergie et la matière nécessaires à la plante. De façon schématique, on peut distinguer quatre principaux processus interdépendants dans le fonctionnement d'une plante : la photosynthèse, la respiration, la transpiration et la nutrition minérale (Figure 5).

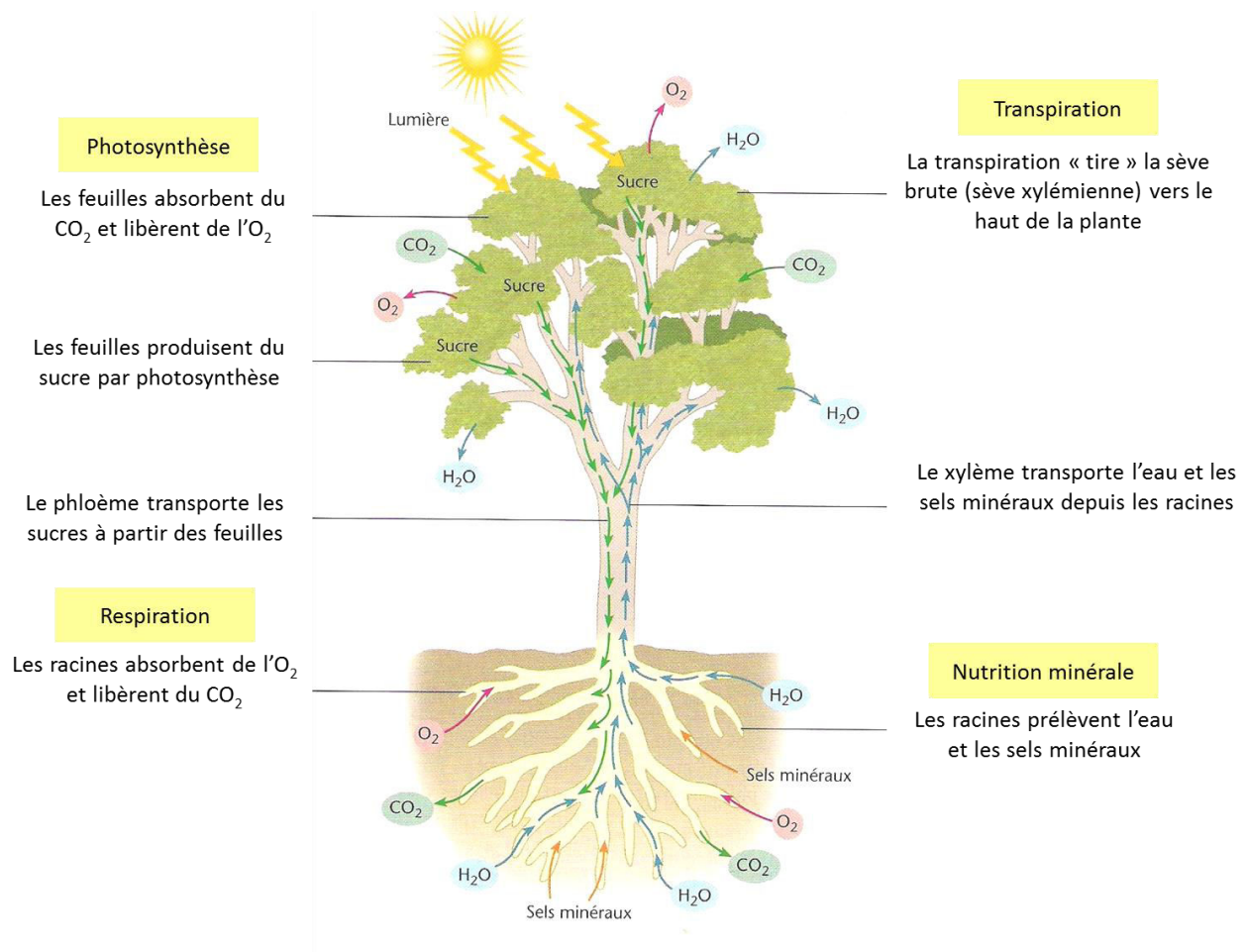


Figure 5 – Fonctionnement schématique de la physiologie d'une plante supérieure (d'après Nabors 2008)

Les feuilles, portées par les tiges, sont notamment le siège de la photosynthèse. Cet ensemble de réactions a lieu plus exactement dans des organites microscopiques appelés chloroplastes, nombreux dans les cellules foliaires. L'énergie solaire est utilisée pour convertir le CO_2 atmosphérique et l'eau du sol en sucres par une série de réactions. Un second processus permet la dégradation des sucres pour libérer du CO_2 et produire de l'énergie et de l'eau. C'est la

respiration, interdépendante de la photosynthèse, prenant place dans les mitochondries, autres organites cellulaires. L'énergie produite sert à d'autres mécanismes physiologiques dans l'organisme végétal. La synthèse des constituants de la plante est possible grâce à l'ensemble de ces processus.

2.2 Le système racinaire

Un intérêt plus approfondi est porté au fonctionnement du système racinaire, premier organe de la plante en contact avec les polluants dans le sol. Deux principaux modèles architecturaux de système racinaire se distinguent : le système racinaire fasciculé, caractérisé par le développement de nombreuses racines adventives, d'égale importance, et le système racinaire pivotant, avec le développement prédominant d'une racine principale. Celle-ci est issue de la croissance de la radicule de la plantule, qui se développe et se ramifie en racines latérales, d'ordre inférieur. Les racines latérales (secondaires, tertiaires, *etc.*) peuvent dans certains cas prendre beaucoup d'importance dans les systèmes racinaires fasciculés (Figure 6).

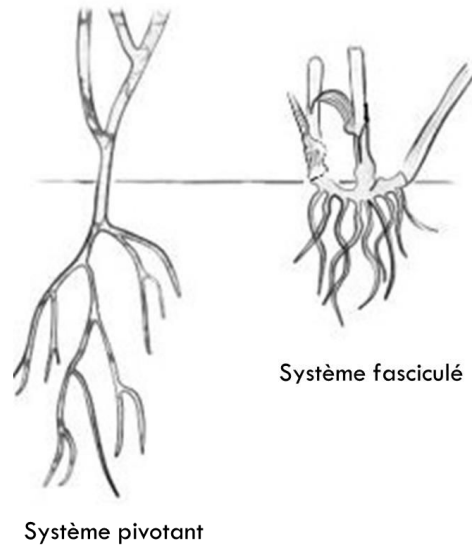


Figure 6 – Architectures racinaires de type pivotant et fasciculé (d'après « Notions essentielles de botanique générale : la racine »)

2.2.1 Structure et développement

La croissance racinaire longitudinale a lieu à l'extrémité de la racine, l'apex (Figure 7). Zone méristématique, l'apex est le siège de divisions cellulaires, permettant à la racine une croissance continue en longueur. Les cellules initiales du méristème apical sont dans le centre quiescent. Une coiffe protège le méristème apical, qui a pour origine une zone située au-dessous du centre quiescent. Les cellules externes produisent une gaine de mucilage polysaccharidique ayant un rôle lubrifiant, permettant une meilleure pénétration de la racine dans le sol. Les cellules dérivées du méristème apical forment, de l'intérieur vers l'extérieur, le procambium, le méristème fondamental et le protoderme. Cette zone de division cellulaire est suivie d'une zone d'élongation des cellules, mécanisme majeur de la croissance racinaire, et d'une zone de différenciation. Le procambium est à l'origine des tissus conducteurs, le xylème et le phloème qui forment la stèle ou au cylindre central de la racine. Les tissus fondamentaux, ou de soutien, sont issus du méristème fondamental et constituent l'écorce ou cortex. Enfin, les tissus de revêtements sont des

Chapitre 1 : État de l'art

assises cellulaires superficielles, originaires du protoderme, offrant une protection périphérique à la plante, avec pour dénomination le rhizoderme chez les racines. Certaines cellules rhizodermiques peuvent se différencier en poils absorbants, spécialisés dans le prélèvement de l'eau et des sels minéraux (Figure 7).

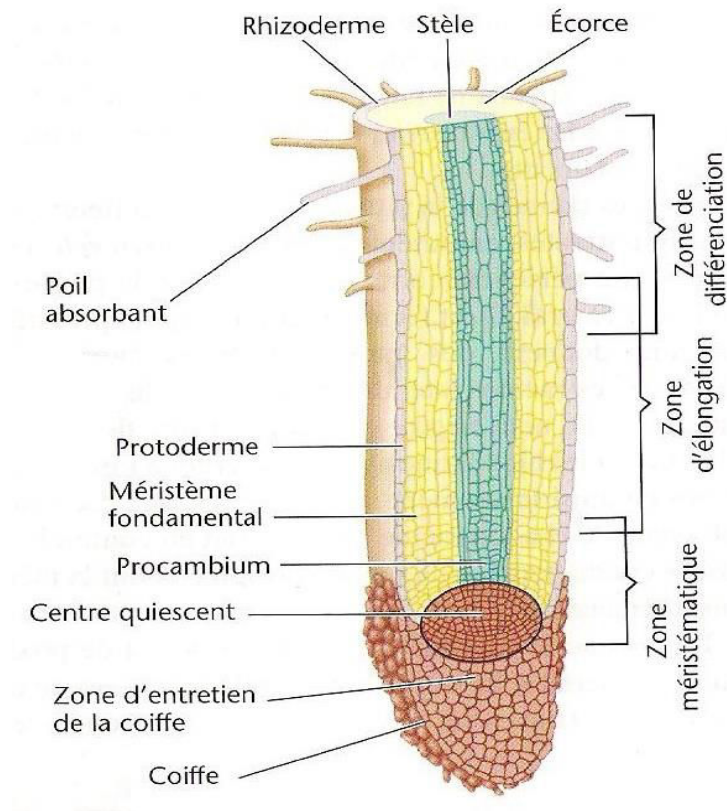


Figure 7 - Structure type d'une racine (Nabors 2008)

Le développement racinaire dépend de la plante mais également des conditions environnementales, telles que la distribution spatiale et temporelle de l'eau et des nutriments, ainsi que des propriétés physiques du sol lui-même. Ces informations sont reconnues comme des signaux externes et relayés par des messagers internes, les hormones.

Chapitre 1 : État de l'art

Une hormone est généralement définie comme une substance naturelle qui exerce des effets variables sur l'organisme selon sa concentration ou selon le type ou la localisation des cellules cibles. Les hormones végétales, ou encore phytohormones, sont synthétisées dans les racines même ou d'autres parties de la plante. Elles permettent la communication intercellulaire en jouant un rôle de messagers chimiques. Ces molécules se lient à des protéines associées aux membranes des cellules ciblées, déclenchant ainsi une série d'évènements, appelée voie de transduction du signal. Cette voie fait intervenir des molécules intermédiaires, des messagers secondaires, interagissant pour relayer l'information. Les informations sont véhiculées dans l'ensemble de l'organisme et régulent le fonctionnement et le développement de la plante par stimulation ou inhibition. Les réponses hormonales peuvent impliquer plusieurs voies de transduction du signal.

À ce jour, six groupes d'hormone végétale ont été définis : les auxines (substances possédant des propriétés physiologiques voisines et une conformation chimique apparentée à l'acide indole-acétique), les cytokinines (substances proches des bases puriques), les gibbérellines (molécules diterpènes, possédant toutes un noyau énantiomère du gibbérelane), les brassinostéroïdes (autres molécules organiques ayant une activité biologique), l'acide abscissique (ABA), et l'éthylène (hydrocarbure gazeux simple).

Les hormones sont en interaction constante et peuvent affecter les différents processus de la croissance des racines de multiples façons. Les auxines, produites dans le méristème (Leyser 2006), interviennent notamment dans la formation et le développement des ramifications racinaires (Benková *et al.* 2003; Blilou *et al.* 2005). *A contrario*, les cytokinines inhibent l'initiation des racines latérales et la vitesse d'élongation des racines (Aloni *et al.* 2006; Laplaze *et al.* 2007). De même, l'accumulation d'ABA stimule la croissance racinaire, et au niveau des parties aériennes, son accumulation a une action inhibitrice (Sharp 1996). A l'inverse,

l'augmentation de la concentration en acide gibbérellique (AG) inhibera la croissance racinaire, et notamment des racines latérales, et stimulera la croissance aérienne (Chaves et al., 2007, Gou et al., 2010). D'autres signaux chimiques peuvent participer comme l'éthylène qui stimule la biosynthèse d'auxines (Hodge 2009). En contrôlant le développement racinaire, ces hormones, parfois antagonistes, ont un rôle important dans la modulation du prélèvement et de l'assimilation des nutriments (Rubio et al, 2009).

2.2.2 Fonctionnement

L'absorption de l'eau et des solutés présents dans la solution du sol se produit au niveau des cellules non lignifiées du rhizoderme, relativement perméables. Les poils absorbants constituent une zone d'absorption maximale, qui cheminent l'eau et les solutés vers le xylème dans la stèle centrale. La force principale qui permet l'extraction de l'eau et sa conduction dans le xylème est la transpiration foliaire et la tension qu'elle induit sur la colonne d'eau dans la plante. L'eau transpirée est remplacée par celle absorbée. Les racines peuvent prélever des nutriments, sous la forme d'ions, dissous dans la phase aqueuse du sol. Les solutés doivent cependant traverser des membranes pour pénétrer dans la racine. La Figure 8 présente la voie empruntée par l'eau enrichie en solutés pour rejoindre le xylème.

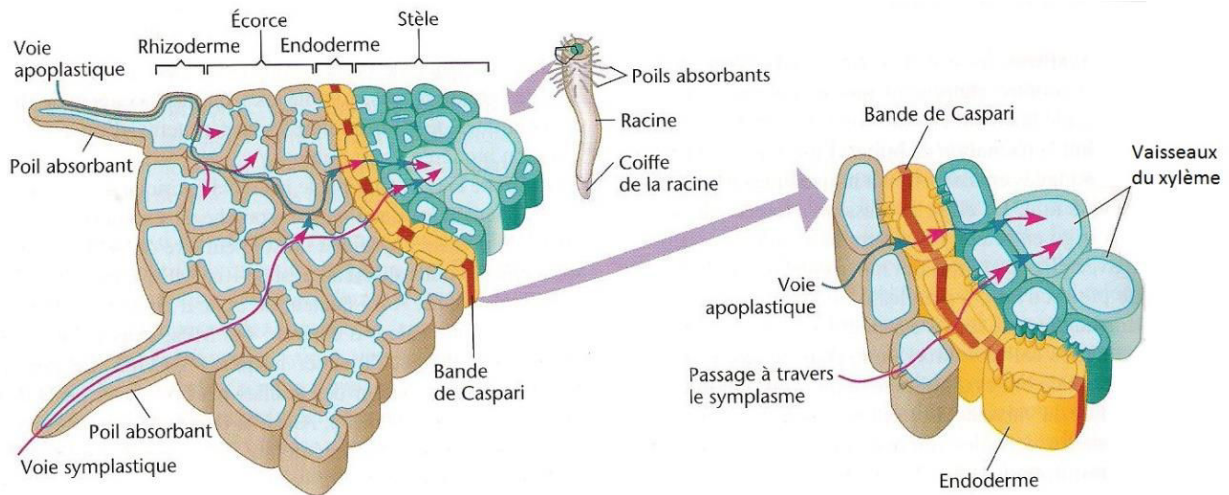


Figure 8 - Voie d'absorption et de transports de l'eau et des sels minéraux dans les racines (Nabors 2008)

L'eau passe par l'apoplasme du rhizoderme et des cellules de l'écorce jusqu'à l'endoderme. L'endoderme est l'assise cellulaire la plus interne de l'écorce, possédant une bande imprégnée de subérine, appelée cadre de Caspary. La subérine est un polymère proche de la lignine, à caractère lipophile et riche en fonctions phénoliques et aromatiques. Le cadre de Caspary oblige l'eau et les sels minéraux à traverser la membrane plasmique des cellules endodermiques par osmose et à passer de cellule en cellule jusqu'aux tissus conducteurs, *via* les plasmodesmes. Ce mouvement à travers les cellules est aussi appelé transport symplastique, le symplaste étant l'ensemble des cytoplasmes interconnectés.

2.3 Les relations HAP-plante-microorganismes

2.3.1 Effets de la plante sur le polluant

La rhizosphère est la partie du sol sous l'influence des racines. Les caractéristiques de celle-ci dépendent ainsi de l'espèce végétale implantée et des propriétés du sol. L'action des végétaux sur la dégradation des HAP peut se faire de manière directe ou indirecte. En effet, les racines

produisent des enzymes de type peroxydase, capables d'oxyder les HAP. Cependant, le principal facteur de la rhizosphère sur la dégradation des HAP est la rhizodéposition. Les racines libèrent du carbone par la perte de tissus ou cellules et l'exsudation de différents types de composés *i.e.* les mucilages (polysaccharides de haut poids moléculaire), des acides organiques (acide malique, citrique...) et des minéraux (Jones *et al.* 2004). La majorité des molécules excrétées est utilisée comme source de carbone et d'énergie par les microorganismes environnant et va ainsi stimuler l'activité microbienne de la rhizosphère. Ce mécanisme constitue le processus clef de la rhizodégradation des molécules organiques (Shann 1995).

2.3.2 Biodégradation des HAP par les micro-organismes

Des voies métaboliques de dégradation des HAP ont été mises en évidence pour des champignons et des bactéries (Haritash et Kaushik 2009). Il a été démontré que la présence de mycorhizes favorise la dissipation des HAP dans des sols fortement contaminés (Binet *et al.* 2001; Fan *et al.* 2008). Les mycorhizes peuvent conférer aux racines une barrière biologique contre l'exposition directe aux polluants et faciliter l'acquisition de nutriments (Leyval et Binet 1998; Gao et Zhu 2004; Gao *et al.* 2010).

Néanmoins, la dégradation bactérienne en aérobiose représente le processus majeur de minéralisation des HAP dans les sols avec une première étape primordiale de dioxygénation des HAP (Peng *et al.* 2008; Haritash *et al.* 2009). Plus rare, une dégradation en conditions d'anaérobiose peut se produire, notamment en présence d'ions nitrates, ferreux ou sulfates, intervenant comme réducteurs des HAP (McNally *et al.* 1999; Chang *et al.* 2002). La première phase de dégradation des HAP est majoritairement imputée à la croissance rapide de certaines bactéries, telles que *Flavobacterium* et *Pseudomonas*, favorisées par des ressources abondantes

Chapitre 1 : État de l'art

(Admon *et al.* 2001; Kaplan et Kitts 2004). Lors de la seconde phase de dégradation bactérienne, la diminution des ressources permet le développement d'espèces à croissance plus lente, de type *Alcaligenes*, *Microbacterium* et *Bacteroides* par exemple (Kaplan *et al.* 2004). En outre, la biodégradation des HAP de haut poids moléculaire est ralentie par l'hydrophobie plus élevée des molécules (Peng *et al.* 2008).

De nombreuses études de rhizodégradation de HAP donnent des résultats prometteurs en conditions contrôlées de laboratoire (Tableau 3). Les résultats positifs de rhizodégradation sont toutefois à modérer. En effet, les essais de culture sont plus couramment conduits sur des sols artificiellement contaminés avec un nombre limité de molécules pendant de courtes périodes. Ces conditions constituent un environnement plus propice à la biodégradation, avec une disponibilité des polluants élevée et quasiment illimitée mais non conformes à la réalité du terrain (Qiu *et al.* 1997; Ouvrard *et al.* 2011, 2014).

Tableau 3 – Exemples d'études sur la rhizodégradation d'HAP ou d'hydrocarbures de sols contaminés

Auteurs	Espèces végétales	Conditions de culture	Contamination	Observations
Binet <i>et al.</i> (2000)	Ray-grass (<i>Lolium perenne</i>)	Pot de végétation ; 6 mois	Artificielle ; huit HAP ; 1000 mg kg ⁻¹	Meilleur taux de dégradation dans la rhizosphère
Chaîneau <i>et al.</i> (2000)	Maïs (<i>Zea mays</i>)	Pot de végétation ; 120 j	Artificielle ; hydrocarbures ; 3300 mg kg ⁻¹	Vitesse de biodégradation élevée lors de la croissance de la plante mais l'effet plante disparaît à la fin de la phase végétative
		Hydroponie ; 40 j	Hydrocarbures ; 850 mg L ⁻¹	Effet positif de la plante sur la biodégradation mais compétition avec les microorganismes pour les nutriments
Chiapusio <i>et al.</i> (2007)	Ray-grass (<i>Lolium perenne</i>) et trèfle des prés (<i>Trifolium pratense</i>)	Pot de végétation ; 30 j ; trois terres	Artificielle ; PHE ; 1000 mg kg ⁻¹ ; deux mois de vieillissement	Meilleure biodégradation avec le ray-grass et dans un sol riche en argile
Parrish <i>et al.</i> (2005)	Ray-grass (<i>Lolium perenne</i>), fétuque (<i>Festuca arundinacea</i>) et mélilot jaune (<i>Melilotus officinalis</i>)	Pot de végétation ; compostage pendant 12 semaines avant culture ; 12 mois	Historique ; 400 à 5000 mg kg ⁻¹	Diminution de la concentration en HAP disponible en présence de plante
Rezek <i>et al.</i> (2008)	Ray-grass (<i>Lolium perenne</i>)	Pot de végétation ; 18 mois	Historique ; 15 HAP ; fertilisation ; 346 mg kg ⁻¹	Pas d'effet plante sur la biodégradation

2.3.3 Transfert des HAP dans la plante : du sol aux racines

Le transfert des HAP du sol à la plante par les racines est la voie d'entrée principale identifiée dans les cas de pollutions supérieures à 100 mg kg^{-1} sol sec (Collins et Finnegan 2010). Selon leurs pressions de vapeur, certains composés peuvent également se volatiliser depuis le sol et pénétrer la plante par le système foliaire mais en des quantités négligeables (Paterson *et al.* 1990). Les HAP peuvent également s'adsorber à la surface des racines (Schwab *et al.* 1998; Jiao *et al.* 2007; Ling *et al.* 2013), pénétrer les tissus (Wild *et al.* 2005a) et être transloqués aux parties aériennes (Kipopoulou *et al.* 1999; Fimes *et al.* 2002; Samsøe-Petersen *et al.* 2002; Gao *et al.* 2004; Gao et Collins 2009).

2.3.4 Mécanismes de prélèvement

Le développement de techniques en microscopie confocale a permis l'observation directe de deux HAP (PHE et ANT) accumulés dans des racines de blé et de maïs âgés de 56 jours (Wild *et al.* 2004, 2005a, 2006). Les composés sont localisés à la surface des cellules épidermales dans les zones d'élongation, pilifère et de ramification. Les molécules ne sont pas détectées au niveau de la coiffe et l'apex de la racine. Les composés semblent entrer radialement dans l'épiderme et pénétrer le cortex, pour se diriger vers les parties aériennes par des mouvements latéraux lents, majoritairement par voie apoplasmique. Un « flux » longitudinal permettrait le transport des HAP des racines vers la partie aérienne (Wild *et al.* 2005a). La pénétration des polluants organiques dans le symplasme des racines peut se faire par transport actif ou passif, selon l'espèce végétale, la nature du polluant ainsi que la concentration en solution (Zhan *et al.* 2010). Le transport passif est un processus trouvant son origine dans un gradient de concentration, il est communément accepté que l'entrée des composés organiques non polaires, tels que les HAP, dans les tissus

Chapitre 1 : État de l'art

racinaires se fait par diffusion (Ryan *et al.* 1988; Collins *et al.* 2005), facilitée par des aquaglycéroporines (Zhan *et al.* 2012). Cependant, un transport actif, exigeant un apport direct d'énergie d'origine métabolique serait associé à ce transport passif dans les plantes supérieures. Une étude menée par Zhan *et al.* (2010) consistant à exposer des plants de blé (*Triticum aestivum* L), âgés de 14 jours, simultanément à du PHE et du NAPH, en solution durant 36 h a mis en évidence une compétition de prélèvement entre les deux molécules. Les auteurs suggèrent l'existence d'un mécanisme de transport en commun, caractérisé par une inhibition réciproque du prélèvement racinaire de ces deux HAP. En effet, à faible température (4 °C), les auteurs montrent que le prélèvement racinaire diminue alors que la concentration en PHE en solution n'est pas affectée par une température plus élevée (25°C). De ce fait, la température n'affecte pas la solubilité du PHE mais le métabolisme de la plante. L'exposition des racines au 2,4-dinitrophénol, inhibiteur de la production d'ATP, a un effet négatif similaire à la température sur le prélèvement du PHE. Ces observations suggèrent une action d'origine métabolique sur l'absorption du PHE par le blé, et mettent en exergue l'existence potentielle d'un mécanisme de transport actif des HAP dans les plantes supérieures, en plus d'un transport passif. Le prélèvement du PHE entraîne une augmentation du pH de la solution externe, laissant supposer que l'entrée de PHE est régulée par un système symport PHE/H⁺ (Zhan *et al.* 2012) dont l'efflux de proton est lié à l'influx d'ions K⁺ (Zhan *et al.* 2013a). Néanmoins, ces travaux réalisés en hydroponie ne sont pas représentatifs des équilibres osmotiques s'établissant entre la plante et le sol. Les résultats obtenus ne sont pas nécessairement transposables à ce système aux interactions plus complexes.

2.3.5 Transport des HAP dans la plante

Des études ont observé l'accumulation de HAP dans les parties aériennes d'espèces végétales cultivées sur des terres contaminées (Kipopoulou *et al.* 1999; Bakker *et al.* 2000; Fismes *et al.* 2002; Samsøe-Petersen *et al.* 2002; Tao *et al.* 2004; Gao *et al.* 2004, 2009; Xu *et al.* 2005). Toutefois, il est admis que les HAP ayant une masse moléculaire faible à moyenne (*i.e.* NAPH, PHE, PYR) présentent une accumulation plus importante dans le système aérien après prélèvement par les racines que les molécules ayant une masse moléculaire élevée (Kipopoulou *et al.* 1999; Bakker *et al.* 2000; Fismes *et al.* 2002; Tao *et al.* 2004; Gao *et al.* 2004; Xu *et al.* 2005; Gao *et al.* 2009). *A contrario*, les HAP à haut poids moléculaire auraient un potentiel d'adsorption plus élevé et ne pourraient pas traverser les tissus racinaires (Kipopoulou *et al.* 1999). Cette hypothèse est pourtant contredite par les travaux de Fismes *et al.* (2002) et Meudec *et al.* (2006) qui ont mis en évidence du BaP et du BghiP ainsi que du IcdP et du dBahA dans des parties aériennes après prélèvement racinaire.

2.3.6 Modélisation du prélèvement des HAP par les plantes

Des facteurs de bioconcentration permettent d'exprimer une concentration observée d'un contaminant dans une plante en fonction de la concentration du composé dans le sol (Figure 9).

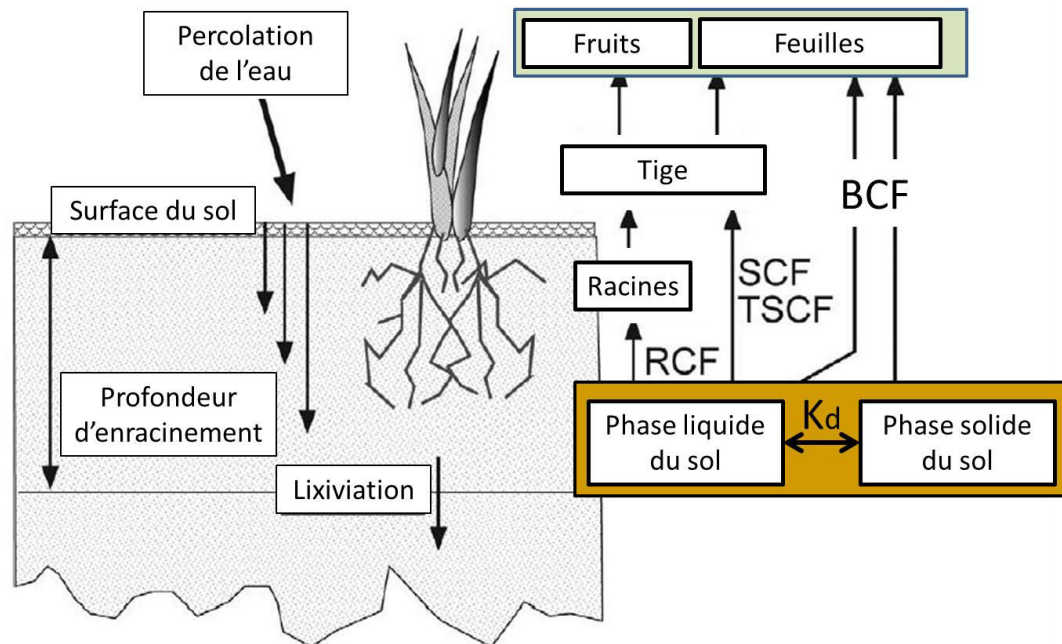


Figure 9 - Illustration des voies de transfert des polluants organiques, depuis les phases solide et liquide d'un sol aux différents organes (racines, tige, feuilles et fruits) de la plante. K_d = coefficient de partition du polluant entre les phases solide et liquide du sol; RCF = facteur de concentration racinaire; TSCF = facteur de concentration dans le flux de transpiration; SCF = facteur de concentration dans la tige; BCF = facteur de bioconcentration sur masse sèche ou fraîche (d'après McKone et al. 2007).

Des modèles existent pour prédire le prélèvement de molécules organiques, tels que les HAP, par les racines en considérant leurs concentrations dans l'eau porale et le **facteur de concentration racinaire** (« *Root Concentration Factor* » ou RCF) :

$$[\text{HAP}]_{\text{prédits}} = [\text{HAP}]_{\text{dissous}} \times \text{RCF} \text{ (Équation 3).}$$

Dans le cas où la concentration des HAP dans l'eau porale n'est pas mesurée directement, il est possible de l'estimer à partir de la concentration en HAP extractibles et des lois de partage comme proposé par van der Heijden et Jonker (2009) et Gomez-Eyles *et al.* (2012) :

Chapitre 1 : État de l'art

$$[\text{HAP}]_{\text{dissous}} = \frac{[\text{HAP}]_{\text{extractibles}} \times f_{\text{oc}}}{K_{\text{oc}}} \text{ (Équation 4),}$$

Où f_{oc} représente la fraction de carbone organique du sol et K_{oc} est estimé d'après la relation de Nguyen *et al.* (2005) (Équation 2).

Le RCF permet d'exprimer le ratio de la concentration d'un polluant organique dans les racines fraîches sur la concentration de la molécule dissoute dans le sol :

$$\text{RCF} = \frac{\text{concentration dans les racines fraîches (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{concentration en solution du sol (mg L}^{-1}\text{)}} \text{ (Équation 5).}$$

Le modèle le plus couramment utilisé pour les molécules organiques non ioniques, tels que les HAP, est celui de Briggs *et al.* (1982) où :

$$\text{RCF} = 10^{0,77\text{LogK}_{\text{ow}} - 1,52} + 0,82 \text{ (Équation 6).}$$

Ce modèle a été établi pour le prélèvement et la translocation de pesticides dans l'orge, et ce, en hydroponie. Ce modèle considère que l'efficacité de transfert augmente avec la solubilité de la molécule dans l'eau. Sa formulation se base donc sur l'hydrophobicité de la molécule, exprimée par le coefficient de partage octanol-eau, le K_{ow} . Les composés ayant un $\log K_{\text{ow}}$ supérieur à 4, comme la plupart des HAP, ont un potentiel important de rétention par la racine (Wild et Jones 1992b) et présenteraient un RCF élevé du fait d'une forte adsorption à la surface racinaire sans pénétration dans la plante (Briggs *et al.* 1982). Les composés organiques ayant un $\log K_{\text{ow}}$ compris entre 0,5 et 3 pourraient pénétrer plus aisément dans la racine, en empruntant les voies de transports des composés solubles (Figure 8). Toutefois, les facteurs impliqués ainsi que les mécanismes de prélèvement des HAP par les racines restent incertains. De plus, dans cette relation assez ancienne, Briggs *et al.* (1982, 1983) supposent que l'accessibilité des molécules

testées n'est pas limitée. Le modèle ne considère ni la capacité de rétention d'un milieu tel que le sol, ni la capacité d'accumulation de la plante, et notamment celle des racines.

Des travaux plus récents relient le prélèvement racinaire à la teneur en lipide (Schwab *et al.* 1998; Gao *et al.* 2004; Collins *et al.* 2010; Kang *et al.* 2010) et en carbone (Zhang et Zhu 2009; Zhan *et al.* 2013b) de l'espèce végétale considérée. Le modèle de Zhang *et al.* (2009) complexifie le modèle réactionnel, en distinguant deux compartiments réactifs dans la racine : les lipides d'une part et l'ensemble des éléments carbonés de la plante d'autre part. Dans ce cas, le terme glucide comprend la cellulose et l'hémicellulose (présentes dans les parois des cellules végétales), les protéines ainsi que les nutriments. Les HAP ont une affinité plus élevée pour la fraction lipidique que pour celle glucidique. Toutefois, la fraction glucidique ne doit pas être négligée car elle est plus abondante que la fraction lipidique. Ainsi, le modèle de Zhang *et al.* (2009) considère les fractions lipidique (f_{lip}) et carbonée (f_{ch}) des racines et les coefficients de partition avec les lipides (K_{lip}) et éléments carbonés (K_{ch}) :

$$RCF = f_{lip} \times K_{lip} + f_{ch} \times K_{ch} \text{ (Équation 7),}$$

Avec $\text{Log } K_{lip} = 1,23 \text{ Log } K_{ow} - 0,78$ et $\text{Log } K_{ch} = 1,23 \text{ Log } K_{ow} - 2,42$. Dans le cas du maïs, on peut utiliser les valeurs déterminées pour le blé par Li *et al.* (2005) $f_{lip} = 1,1 \%$ et $f_{ch} = 15,3 \%$ (Brennan *et al.* 2014).

Le **facteur de bioconcentration sur masse sèche** (« *Bioconcentration Factor* » ou BCF) est donné par la relation suivante :

$$BCF = \frac{\text{concentration dans la biomasse sèche (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{concentration sur sol sec (mg kg}^{-1}\text{)}} \text{ (Équation 8).}$$

Chapitre 1 : État de l'art

Le transfert des polluants aux parties aériennes de la végétation représente un enjeu important pour la sécurité de l'alimentation humaine et animale. Il s'agit donc d'évaluer la capacité des polluants à être transloqués dans le système aérien des plantes pour améliorer les prédictions de transfert. La translocation racines-feuille des HAP se ferait via le xylème, avec le flux de sève conditionné par la transpiration de la plante, et dépendrait de la solubilité de la molécule (Gao *et al.* 2009). En considérant une translocation passive, dirigée par la transpiration, l'efficacité du transport du composant organique des racines vers les parties aériennes peut être exprimée par le **facteur de concentration dans le flux de transpiration** (« *Transpiration Stream Concentration Factor* » ou TSCF), basé sur la concentration en solution du sol et celle dans le xylème après prélèvement par les racines (Briggs *et al.* 1982) :

$$TSCF = \frac{\text{concentration dans le flux de transpiration (mg L}^{-1}\text{)}}{\text{concentration en solution du sol (mg L}^{-1}\text{)}} \text{ (Équation 9).}$$

Le coefficient peut être associé au log K_{ow} d'après la relation de Briggs *et al.* (1982) :

$$TSCF = 0,784 e^{-(\log K_{ow}-1,78)^2/2,44} \text{ (Équation 10).}$$

Un autre facteur de bioconcentration relie la concentration en solution du sol à celle de la tige, c'est le **facteur de concentration dans le système aérien** (« *Shoot Concentration Factor* » ou SCF) :

$$SCF = \frac{\text{concentration dans la tige (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{concentration en solution du sol (mg L}^{-1}\text{)}} \text{ (Équation 11).}$$

De la même façon que pour le prélèvement racinaire, Briggs *et al.* (1983) a proposé un modèle pour déterminer le SCF :

$$SCF = [10^{(0,95 \text{ Log } K_{ow}-2,05)} + 0,82] \times 0,784 e^{-[(\text{Log } K_{ow}-1,78)^2/2,44]} \text{ (Équation 12).}$$

Toutefois, ces modèles n'incluent pas la capacité de rétention des constituants des vaisseaux de la plante. La sorption des HAP aux parois cellulaires pourrait être un facteur clef du transport des molécules dans la plante (Zhang et Zhu 2009). Plus la lipophilie du composé est élevée, plus l'accès au flux transpiratoire est difficile, même s'il existe un équilibre de concentration au niveau de la racine (Briggs *et al.* 1983). De même, la capacité de détoxification de la plante n'est pas prise en considération.

2.3.7 *Phytotoxicité des HAP*

La phytotoxicité des polluants est une donnée indispensable pour la mise en place d'un processus de phyto-dépollution. La phytotoxicité est la capacité d'une substance à altérer de façon passagère ou durable le fonctionnement des végétaux, pouvant aller jusqu'à la mortalité. L'espèce végétale sélectionnée doit pouvoir tolérer la pollution pour un développement suffisant sur le sol à dépolluer.

Les données bibliographiques montrent que les HAP ont des effets au niveau de la croissance et du fonctionnement des plantes supérieures. Des tests de germination en milieux liquide et solide ont été conduits sur un ensemble de 17 espèces végétales (Henner *et al.* 1999; Henner 2000), sélectionnées pour leurs présences fréquentes sur des friches industrielles (carotte sauvage, *Daucus carota* ; chénopode blanc, *Chenopodium album* ; coquelicot, *Papaver rhoeas* ; érigeron âcre, *Erigeron acer* ; matricaire perforée, *Matricaria maritima* ; millepertuis perforé, *Hypericum perforatum* ; silène dioïque, *Silene dioica* ; sysimbre officinal, *Sysimbrium officinal* ; vipérine commune, *Echium vulgare*) ou pour leur usage courant en agriculture (colza d'hiver, *Brassica napus* ; fétuque rouge, *Festuca rubra* ; lupin blanc doux, *Lupinus albus* ; luzerne, *Medicago sativa* ; maïs, *Zea mays* ; orge de printemps, *Hordeum vulgare* ; ray-grass anglais, *Lolium*

Chapitre 1 : État de l'art

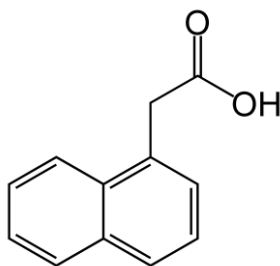
perenne ; trèfle violet, *Trifolium pratense*). Cinq HAP ont été testés en solution aqueuse à 0,2 mg mL⁻¹ (NAPH, PHE, FLA, CHY, BaP), ainsi que deux terres d'anciennes usines à gaz avec des teneurs des 16 HAP EPA proches de 1600 mg kg⁻¹ et 3500 mg kg⁻¹. Les graminées (*i.e.* maïs, orge et ray-grass) ne sont pas affectées par la présence de contamination dans les terres testées, tandis que les dicotylédones (*i.e.* trèfle, le millepertuis, le coquelicot, la matricaire et l'érigéron) présentent des taux d'inhibition de germination compris entre 15 et 40 %. Dans les cas d'exposition à des HAP isolés en solution, le NAPH a le plus fort pouvoir inhibiteur sur la germination des espèces cultivées, quand les composés de plus haut poids moléculaire, tels que CHY et le BaP, ne présentent pas d'effet négatif sur la germination. À l'issue de ces travaux, Henner *et al.* (1999) ont ainsi émis l'hypothèse que la phytotoxicité des sites contaminés est essentiellement due aux composés les plus volatiles, tels que le NAPH chez les HAP, et serait levée une fois complète volatilisation de ces polluants dans le sol. Pourtant, Henner (2000) a mis en évidence une action inhibitrice des terres contaminées sur la croissance d'espèces végétales avec des sensibilités variables, observations également rapportées par d'autres études (Chaineau 1995; Kummerová et Kmentová 2004; Liu *et al.* 2009a). Pourtant, certaines espèces végétales présentent un taux de germination élevé et une croissance diminuée en présence de HAP (Li *et al.* 1997; Smith *et al.* 2006). Ces différences peuvent être attribuées aux conditions expérimentales qui ont une influence directe sur la biodisponibilité du polluant (contamination fraîche ou ancienne, propriétés agronomiques du sol, dispositif clos ou ouvert, *etc.*). Malgré tout, les tests de germination ne permettent pas de prédire l'implantation d'une espèce végétale dans les cas de pollutions de sols par les HAP.

La diminution de biomasse est généralement accompagnée de modifications morphologiques du système racinaire, observées lors de cultures sur sols ou hydroponiques (Wittig *et al.* 2003;

Chapitre 1 : État de l'art

Baldyga *et al.* 2005; Alkio *et al.* 2005; Liu *et al.* 2009a; Kummerová *et al.* 2012, 2013). En présence de contamination élevée, la longueur racinaire et le nombre de racines secondaires sont réduits mais l'intensité des symptômes varie selon l'espèce végétale, le polluant et son exposition. Par exemple, les modifications de l'architecture racinaire de l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*) s'amplifient entre 0,05 et 0,25 mM de PHE sur milieu nutritif gélosé dans des boîtes de pétri. Cependant, pour des concentrations comprises entre 0,25 et 0,75 mM, les symptômes sont de la même ampleur. Au-delà 1,0 mM de PHE, le taux de mortalité est de 100 % après 30 jours d'exposition (Alkio *et al.* 2005). Le pois (*Pisum sativum*) et le maïs (*Zea mays*) montrent des modifications similaires de leurs systèmes racinaires lors d'une exposition à du FLA (0,1 ; 1 et 7 mg L⁻¹) en hydroponie pendant 7 jours (Kummerová *et al.* 2013). Cependant ces effets ne sont pas les mêmes en fonction des espèces et du niveau d'exposition. En effet pour 0,1 mg L⁻¹, le maïs semble moins affecté que le pois, il voit sa croissance stimulée par rapport au témoin (augmentation de 25 % de la longueur racinaire totale et de 35 % du nombre de racines secondaires). Pour la plus forte concentration, soit 7 mg L⁻¹, le pois et le maïs présentent une très forte inhibition de la longueur racinaire totale (respectivement une diminution de 95 et 94 %) et du nombre de racines secondaires (respectivement une diminution de 78 et 94 %). Toutefois, les auteurs ont également observé à cette concentration un épaissement des racines, principalement lié à un accroissement du diamètre de la stèle (jusqu'à 50 % chez le pois et 25 % chez le maïs), une augmentation de la surface xylémienne (surface des lumières des vaisseaux sur une coupe) au niveau de l'apex (jusqu'à 385 % chez le pois et 167 % chez le maïs) et au niveau de la zone de différenciation (jusqu'à 584 % chez le pois et 70 % chez le maïs). En plus d'une modification architecturale des racines, les auteurs ont ainsi démontré i) l'effet stimulateur du FLA à faible dose sur la croissance du maïs, ii) la variabilité de réponses selon l'espèce végétale et iii) une différenciation précoce des tissus vasculaires (Kummerová *et al.* 2013). L'effet

stimulateur de HAP à faible dose sur la croissance d'une plante a déjà été rapporté dans certains cas (Wild *et al.* 1992a; Váňová *et al.* 2009; Kummerová *et al.* 2010). Cette action stimulatrice ou inhibitrice des HAP sur la croissance est semblable à celle de phytohormones. Il est intéressant de noter que les HAP et certaines hormones végétales présentent une parenté structurale, avec la présence de noyaux aromatiques (Figure 10).



Acide naphthalèneacétique (ANA)

Figure 10 – Représentation de la structure du squelette de l'acide naphthalèneacétique

Ainsi, des mécanismes similaires à ceux induits par des phytohormones pourraient être impliqués dans la voie de toxicité des HAP dans la plante et ont fait l'objet de quelques études (Alkio *et al.* 2005; Váňová *et al.* 2009; Weisman *et al.* 2010; Ahammed *et al.* 2012b). Un lien a ainsi été établi entre la présence de PHE et l'acide salicylique (AS), en mettant en évidence chez l'arabette des dames la surexpression du gène codant PR1 (« *Pathogenesis Related Protein 1* ») (Alkio *et al.* 2005) et du gène ICS1 (« *isochorismate synthase* ») (Weisman *et al.* 2010), tous deux impliqués dans la synthèse d'AS et normalement activés par le système de surveillance des pathogènes de la plante (Thomma *et al.* 1998). L'utilisation de mutants de l'arabette des dames *eto3* (surproduction d'éthylène), *etr1-4* (sensibilité à l'éthylène nulle), *etr1-7* (sensibilité à l'éthylène améliorée) et *etr1-6;etr2-3;ein4-4* (sensibilité à l'éthylène triplée) a permis d'établir un lien entre l'éthylène, inhibiteur de croissance, et la présence de PHE dans le milieu de culture. Ainsi, les mutants *eto3*

et *etr1-6;etr2-3;ein4-4* présentent une longueur racinaire plus importante dans le milieu avec PHE que dans le milieu de contrôle. Cette observation laisse supposer que le PHE interfère négativement dans la voie de signalisation ou de la synthèse de l'éthylène, quand l'hormone est elle-même présente à des concentrations élevées ou quand elle est surexprimée. De plus, en présence de PHE, le mutant *etr1-4* présente une longueur racinaire plus fortement réduite (diminution de 60 %) que le mutant non exposé, suggérant que le polluant aurait une action inhibitrice sur la croissance racinaire sans interférer avec la voie de signalisation de l'éthylène. En conclusion, les symptômes connus chez l'arabette des dames et liés aux HAP ne peuvent pas être directement imputés à l'éthylène mais il est démontré ici que le PHE a un pouvoir inhibiteur sur les actions de l'éthylène lorsque celui-ci est à de forts taux dans la plante (Weisman *et al.* 2010). Des dosages directs d'ABA dans des feuilles de pois (*Pisum sativum*) ont montré une augmentation de sa concentration en lien avec l'augmentation de l'exposition au FLA (Váňová *et al.* 2009).

L'exposition aux HAP ne semble pas provoquer de baisse générale des activités métaboliques car l'expression des gènes de ménage, indispensables à la survie des cellules (Forêt 2006), n'est pas affectée par la présence de PHE chez l'arabette des dames (Alkio *et al.* 2005). De ce fait, l'intégrité des gènes de ménage en présence de PHE suggère l'existence de réponses plus spécifiques chez les plantes.

À l'échelle cellulaire, de nombreux dommages, répertoriés dans les plantes supérieures, ont été mis en relation avec la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), associée à un stress oxydatif. Le stress oxydatif se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des ERO et les systèmes de défense (antioxydants), avec pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires souvent irréversibles. Les plus connus sont : perturbation de l'activité de protéines et

d'enzymes (Pašková *et al.* 2006; Li *et al.* 2008; Liu *et al.* 2009a; Ahammed *et al.* 2012a; b), oxydation de pigments *i.e.* chlorophylles a et b, caroténoïdes (Kummerová *et al.* 2004, 2006; Li *et al.* 2008; Liu *et al.* 2009a; Váňová *et al.* 2009; Oguntimehin *et al.* 2010; Ahammed *et al.* 2012a; b), peroxydation lipidique (Pašková *et al.* 2006; Debiane *et al.* 2008; Li *et al.* 2008; Liu *et al.* 2009a; Ahammed *et al.* 2012b; Babula *et al.* 2012), inhibition de l'activité photosynthétique (Oguntimehin *et al.* 2010; Ahammed *et al.* 2012a; b) et mort cellulaire (Alkio *et al.* 2005; Babula *et al.* 2012).

3 Conclusion et objectifs de thèse

Cette étude bibliographique a mis en évidence la complexité du système impliqué dans la rhizodégradation. Quatre principaux acteurs sont ainsi mis en relation : le sol, le polluant, la plante et les micro-organismes. Leurs interactions sont nombreuses et complexes (Figure 11).

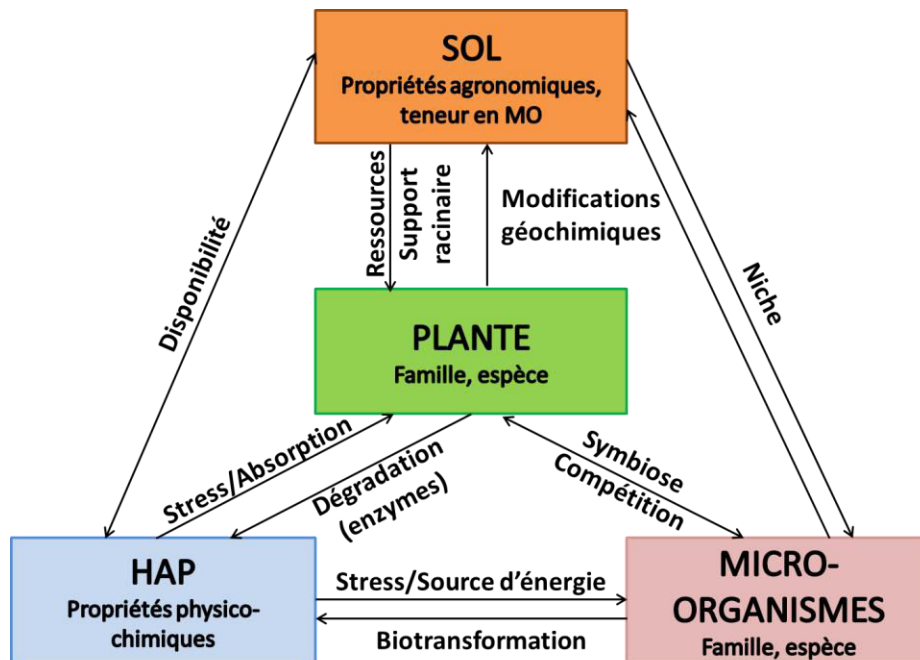


Figure 11 - Schéma conceptuel des interactions entre les acteurs majeurs de la rhizodégradation

Chapitre 1 : État de l'art

La nature du sol définit le comportement des HAP dans la matrice selon les propriétés physico-chimiques du polluant. De même, l'implantation de l'espèce végétale dépend des propriétés agronomiques du sol définissant la réserve d'eau et des nutriments et modulant le développement du système racinaire, qui à son tour, peut modifier la géochimie du sol environnant (la rhizosphère). Le sol constitue également une niche pour une grande variété de micro-organismes. Ces derniers peuvent interagir avec les plantes de façon bénéfique (symbiose) ou au contraire entrer en compétition pour des ressources communes. Lors de la rhizodégradation, les exsudats racinaires vont stimuler l'activité microbiologique de la rhizosphère pour dégrader les polluants organiques tels que les HAP et les convertir en source de carbone supplémentaire. Dans certains cas, la plante peut participer directement à la dégradation du polluant par des activités enzymatiques. Toutefois, la phytotoxicité des HAP peut freiner le développement de la plante par contact dans le milieu et par absorption dans la plante, et de ce fait, perturber la rhizodégradation en retour.

Ce travail de bibliographie met également en évidence la difficulté à évaluer la fraction disponible des HAP dans le sol et susceptible d'être transférée dans la biomasse végétale. De plus, il souligne que le mécanisme général de toxicité des HAP sur les plantes n'est toujours pas pleinement identifié. Ces verrous scientifiques sont sans doute à l'origine des résultats mitigés obtenus lors d'essais de rhizodégradation en condition de terrain. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de recherche, dont l'objectif général est de contribuer à l'amélioration des outils pour l'évaluation du transfert des HAP du sol vers la plante ainsi qu'à la compréhension de l'impact des HAP sur le fonctionnement de la plante. Ce travail doit donc permettre d'intégrer des études réalisées à différentes échelles pour prendre en compte la complexité du système et de tous ses composants et la comparaison de terres réelles historiquement contaminées à des

Chapitre 1 : État de l'art

substrats artificiels pour refléter une partie des difficultés rencontrées sur le terrain. Ainsi, les **objectifs de ce travail de thèse** sont **(i)** améliorer les modèles existant pour l'évaluation de la fraction de HAP absorbable par la plante depuis la fraction disponible dans le sol en comparant différents outils de mesure de la disponibilité des HAP, **(ii)** étudier le comportement de HAP dans le sol et la plante en caractérisant les facteurs contrôlant le transfert des HAP à la plante à l'aide de systèmes de culture simplifiés (support de végétation artificiellement contaminé) et complexes (terres réelles historiquement contaminées), et **(iii)** évaluer l'impact des HAP sur les végétaux à plusieurs échelles de l'organisme, plus particulièrement au niveau du système racinaire, premier organe exposé à la pollution d'un sol.

Ce travail s'articule en deux parties et fait appel à des compétences croisées en chimie analytique, physiologie et histologie. La première partie consiste à évaluer le transfert des HAP du sol vers les plantes (Chapitre III). La deuxième partie porte sur l'impact des HAP sur la plante aux échelles macro et microscopiques de la plante (Chapitre IV). La troisième et dernière partie vise à synthétiser ces résultats en proposant un modèle de fonctionnement des plantes supérieures exposées aux HAP (Chapitre V).

CHAPITRE 2 :

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

SOMMAIRE CHAPITRE 2

1	Matériels	47
1.1	La plante : le maïs (<i>Zea mays</i>).....	47
1.1.1	<i>Variété</i>	47
1.1.2	<i>Pré-germination</i>	47
1.2	Support de culture.....	48
1.2.1	<i>Sable contaminé en phénanthrène</i>	48
1.2.2	<i>Terres industrielles polluées</i>	49
1.3	Solution nutritive	53
2	Expérimentations de culture en conditions contrôlées de laboratoire.....	53
2.1	Cultures sur sable contaminé par le phénanthrène.....	53
2.1.1	<i>Pour l'étude histologique de la racine séminale principale – Expérience I</i>	54
2.1.2	<i>Pour l'étude physiologique de la plante – Expérience II</i>	54
2.2	Culture sur terres industrielles – Expérience III	56
3	Méthodes de caractérisation et outils d'analyses	57
3.1	Préparation et conditionnement des échantillons.....	57
3.1.1	<i>Lyophilisation</i>	57
3.1.2	<i>Broyage</i>	58
3.2	Méthodes de caractérisation des terres	58
3.2.1	<i>Mesure de la capacité de rétention en eau (CRE)</i>	58
3.2.2	<i>Quantification du PHE total du sable</i>	59
3.2.3	<i>Quantification des HAP dits « totaux » des terres industrielles</i>	59
3.2.4	<i>Estimation de la fraction de HAP disponibles</i>	61
3.2.5	<i>Estimation de la concentration en HAP dans l'eau porale par échantillonneur passif</i>	62
3.3	Caractérisation des plantes	64
3.3.1	<i>Quantification des éléments nutritifs</i>	64
3.3.2	<i>Dosage du carbone organique et de l'azote</i>	64
3.3.3	<i>Photosynthèse et transpiration</i>	65
3.3.4	<i>Humidité pondérale</i>	66
3.3.5	<i>Allocation de la biomasse</i>	66
3.3.6	<i>Caractéristiques géométriques du système foliaire</i>	66
3.3.7	<i>Caractéristiques géométriques du système racinaire</i>	67
3.3.8	<i>Évaluation de la subérfication de la racine séminale principale</i>	68
3.3.9	<i>Quantification des HAP dans le système racinaire</i>	71
3.3.10	<i>Quantification des HAP dans le système aérien</i>	71
3.4	Caractérisation des solutions de culture.....	72
3.4.1	<i>Quantification du PHE</i>	72
3.4.2	<i>Dosage des nitrates en solution</i>	72
3.5	Méthodes d'analyse	72
3.5.1	<i>Analyse et quantification des HAP par HPLC</i>	72
3.5.2	<i>Analyse et quantification des 16 HAP par GCMS</i>	75
3.5.3	<i>Localisation du PHE par microscopie en épifluorescence</i>	76
3.5.4	<i>Observations en microscopie confocale à balayage laser</i>	77
3.5.5	<i>Analyses statistiques</i>	78

Ce chapitre décrit successivement le matériel et les méthodes de préparation communs, les plans d'expérimentation des cultures réalisées sur sable artificiellement contaminé et sur des terres historiquement contaminés et enfin, les méthodes de caractérisation et les outils d'analytique communs à toute la thèse.

1 Matériels

1.1 La plante : le maïs (*Zea mays*)

Le choix du maïs, utilisé comme plante modèle dans cette étude, s'est fait sur plusieurs critères :

- (i) Le maïs a une croissance rapide avec une biomasse élevée et un large système racinaire fasciculé qui permet son utilisation en laboratoire pour des cultures courtes avec des pratiques agricoles simplifiées,
- (ii) Le maïs est une espèce dont le fonctionnement a été et continue d'être fortement étudié en terme de physiologie mais également pour son potentiel dans la rhizodégradation,
- (iii) Le maïs est la troisième plante la plus cultivée après le blé et le riz et de ce fait, il présente un intérêt économique pour son usage alimentaire au niveau mondial.

1.1.1 Variété

Les graines de maïs MB862 utilisées dans ces travaux sont obtenues à partir d'un croisement entre la lignée F356 à type de grain denté et la lignée D171 à type de grain corné, issues la station INRA de Saint-Martin-de-Hinx (40).

1.1.2 Pré-germination

Avant utilisation, les graines de maïs ont été scarifiées et stérilisées chimiquement par trempage de 15 min dans un bain de détergent (TFD9, 20% v/v) suivi d'un rinçage à l'eau déminéralisée. Elles ont ensuite été mises à tremper pendant 3 min dans une solution de peroxyde d'hydrogène (10% v/v) et rincées trois fois à l'eau déminéralisée. Les graines sont finalement incubées durant 2 jours sur du coton humidifié dans l'obscurité à température ambiante.

1.2 Support de culture

1.2.1 *Sable contaminé en phénanthrène*

Du sable de quartz (\emptyset 0,4-0,8 mm, Sibelco, Hostun, France) a été utilisé comme support de culture. La contamination a été réalisée avec un seul HAP modèle, le phénanthrène (PHE), communément utilisé lors d'essais en laboratoire (Pašková *et al.* 2006; Gao *et al.* 2009; Liu *et al.* 2009a; Zhan *et al.* 2010; Desalme *et al.* 2011) et faisant parti des 16 HAP prioritaires de l'US-EPA. Pour éviter une colonisation microbiologique non contrôlée du sable, celui-ci a d'abord été chauffé à 200 °C en étuve pendant 2 h avant contamination. Le PHE (>97%, Acros Organics) a été dissous à 43,1 g L⁻¹ dans du dichlorométhane (DCM). Pour chaque niveau de concentration souhaité (50, 150, 250, 500 et 750 mg PHE par kg de sable), un sous-échantillon représentant 10 % (m/m) de la masse totale de sable a été contaminé par une solution fille préparée par dilution de la solution mère afin (i) d'obtenir pour chacun des sous-échantillons des concentrations finales de 0,5 ; 1,5 ; 2,5 ; 5 et 7,5 g de PHE par kg de sable (ii) que le volume de DCM apporté soit le même (16 % v/m) pour chaque sous-échantillon. Chaque sous échantillon de sable contaminé a été placé sous sorbonne pour permettre l'évaporation complète du solvant. Le sable utilisé dans la modalité témoin a également été exposé au même volume de dichlorométhane sans PHE et séché de manière similaire. Pour permettre une homogénéisation de la contamination du sable, chaque

sous échantillon a été mélangé à une masse de sable non contaminé (90 % de la masse de sable finale de sable à préparer) à l'aide d'un quarter. Les lots de sable ont ensuite été stockés dans des sacs en plastiques et conservés dans l'obscurité en chambre froide (4°C) dans l'attente de leur utilisation.

1.2.2 Terres industrielles polluées

Les terres industrielles utilisées pour cette thèse ont été échantillonnées sur différents sites ayant accueilli une activité industrielle. Les sites ont été sélectionnés en France, en Belgique et en Suède, pays partenaires du projet IBRACS (financement par le réseau SNOWMAN) dans lequel s'inscrit cette thèse. Ce projet a pour objectif principal de fournir aux autorités concernées des recommandations sur l'utilisation d'outils de mesure de biodisponibilité des HAP et métaux, ainsi que sur les modèles d'évaluation des risques intégrant ces mesures et utilisés pour la prise de décisions dans la gestion de risques de sols contaminés.

Sept terres françaises (FR01 à FR07), une terre belge (BE01) et cinq terres suédoises (SW01 à SW05) ont été utilisées comme supports de culture. **FR01**, **FR02** et **FR03** sont des terres prélevées dans des zones de contamination décroissante de la friche industrielle de l'ancienne cokerie de Homécourt (Meurthe et Moselle, 54). **FR06** provient d'un lot de terre FR01 ayant été traitée par biopile. Cette technologie consiste en l'utilisation de micro-organismes de sol pour dégrader des polluants organiques présents. **FR04** provient du site de l'ancienne cokerie de Neuves-Maisons (Meurthe et Moselle, 54). **FR05** provient d'un site d'une ancienne usine à gaz en région parisienne. La terre **FR07** provient d'une ancienne usine à gaz de Toulouse (Haute Garonne, 31). **BE01** est issue d'une ancienne usine à gaz en Belgique. Les terres **SW01 à 05** ont été prélevées sur le site d'une ancienne usine à gaz à Karlstad en Suède.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Le Tableau 4 présente les principales caractéristiques physico-chimiques de terres échantillonnées. Les analyses ont été réalisées par le laboratoire d'analyse des sols de l'INRA selon des méthodes normalisées

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Tableau 4 – Propriétés agronomiques des terres de friches étudiées. (1) NF X 31-10711263, (2) NF ISO 10694, (3) NF ISO 13878, (4) NF ISO 10390, (5) NF ISO 10693, (6) NF ISO 11263, (7) NF X 31-130, (8) méthode ICP-Ms INRA, (9) NF X 31-147, NF ISO 22036 et NF EN ISO 17294-2.

	Paramètres	Unité	FR01	FR02	FR03	FR04	FR05	FR06	FR07	BE01	SW01	SW02	SW03	SW04	SW05
Granulométrie (1)	Argile (< 2 µm)	g kg ⁻¹	98	86	119	155	62	96	121	149	61	51	36	56	84
	Limons fins (2 à 20 µm)		126	99	144	129	106	147	183	87	113	81	67	100	151
	Limons grossiers (20 à 50 µm)		84	85	122	71	109	108	101	109	126	109	92	121	141
	Sables fins (50 à 200 µm)		151	153	183	87	191	201	107	387	238	272	141	290	161
	Sables grossiers (200 à 2000 µm)		541	577	432	558	532	448	488	268	462	487	664	433	463
Paramètres agronomiques	Capacité de rétention d'eau	g/100 g	27,4	29,5	28,5	23,4	27,4	17,5	13,8	35,7	21,2	15,3	19,5	23,2	26,5
	Carbone organique (2)	g kg ⁻¹	113,0	177,0	212,0	91,1	335,0	146,0	28,0	48,9	65,4	22,7	75,9	103,0	600,0
	Azote total (3)	g kg ⁻¹	1,9	3,2	3,3	2,5	4,2	2,3	0,7	1,4	0,8	0,3	1,0	1,3	8,9
	ratio C/N	-	60,5	56,0	63,6	36,4	79,8	64,3	41,4	33,9	83,1	72,6	77,6	80,8	67,4
	pH (4)	-	8,5	8,2	8,4	7,5	8,1	8,3	8,5	7,6	7,1	8,6	7,8	6,0	7,7
	CaCO ₃ (5)	g kg ⁻¹	357,0	175,0	217,0	20,5	71,8	210,0	34,9	13,3	<1	8,1	<1	<1	<1
	P Olsen (6)	g P ₂ O ₅ kg ⁻¹	0,06	0,03	0,04	0,06	0,08	0,09	0,04	0,05	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
Capacité d'échange cationique (7)	cmol ⁺ kg ⁻¹	8,6	11,0	14,9	9,7	7,3	11,0	7,7	10,0	2,0	2,2	2,4	1,8	3,6	
Éléments échangeables à la cobalthexamine (8)	Al	cmol ⁺ kg ⁻¹	0,02	<0,02	0,02	<0,02	<0,02	0,02	0,06	<0,02	0,04	0,04	<0,02	0,20	<0,02
	Ca		10,8	12,4	15,4	112,0	12,0	12,9	8,5	29,2	2,5	4,1	2,8	1,7	3,4
	Fe		0,01	0,01	0,01	0,05	0,01	0,01	0,01	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	K		0,30	0,31	0,45	0,47	0,31	0,67	0,11	0,38	0,10	0,11	0,08	0,08	0,05
	Mg		2,61	0,43	0,70	3,51	0,37	0,79	0,22	0,85	0,07	0,05	0,05	0,14	0,12
	Mn		<0,005	<0,005	<0,005	0,01	<0,005	<0,005	<0,005	0,01	<0,005	<0,005	<0,005	0,01	<0,005
	Na		0,06	0,02	0,03	0,64	0,06	0,14	0,11	0,26	0,05	0,03	0,02	0,07	0,99
Teneurs élémentaires totales (9)	Cd	mg kg ⁻¹	7,3	1,2	0,7	2,5	1,3	2,9	0,4	4,4	0,8	0,3	0,4	0,2	0,1
	Co		11,5	12,7	12,2	29,0	14,7	17,7	14,0	10,8	9,4	6,0	6,6	7,0	5,4
	Cr		63,1	172	57,8	824	76,9	87,7	65,5	62,5	23,8	36,3	24,5	18,8	19,7
	Cu		44,3	55,0	99,5	139	78,8	41,0	32,4	134,0	38,0	61,4	51,1	48,1	31,8
	Mo		1,6	9,3	2,1	10,4	2,6	2,6	1,5	2,2	1,8	2,0	1,2	1,5	2,3
	Ni		27,3	31,3	32,1	103	38,6	44,2	34,1	34,9	16,7	15,7	14,1	14,5	16,9
	Pb		144	329	210	711	130	197	352	652	85	56	68	85	77
	S		2790	3030	2210	39000	3110	2540	415	5970	480	292	706	1240	1680
	Tl		1,0	0,3	0,5	0,8	0,3	0,7	0,7	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6
	Zn		395	346	581	2680	266	765	184	328	171	216	150	85	38

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

L'ensemble des terres présente une texture à tendance limono-sableuse, exceptée la terre SW03 qui est plutôt sableuse. Leurs capacités de rétention d'eau (CRE) sont pourtant variables, les terres FR07 et BE01 se distinguant par les CRE les plus contrastées, respectivement 14 et 36 g/100 g. Une grande variation des teneurs en carbone organique est observée, le taux de carbone organique de référence (terre agricole) étant autour de 100 g kg⁻¹. Les terres suédoises SW01, SW02, SW03 et SW04, les terres françaises FR04 et FR07, ainsi que la terre BE01, présentent des teneurs faibles à moyennes, celles-ci étant comprises entre 23 et 91 g kg⁻¹. Les terres issues de la cokerie d'Homécourt FR01, FR02, FR03 et FR06 ont des teneurs en carbone organique un peu plus élevées, comprises entre 113 et 212 g kg⁻¹. Quant à la terre FR05 et la terre SW05, ces dernières présentent des teneurs en carbone organique très élevées, 335 et 600 g kg⁻¹ respectivement. La teneur en azote total confère à l'ensemble des terres des ratios C/N compris entre 34 et 83, les valeurs les plus faibles étant retrouvées dans les terres FR04, FR07, BE01 et les plus fortes dans les terres suédoises et FR05. Les terres de la cokerie d'Homécourt se distinguent également par de fortes concentrations en CaCO₃, comprises entre 175 et 357 g kg⁻¹, leur conférant des pH supérieurs à 8. La terre SW04 se distingue par un pH acide, avec la plus faible valeur égale à 6. Les terres suédoises ont les plus faibles CEC, ainsi que des faibles teneurs en phosphore (proches de 0,1 g P₂O₅ kg⁻¹), quand les teneurs sont 4 à 9 fois supérieures dans les autres terres. Il en est de même pour les cations échangeables Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺ et Fe³⁺ et les éléments traces. Au contraire, la terre FR04 présente les teneurs en cations et en éléments traces les plus élevées en comparaison aux autres terres. Ceci est la conséquence d'une importante quantité de laitiers de hauts-fourneaux, sous-produits de la fabrication de la fonte. Ces derniers sont essentiellement constitués de chaux (CaO), de silice (SiO₂), d'alumine (Al₂O₃), de magnésie (MgO) mais également d'oxydes secondaires tels que FeO et MnO et des composés sulfurés. La

terre BE01 se distingue également avec des concentrations en Cu et Pb élevées, supérieures à 130 et 650 mg kg⁻¹ respectivement.

1.3 Solution nutritive

Pour les expérimentations, une solution nutritive, dite Ruakura, a été utilisée. Cette solution a été adaptée aux besoins nutritionnels du maïs (Smith *et al.* 1983) : 2,8 mM Ca(NO₃)₂, 0,8 mM Mg(NO₃)₂, 4,2 mM NH₄NO₃, 0,9 mM KNO₃, 0,5 μM KH₂PO₄, 0,3 μM K₂HPO₄, 3,3 μM K₂SO₄, 0,2 μM Na₂SO₄, 0,1 μM NaCl, 8,2 μM MnCl₂, 0,6 μM ZnCl₂, 0,6 μM CuCl₂, 41,7 μM H₃BO₃, 0,1 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄ et 41,7 μM FeC₆H₅O₇ dans de l'eau déminéralisée. La solution présente un pH de 6,5.

2 Expérimentations de culture en conditions contrôlées de laboratoire

Toutes les cultures de maïs sur sable contaminé ou sur terres contaminées ont été réalisées en chambre de culture dans les conditions suivantes : 16 h de photopériode, 23 °C le jour et 18 °C la nuit avec 70 % d'humidité atmosphérique. La teneur en eau du substrat a été maintenue à 80 % de la CRE. Afin de garantir un apport suffisant en éléments nutritifs, les systèmes ont été initialement humidifiés avec la solution nutritive de Ruakura décrite précédemment.

2.1 Cultures sur sable contaminé par le phénanthrène

Deux types de culture ont été menés sur sable contaminé par le PHE, selon l'objectif des investigations : l'étude histologique de la racine séminale principale (§2.1.1) et l'étude physiologique de la plante (§2.1.2). Dans les deux cas, des pots de culture en verre non teinté ont été utilisés pour limiter la sorption du PHE sur les parois. L'exposition du substrat et des racines à la lumière a été limitée en enveloppant l'extérieur des pots avec de la bâche noire. L'humidité

des dispositifs a été contrôlée par pesée et maintenue constante tout au long de la culture par des arrosages trihebdomadaires avec de l'eau déminéralisée.

2.1.1 Pour l'étude histologique de la racine séminale principale – Expérience I

Cette culture de maïs a été réalisée dans des pots en verre, de 15 cm de hauteur et 6 cm de diamètre. Les dispositifs contiennent 400 g sec de sable, contaminés selon trois niveaux de PHE : 0, 50 et 150 mg kg⁻¹. Cinq répétitions ont été préparées pour chaque niveau de contamination et pour chaque temps d'arrêt de la culture, 10 et 20 j. L'expérimentation a ainsi regroupé un total de 30 pots de culture. Chacun a reçu trois graines de maïs germées. Après la disposition des graines, les pots de culture ont été scellés avec du parafilm les trois premiers jours pour éviter un dessèchement en surface. Le plant de maïs le plus grand sur les trois semés a été conservé après de 2 j de culture. Celui-ci a été sélectionné d'après la hauteur du système aérien afin de diminuer la variabilité entre les répétitions par modalité. À l'issue de la récolte, à 10 et 20 j, la racine principale séminale a été prélevée, rincée à l'eau déminéralisée et conditionnée pour l'étude histologique.

2.1.2 Pour l'étude physiologique de la plante – Expérience II

Cette culture de 28 jours a été réalisée dans des pots en verre de 21 cm de hauteur et 10 cm de diamètre. Les dispositifs contenaient 2 kg sec de sable, contaminés selon six niveaux de PHE : 0, 50, 150, 250, 500 et 750 mg kg⁻¹.

Après l'apport du polluant, un inoculum bactérien a été ajouté avec la solution nutritive afin de limiter le développement de bactéries favorables à la dégradation des HAP. Celui-ci a été préparé à partir d'un sol agricole (Chènevères, Meurthe-et-Moselle). Pour cela, 10 g de sol ont été mis en suspension dans 100 mL d'une solution saline (NaCl 8,5 g L⁻¹) avec des billes en verre. Après 12

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

h d'agitation, 100 µL du surnageant ont été prélevés pour inoculer 40 mL de milieu de culture LB (Luria Broth). Douze tubes ont été préparés de cette manière. Après 48 h d'inoculation à 27 °C, les tubes ont été centrifugés pendant 10 min à 4 °C à 4000 RPM. Le milieu LB surnageant a été évacué pour ne conserver que le culot, auquel est rajouté 10 mL de solution saline (NaCl 8,5 g L⁻¹). Les tubes ont été mélangés à l'aide d'un vortex puis assemblés trois à trois. Les quatre tubes falcons résultant ont subi la même procédure que précédemment pour être ensuite assemblés deux à deux. Il en a été de même pour les deux tubes résultant qui ont ensuite été assemblés. Le nombre de bactéries a été déterminé dans ce dernier tube par comptage cellulaire au microscope (cellule de Thoma). Un volume spécifique a été alors prélevé et mélangé à la solution de Ruakura utilisée pour l'humidification initiale afin d'obtenir au final 1,5 10⁵ bactéries g⁻¹ de sable.

Pour la modalité « avec plante », six répétitions ont été préparées pour chaque niveau de contamination en PHE avec une graine de maïs germé par pot. La modalité « sans plante » a été suivie pour trois niveaux de contaminations à 0, 150 et 750 mg PHE kg⁻¹, en six répétitions. L'expérimentation regroupait ainsi un total de 54 pots de culture. Une rotation hebdomadaire des blocs a été instaurée pour limiter l'effet lié à la position des répétitions. Un système de prélèvement de la solution interstitielle RHIZON, de type MOM (Ø 2,5 mm x 10 cm) a été implanté dans chaque dispositif. Ces bougies sont formées d'une tête de prélèvement en fibres de verre, à l'intérieur de laquelle se trouve une fine tige en acier. Des prélèvements hebdomadaires (de la solution du milieu) ont pu être réalisés par une mise en dépression au moyen d'une seringue hypodermique en plastique pour la quantification du PHE, des nitrates et des éléments nutritifs au cours du temps. Après 25 j de culture, des mesures des échanges gazeux ont été réalisées sur la deuxième feuille de chaque plant de maïs comme indicateur des activités photosynthétiques et transpiratoires. À l'issue de la culture, un échantillon de sable a été prélevé après

homogénéisation du milieu pour quantifier le PHE total. La plante a été récoltée, en séparant les racines, la tige et les feuilles. L'allocation de biomasse et l'humidité pondérale ont été mesurées pour chaque organe. Les architectures des feuilles et racines ont été étudiées. La quantification des éléments nutritifs a ensuite été réalisée sur les systèmes racinaire et aérien (tige et feuilles compris). Ces différentes méthodes sont détaillées dans les paragraphes qui suivent.

2.2 Culture sur terres industrielles – Expérience III

La culture de 35 jours a été réalisée avec 13 terres de sites historiquement contaminés et du sable non contaminé comme substrat de référence. Les dispositifs étaient constitués de tubes en PVC fermés à une extrémité, de 45 cm de hauteur et 15 cm de diamètre. Un sachet plastifié a été mis en place dans chaque tube afin de faciliter le dépotage et la récupération du système racinaire du maïs cultivé. Dans ces systèmes, l'adsorption des HAP sur les parois plastiques a été considérée comme négligeable. Quatre répétitions ont été préparées par type de sol. L'expérimentation regroupait ainsi un total de 56 pots de culture. Chacun a reçu trois graines de maïs germés. Le plant de maïs le plus grand a été conservé après 2 j de culture. Une rotation hebdomadaire des blocs a été instaurée pour éviter un effet lié à la position des répétitions. À l'issue de la culture, la plante a été récoltée, avec séparation des racines, la tige et les feuilles. L'allocation de biomasse et l'humidité pondérale ont été mesurées pour chaque organe. La géométrie racinaire a été étudiée. La quantification des HAP et des éléments nutritifs ont ensuite été réalisées sur les systèmes racinaire et aérien (tige et feuilles compris). Les extractions de HAP totaux, disponibles et dissous dans l'eau poreuse ont respectivement été réalisées avec un solvant organique, la résine Tenax® et la membrane POM. Ces différentes méthodes sont détaillées dans les paragraphes qui suivent. La Figure 12 précise les conditions de mise en place et conduite de la culture et synthétise les méthodologies de caractérisation des matériaux utilisés.

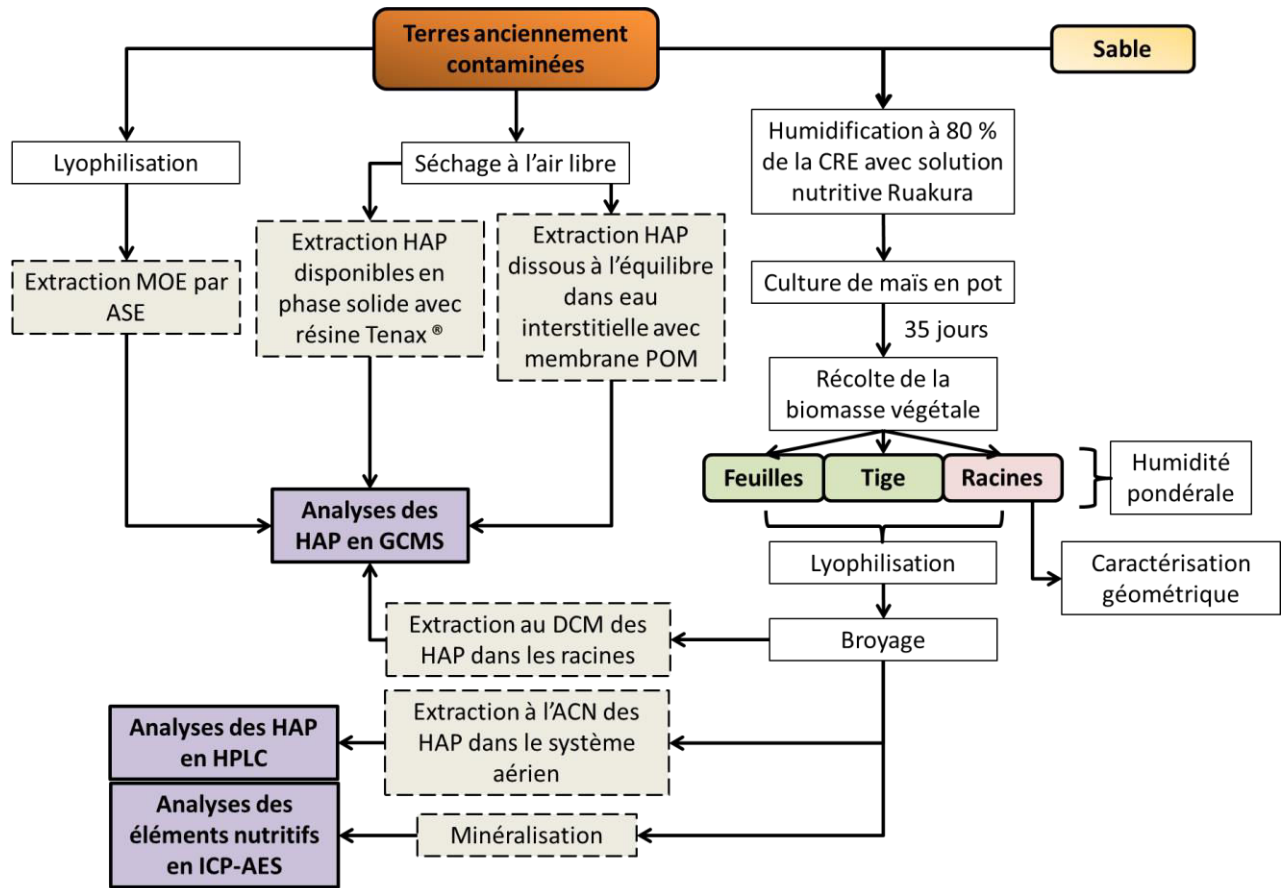


Figure 12 – Plan des traitements physiques, chimiques et techniques analytiques utilisés lors des expérimentations menées sur les terres anciennement contaminées. CRE = capacité de rétention en eau ; DCM = dichlorométhane ; ACN = acétonitrile ; MOE = matière organique extractible

3 Méthodes de caractérisation et outils d'analyses

3.1 Préparation et conditionnement des échantillons

3.1.1 Lyophilisation

Les échantillons de sol ou de biomasse végétale fraîche peuvent nécessiter une élimination de l'eau qu'ils contiennent. Pour limiter la dégradation des HAP, la lyophilisation est favorisée. Cette méthode consiste en la dessiccation d'un produit par sublimation de l'eau. Pour cela, l'échantillon est congelé à -18 °C pendant une nuit. Durant la lyophilisation, la température est

maintenue négative et la pression atmosphérique réduite à 0,3 mbar. L'eau contenue passe de l'état solide à l'état gazeux (sous forme de vapeur). Pour éliminer la totalité de l'eau de l'échantillon, 48 heures de lyophilisation ont été nécessaires. Lorsque le cycle de lyophilisation est terminé, le vide est « cassé » et l'échantillon est amené à pression atmosphérique puis stocké à -18 °C au congélateur dans des flacons en verre hermétiques.

3.1.2 Broyage

Pour l'analyse des HAP, les échantillons de terre ont été broyés à l'aide d'un broyeur en agate jusqu'à obtention de grains inférieurs à 500 µm (contrôle par tamisage). Cette étape de broyage permet une meilleure homogénéisation de l'échantillon et l'amélioration des rendements d'extraction de la matière organique extractible (MOE) au solvant. Les échantillons de terre utilisés pour les extractions des HAP disponibles n'ont pas subi de broyage.

La biomasse végétale sèche a été broyée à l'aide d'un broyeur mécanique à bille (Broyeur MM40, Retsch), jusqu'à obtention d'une poudre aux grains inférieurs à 250 µm. La fréquence et la durée du broyage a été adaptée en fonction de l'organe du maïs et son volume. Pour les racines et les tiges, une fréquence de 27,5 Hz a été appliquée durant 40 ou 50 s pour les petits ou gros volumes. Le broyage des feuilles nécessitait une durée et une fréquence légèrement plus élevées, 50 à 65 s à 28 Hz.

3.2 Méthodes de caractérisation des terres

3.2.1 Mesure de la capacité de rétention en eau (CRE)

La CRE des terres a été déterminée à pF 2 à l'aide d'une presse à membrane d'après la norme NF ISO 11464 X31-412 (décembre 1994). Les terres étaient contenues dans des anneaux métalliques

et saturés en eau sur plaque poreuse à basse pression. Le dispositif a été placé dans une enceinte hermétiquement fermée pendant 24 h à 0,1 bar. L'eau retenue a été déterminée par la mesure de l'humidité de la terre à la sortie de l'extracteur (Extracteur à plaque basse pression, LaboTest).

3.2.2 Quantification du PHE total du sable

L'extraction des HAP dans le sable a été réalisée sur une aliquote de masse précise autour de 1 g. Elle a été mise dans un flacon en verre ambré fermé avec 10 mL de dichlorométhane (DCM) et placé dans un bain à ultra-sons (Branson 5210, 19 W, 47 kHz) pendant 2 h. L'opération a été répétée une deuxième fois. Les deux extraits au DCM ont été récupérés à l'aide d'une pipette pasteur, assemblés et évaporés sous flux d'azote (TurboVap® LV, Caliper Life Science) jusqu'à un volume d'environ 3 mL. Un volume plus important d'acétonitrile (ACN) a été ensuite ajouté. Une nouvelle évaporation sous flux d'azote a été réalisée pour éliminer le restant de DCM. L'extrait a été ajusté à 5 mL dans une fiole jaugée. Les échantillons ont ensuite stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en chromatographie liquide (HPLC, « High Performance Liquid Chromatography »).

3.2.3 Quantification des HAP dits « totaux » des terres industrielles

L'extraction des HAP dans les terres a été réalisée à l'aide d'un extracteur à solvant sous pression (« Accelerated Solvent Extractor », ASE 350, Dionex). La méthode consiste en l'injection d'un solvant organique à forte pression et haute température à travers une cellule contenant un échantillon de terre à analyser. Les températures et les pressions élevées permettent de maintenir le solvant à l'état liquide et d'augmenter la vitesse de dissolution des composés organiques. Les cellules de 10 mL recevant l'échantillon ont d'abord été rincées pour éviter toute contamination

des extraits par la cellule ou les réactifs. Elles ont été conditionnées selon la méthode décrite en Figure 13.

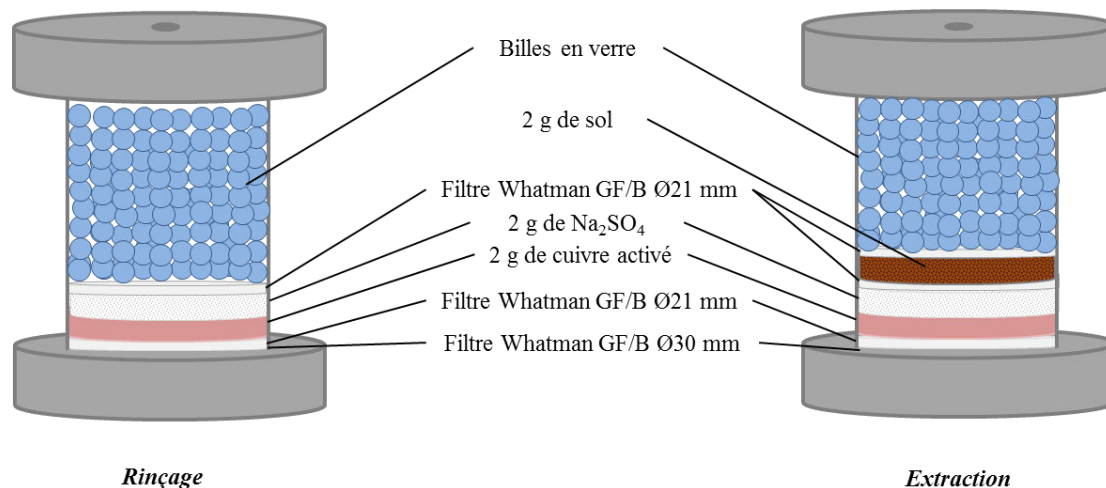


Figure 13- Schéma du remplissage des cellules de l'ASE

Les filtres en verre Whatman empêchent le passage des particules sans sorption des HAP et la dispersion du contenu de la cellule. Du cuivre en poudre a été utilisé pour piéger le soufre élémentaire pouvant interférer lors de l'analyse ultérieure. Pour cela, le cuivre a été préalablement activé à l'acide chlorhydrique puis rincé à l'eau, à l'éthanol et au DCM. Du sulfate de sodium anhydre a également été utilisé pour capturer l'eau résiduelle. Les billes de verre ont permis de réduire le volume mort de la cellule et en conséquence, de diminuer la consommation de solvants. Le rinçage a été réalisé avec un mélange acétone/DCM (50/50 v/v) à 130 °C et 100 bars. Après rinçage de la cellule, 2 g de terre lyophilisée et broyée ont été introduits dans la cellule pour subir deux extractions successives au DCM à 100 °C et 100 bars. Les deux extractions ont été réunies et mises à évaporer sous flux d'azote (TurboVap® LV, Caliper Life Science) à 10 psi et 20 °C, jusqu'à un volume d'environ 3 mL. L'extrait organique ainsi concentré a été ajusté avec du DCM à 20 mL dans une fiole jaugée. Une aliquote de 3 mL a été

transvasée dans un pilulier pré-pesé, mis à sec par évaporation sous sorbonne (environ 24 h) et pesé. Le bilan de masse a permis de déterminer la quantité de MOE de l'échantillon. Les extraits ont été stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en chromatographie en phase gazeuse, couplée à un spectromètre de masse (GCMS, « Gas Chromatography Mass Spectrometry »). Par souci de simplification, les HAP extraits de la terre par cette méthode d'extraction sont désignés par « HAP totaux ».

3.2.4 Estimation de la fraction de HAP disponibles

La quantité de HAP disponibles a été déterminée grâce à une extraction réalisée à l'aide de résine Tenax®, d'après le protocole mis en place par Barnier *et al.* (2014) et adapté de Cornelissen *et al.* (1997). Une aliquote de 2 g du terre non broyée et séchée à l'air libre a été mise en suspension dans 300 mL d'une solution saline (0,01 M CaCl₂) complétementée en azoture de sodium pour inhiber toute activité biologique (200 mg L⁻¹ NaN₃) avec 2 g de résine Tenax® TA (177-250 µm). Le dispositif a été agité sur un agitateur rotatif à 15 rpm pendant 30 heures dans une pièce thermostatée à 21 °C. À l'issue de l'agitation, le flacon a été laissé au repos pendant 1 h pour une meilleure séparation entre les particules de terre et la résine Tenax®, qui flotte en surface. La résine a été aspirée par un système sous vide dans un erlenmeyer pour être ensuite récupérée à l'aide d'un tamis de maille à 50 µm. Les particules de résine ont été rincées à l'eau distillée et placées sous sorbonne pendant une nuit pour éliminer toute trace d'eau. Une fois sèche, la résine a été transférée dans un tube en verre avec 20 mL de solution acétone/hexane (50/50 v/v) qui a été placé dans un bain à ultrason (Branson 5210, 19 W, 47 kHz) durant 1 h. L'extraction a été répétée une fois en récupérant la résine à l'aide d'un tamis de maille à 50 µm et en renouvelant le solvant. Cette étape permet de s'assurer de la récupération complète des molécules adsorbées sur la résine. Les deux extraits ont été réunis et mis à évaporer sous flux d'azote (TurboVap® LV,

Caliper Life Science) à 10 psi et 20 °C, jusqu'à environ 3 mL. L'extrait organique ainsi concentré est ajusté à 5 mL dans une fiole jaugée avec le mélange acétone/hexane (50/50 v/v). Les échantillons sont stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en GCMS.

3.2.5 Estimation de la concentration en HAP dans l'eau porale par échantillonneur passif

Cette technique permet d'estimer la concentration en HAP dans l'eau interstitielle d'une terre à l'équilibre (Hawthorne *et al.* 2009, 2011). Elle consiste en l'adsorption des HAP sur un échantillonneur passif, constitué de polyoxyméthylène (POM, C.S Hyde Co., Lake Villa, IL, USA). Avant utilisation, les bandes de POM d'une masse précise proche de 100 mg nécessitent un rinçage méticuleux. Pour cela, les bandes ont été mises en agitation rotative dans du méthanol pendant 1 j. Le méthanol a ensuite été remplacé par de l'heptane et agité pendant 1 j. Cinq rinçages successifs à l'eau distillée d'un jour chacun ont alors été réalisés avant utilisation des bandes POM. Pour réaliser l'extraction des HAP en solution à l'équilibre, 5 g de terre ont été mis en suspension dans 30 mL d'une solution saline (0,01 M CaCl₂), complétée en azoture de sodium pour inhiber toute activité biologique (200 mg L⁻¹ NaN₃), dans un flacon en verre ambré de 50 mL. Une bande de POM d'une masse connue proche de 100 mg a été utilisée par dispositif. Les flacons ont ensuite mis sur un agitateur rotatif à 10 rpm pendant 28 j dans une pièce thermostatée à 21 °C. Une fois l'agitation de 28 j finie, les bandes POM ont été récupérées et rincées à l'eau distillée pour enlever toutes les particules de terre à la surface. L'eau restant en surface a été éliminée à l'aide de papier absorbant propre. Cette manipulation doit durer moins d'une minute pour éviter une exposition prolongée des bandes POM à la lumière et à l'air libre, afin de limiter la contamination par des molécules présentes dans l'air ambiant et la photodégradation. Une fois sèches, les bandes POM ont été placées dans des flacons de 50 mL

avec 20 mL d'une solution d'heptane/acétone (80/20 v/v) et mises à agiter 2 jours à 10 rpm dans l'obscurité afin d'extraire les HAP adsorbés sur la membrane. Les extraits ont été ensuite concentrés par évaporation sous flux d'azote (TurboVap® LV, Caliper Life Science) puis ramenés à 5 mL dans une fiole jaugée avec le même mélange heptane/acétone (Figure 14). Les échantillons ont été stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en GCMS.

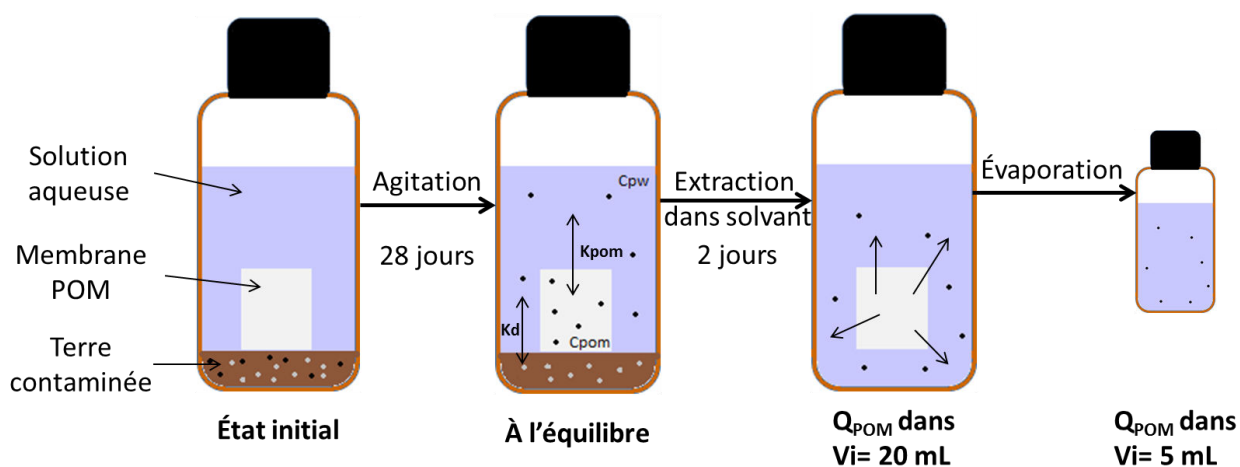


Figure 14 – Schéma de synthèse des interactions entre les molécules de HAP originaires de terre contaminée avec l'eau et la membrane POM.

Le dosage de l'extrait indique la quantité de HAP adsorbés (Q_{POM}) qui, ramenée à la masse de la membrane POM (m_{POM}), permet l'estimation de la concentration sur la membrane C_{POM} :

$$C_{POM} = \frac{Q_{POM}}{m_{POM}} \text{ (Équation 13)}$$

La concentration pour chaque molécule de HAP dissoute à l'équilibre dans l'eau porale (« *Pore water Concentration* » ou C_{pw}) peut être déduite d'après la formule suivante :

$$C_{pw} = \frac{C_{POM}}{K_{POM}} \text{ (Équation 14)}$$

Avec K_{POM} le coefficient de partition du polluant entre la membrane POM et l'eau connu pour chaque HAP (Hawthorne *et al.* 2011).

3.3 Caractérisation des plantes

3.3.1 Quantification des éléments nutritifs

Les teneurs en micro et macro éléments ont été dosées dans les parties racinaires et aériennes (feuilles et tiges). La minéralisation a été effectuée sur une biomasse connue proche de 10 mg sèche et broyée à l'aide des tubes et bloc chauffant thermostaté Digiprep® (SCP Science). Elle consistait en deux attaques successives avec 2 mL de HNO₃ (5 M) pendant 12 h à froid puis 30 min à 70 °C suivi de 2 mL de H₂O₂ (3 M) pendant 3 h 30 à 95 °C. Les extraits ont ensuite été filtrés à 0,45 µm (filtre à seringue Acrodisc ®) et le volume du filtrat ajusté à 10 mL avec de l'eau déminéralisée. Pour chaque série de mise en solution, deux échantillons de référence ont été utilisés : des feuilles de *Nocca caerulea* (contrôle interne ; R21001002_V02.1) et des feuilles de maïs finement broyées (INRA USRAVE). Les éléments dans les extraits aqueux acidifiés ont été dosés par spectrométrie d'émission atomique en plasma induit d'argon (ICP-AES, ICAP 6300, Thermo Scientific). À chaque analyse, des blancs ont été utilisés pour déterminer les limites de détection et de quantification.

3.3.2 Dosage du carbone organique et de l'azote

Les teneurs totales en carbone et azote ont été déterminées par combustion sèche d'une prise d'essai de masse connue proche de 50 mg d'échantillon enfermé dans une capsule en étain, en

utilisant un analyseur élémentaire CHNS (Vario micro, Elementar), selon les normes AFNOR NF ISO 10694 et NF ISO 13878 respectivement.

3.3.3 Photosynthèse et transpiration

La photosynthèse et la transpiration ont été déterminées sur une surface foliaire connue à l'aide d'un appareil portatif mesurant les échanges de gaz, le Li-Cor 6200 (Li-Cor Inc). Cet appareil permet de réaliser des mesures directement sur une feuille, sans distinction des faces. La feuille est placée dans une chambre laissant passer la lumière (Figure 15), dans laquelle ont été mesurées la température de l'air et de la feuille, et l'humidité relative.



Figure 15 – Chambre de mesure des échanges gazeux d'un Li-Cor 6200

Une pompe aspire l'air de la chambre pour le faire passer par un analyseur de CO₂, avant d'être réinjecté dans la chambre. Les échanges de CO₂ entre la feuille et l'atmosphère sont calculés en mesurant respectivement le changement de concentration de CO₂ et d'humidité relative dans la chambre fermée contenant la feuille, dans un intervalle de temps court (30 s). L'assimilation nette

de CO₂ et la transpiration ont alors été calculées en utilisant les taux de changement de CO₂ et H₂O mesurés, la surface de feuille enfermée, la température et la pression atmosphérique.

3.3.4 Humidité pondérale

L'humidité pondérale (*HMP*, en %) des racines, feuilles et tiges a été déterminée par différence de masse avant et après lyophilisation. La teneur en eau des tissus a pu être déduite selon le calcul suivant :

$$HMP = \frac{BMF - BMS}{BMF} \times 100 \text{ (Équation 15),}$$

Où *BMF* est la biomasse fraîche (en g) et *BMS* est la biomasse sèche (en g).

3.3.5 Allocation de la biomasse

L'allocation de biomasse (*ABM*, en %) a été déterminée de la façon suivante :

$$ABM_{org} = \frac{BMS_{org}}{BMS_T} \times 100 \text{ (Équation 16),}$$

Où *BMS_{org}* est la biomasse sèche de l'organe considéré et *BMS_T* est la biomasse sèche de la plante entière (en g).

3.3.6 Caractéristiques géométriques du système foliaire

La surface foliaire (*SF*, en m²) de la plante a été mesurée à l'aide d'un planimètre (LI-3000C Portable Area Meter). Plusieurs paramètres morphologiques sont alors déterminés (Vile *et al.* 2005) :

- Surface foliaire spécifique (« *Specific Leaf Area* » ou *SLA*, en m² kg⁻¹) :

$$SLA = \frac{SF}{BMS\text{ feuilles}} \times 10^3 \text{ (Équation 17),}$$

- Teneur en matière sèche foliaire (« *Leaf Dry Matter Content* » ou *LDMC*, en mg g⁻¹) :

$$LDMC = \frac{BMS\text{ feuilles}}{BMF\text{ feuilles}} \times 10^3 \text{ (Équation 18),}$$

- Épaisseur foliaire (« *Estimated leaf thickness* » ou *ELT*, en µm) :

$$ELT = \frac{1}{SLA \times LDMC} \text{ (Équation 19).}$$

3.3.7 Caractéristiques géométriques du système racinaire

Le système racinaire fraîchement récolté puis rincé a été scanné (Figure 16). L'image numérique obtenue (800x800 ppp) a été traitée par le logiciel d'analyse d'image WinRhizo® Reg (WhinRhizo, 2005, Regent Instruments Inc.). Le paramètre étudié est la longueur totale (en cm) par classe de diamètre : 0 à 0,2 mm ; 0,2 à 0,4 mm ; 0,4 à 0,6 mm ; 0,6 à 0,8 mm ; 0,8 à 1,2 mm et 1,2 à 1,8 mm.



Figure 16 – Photographie du scanner adapté à l'utilisation du logiciel d'analyse d'image WinRhizo® Reg et image d'un système racinaire de maïs de 28 jours cultivé sur du sable non contaminé.

3.3.8 Évaluation de la subérification de la racine séminale principale

Pour évaluer la subérification, la racine séminale principale a été prélevée et incluse dans de l'agarose à 6 % (w/v). Après solidification de l'agarose, la racine est segmentée à intervalle régulier, tous les 5 % de la longueur totale de la racine, de l'apex vers la graine (Figure 17). À chaque extrémité de segment, 5 coupes d'une épaisseur de 200 μm sont réalisées de part et d'autre au vibratome (Leica).

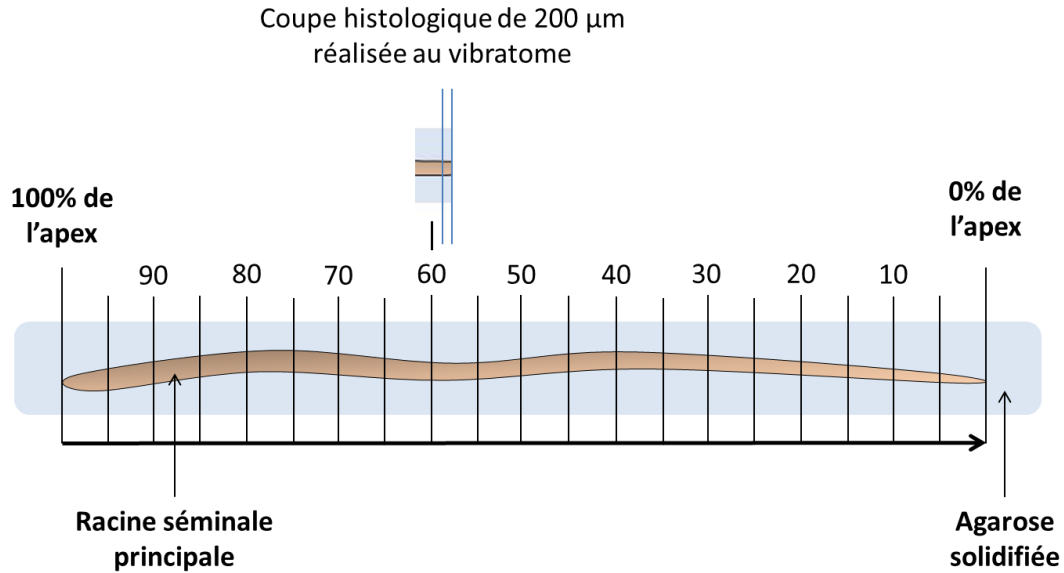


Figure 17 – Schéma de la découpe régulière de la racine principale et la réalisation des coupes histologiques par vibratome

Les tissus racinaires sont visualisés par l'autofluorescence de la cellulose, lignine et subérine par un filtre UV-1A. La distinction de la subérine est réalisée par la coloration au *fluorol yellow* 088 (Sigma) (Lux *et al.* 2005). La solution colorante (0,01 % w/v) est préparée dans du polyéthylène glycol (PEG; MW 400 Da) maintenu liquide par chauffage à 90 °C, en bain marie. La solution est conservée à +4 °C, dans l'obscurité. Avant utilisation, le colorant est dilué dans du glycérol 90 % (pureté $\geq 99,5$ %, Roth) à hauteur de 1:1 (v/v). Cette solution est de nouveau diluée à 1/50 (v/v) dans de l'eau déminéralisée. Les coupes sont recouvertes de cette solution pendant 30 min à l'obscurité. Suite à cela, deux à trois gouttes de FeCl_3 à 0,1% dilué dans du glycérol (50/50 v/v) permettent de stabiliser la coloration pour l'observation. Les coupes sont observées grâce à un microscope à épifluorescence (NIKON Eclipse 80i), équipé d'un illuminateur à fibre (C-HGFIE Intensilight) pour l'excitation. La subérine est visible par excitation au filtre FITC (λ_{ex} : 465-495 nm ; 480/30X, 505LP, 535/40M) et l'autofluorescence racinaire est visible sous UV-1A (filtre UV-1A ; λ_{ex} : 330-380 nm).

Une caméra digitale noire et blanche (NIKON Digital Sight D5-U3) permet la photographie de l'aire de la stèle, de la coupe racinaire et la subérification de l'exoderme à l'aide d'un objectif X2 (3,19 $\mu\text{m}/\text{pixel}$), ainsi que de la subérification de l'endoderme avec un objectif X10 (0,64 $\mu\text{m}/\text{pixel}$) (Figure 18). L'analyse d'image est effectuée sur le logiciel ImageJ 1.45s (National Institutes of Health) employant les plugins Bio-Formats© (Rueden et Linkert (2005-2014) – Open Microscopy Environment) et Biorad Reader©. L'évaluation de la subérification de l'endoderme est estimée via le rapport du nombre de cellules subérifiées sur le nombre total de cellules de l'endoderme. Pour la subérification de l'exoderme, seule une estimation semi-quantitative a été réalisée (sur une échelle de 0 à 100 %, par intervalle régulier de 5 %). Il est considéré ici qu'une structure histologique est totalement subérifiée si elle comporte plus de 85 % de cellules subérifiées. Conceptuellement, cela correspond à une CE85 (Concentration Efficace donnant 85 % de réponse) où la concentration est remplacée par la distance à l'apex. Ce paramètre est appelé intensité de subérification (*ISendo* ou *ISexo*).

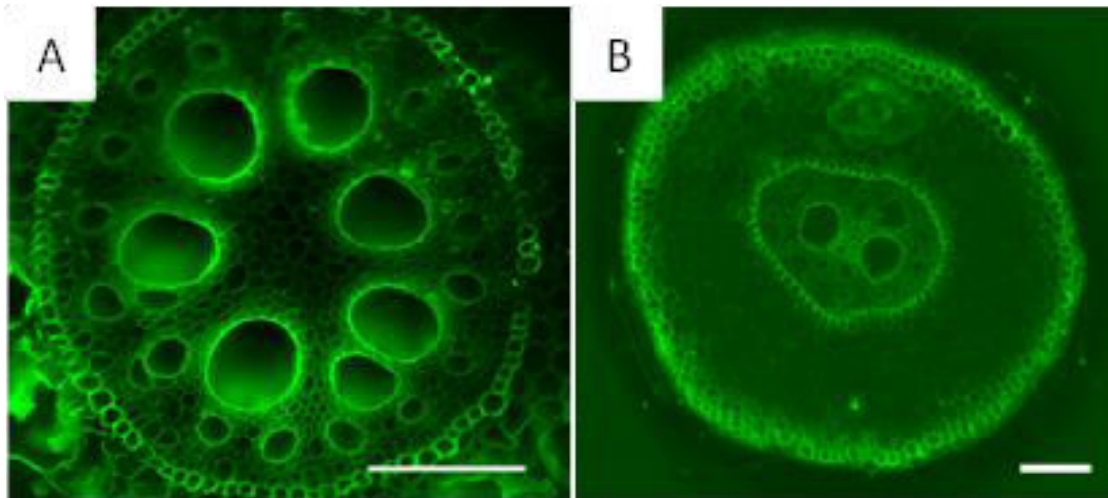


Figure 18 - Photographies de coupes de racines de maïs colorées au Fluorol Yellow 088 et observées au filtre FITC en microscopie à épifluorescence : A) endoderme subérifié à 89 % (objectif x10) ; B) exoderme subérifié à 100%(objectif x2). Barre blanche : 200 μm .

3.3.9 Quantification des HAP dans le système racinaire

Pour l'extraction des HAP dans les racines, une masse connue proche de 0,5 g de biomasse sèche et broyée, a été transférée dans un flacon en verre avec 10 mL de DCM, placée dans un bain à ultrason (Branson 5210, 19 W, 47 kHz) pendant 2 h. Après décantation, la solution surnageante a été récupérée à l'aide d'une pipette en verre. Trois extractions successives ont été réalisées pour chaque échantillon, de façon à récupérer la totalité des HAP présents dans les racines. Les trois extraits ont été réunis et évaporés sous flux d'azote (TurboVap® LV, Caliper Life Science). Le volume final a été ramené à 5 mL dans une fiole jaugée avec du DCM. Les échantillons ont été filtrés à 0,45 µm (filtre à seringue Whatman, PTFE) et stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en GCMS.

3.3.10 Quantification des HAP dans le système aérien

Pour l'extraction des HAP dans le système aérien (feuilles et tige mélangées), une masse connue proche de 0,5 g de biomasse sèche et broyée a été transférée dans un flacon en verre avec 10 mL de DCM, placée dans un bain à ultrason (Branson 5210, 19 W, 47 kHz) pendant 2 h. Après décantation, la solution surnageante a été récupérée à l'aide d'une pipette en verre. Trois extractions ont été réalisées successivement sur la même prise d'essai, de façon à récupérer la totalité des HAP présents dans les racines. Les trois extraits ont été réunis et évaporés sous flux d'azote (TurboVap® LV, Caliper Life Science). L'extrait a été repris dans de l'ACN puis ramené à 5 mL dans une fiole jaugée. Les échantillons ont été filtrés à 0,45 µm (filtre à seringue Whatman, PTFE) et stockés dans un congélateur dans l'attente d'être analysés en HPLC. Cette technique a été privilégiée pour éviter une étape de purification de l'extrait nécessaire pour éliminer la chlorophylle qui perturbe l'analyse en GCMS.

3.4 Caractérisation des solutions de culture

3.4.1 Quantification du PHE

L'extraction de la solution libre du sable a été faite par succion, à travers une bougie poreuse installée dans chaque pot de culture. Les pores étant de diamètre compris entre 0,12 et 0,18 μm , la filtration a permis l'élimination des bactéries. Les échantillons de solution aqueuse sont conservés dans des piluliers en verre et sont stockés dans un congélateur (-20 °C) dans l'attente d'être analysés en HPLC.

3.4.2 Dosage des nitrates en solution

La concentration en ion NO_3^- en solution a été mesurée en chromatographie ionique (Dionex). La colonne utilisée était une colonne d'échange anionique ION PAC® AS11-HC 4x250 mm.

3.5 Méthodes d'analyse

3.5.1 Analyse et quantification des HAP par HPLC

La ligne HPLC (High Performance Liquid Chromatography) utilisée est composée d'une pompe (9012 Solvent Delivery System, Varian), d'un passeur d'échantillon (ProStar 410 Autosampler, Varian), d'un détecteur à barrette de diode PDA (ProStar 330 PDA Detector, Varian) et d'un détecteur à fluorescence (ProStar 363 Fluorescence Detector, Varian). La colonne utilisée est une Pursuit 3 PAH (Varian), de taille 100 x 4,6 mm, 3 μm placée dans un four thermostaté à 25 °C.

La quantification du PHE en solution aqueuse et du sable se fait en fonction de la gamme de concentration attendue en UV à 249 nm ou en fluorescence (250/365 nm excitation/émission).

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

L'analyse se fait après injection de 10 μL d'échantillon avec une élution isocratique ACN/eau 80/20 (v/v) à un débit de 1 mL min^{-1} . Le temps de rétention du PHE est alors de 2,6 min.

La quantification de 15 HAP extraits des feuilles a été réalisée uniquement par fluorescence. L'analyse a été faite après injection de 10 μL avec un gradient d'élution ACN/eau à un débit de 1,3 mL min^{-1} (Tableau 5).

Tableau 5 – Gradient d'élution ACN/Eau pour la séparation de HAP en HPLC sur la colonne Pursuit 3 PAH, détectés en fluorescence

Temps (min)	Eau (%)	ACN (%)
0	40	60
3	40	60
15	10	90
25	10	90
25,10	0	100

Les différents temps d'élution et longueurs d'ondes excitation/émission pour chaque HAP sont donnés dans le Tableau 6.

Tableau 6 – Temps de rétention et longueurs d'onde en fluorescence utilisés pour l'analyse de 15 HAP extraits depuis la biomasse aérienne de maïs

Molécule	Temps de rétention (min)	Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)
NAPH	3,072	226	330
ACE	4,623	276	324
FLU	4,914	276	324
PHE	5,869	250	390
ANT	6,880	250	390
FLA	7,994	280	466
PYR	8,833	270	380
BaA	11,831	260	420
CHY	12,513	260	420
BbF	15,073	290	430
BkF	16,306	290	430
BaP	17,219	290	430
dBahA	19,559	290	418
BghiP	20,668	290	418
IcdP	21,998	300	464

Un chromatogramme type montrant la séparation de 15 HAP par la colonne est présenté en Figure 19.

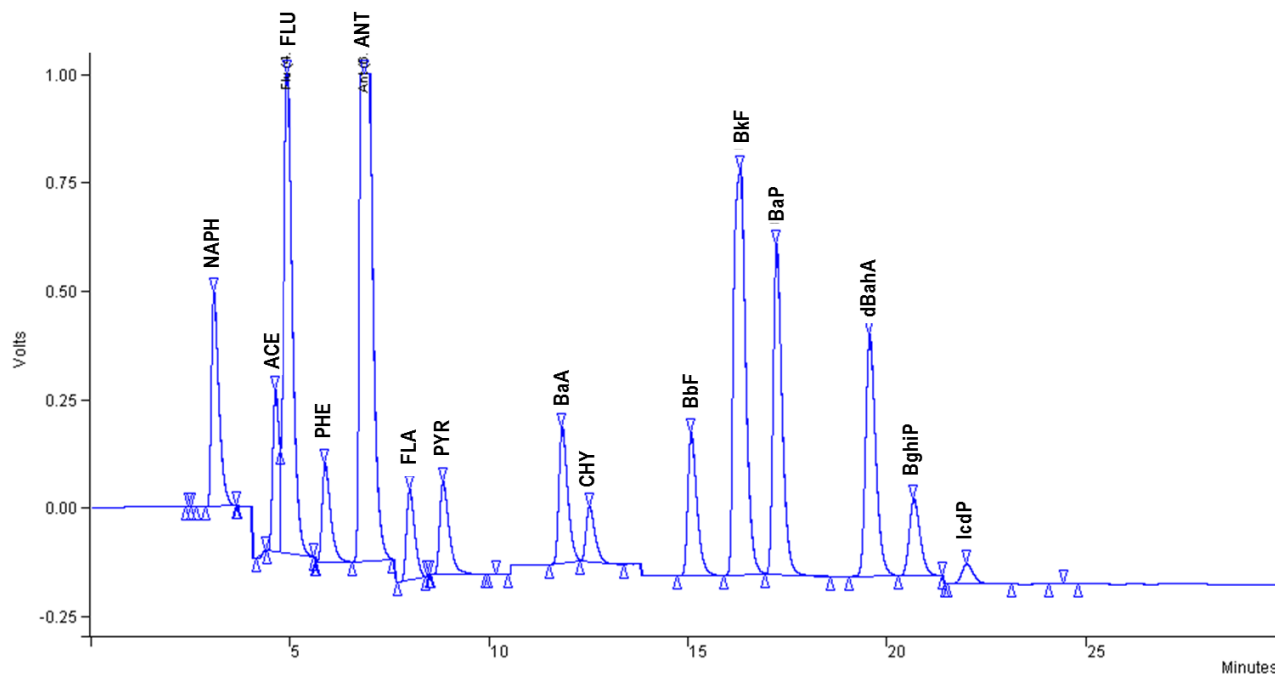


Figure 19 – Chromatogramme de 15 HAP ($0,54 \text{ mg L}^{-1}$) séparés sur la colonne Pursuit 3 PAH, détectés en fluorescence

3.5.2 Analyse et quantification des 16 HAP par GCMS

Les analyses ont été effectuées par chromatographie couplée à un spectromètre de masse (GCMS, GCMS-QP2010Ultra, Shimadzu) avec un injecteur split-splitless. La séparation chromatographique a été réalisée avec une colonne capillaire en silice fondue DB-5MS, de taille 30 m x 0,25 mm. Celle-ci a été faite selon le programme de température suivant : 70 °C pendant 2 min, puis 130 °C à 15 °C min⁻¹ et un dernier palier jusqu'à 315 °C à 4 °C min⁻¹ pendant 25 min. La température de l'injecteur était à 300 °C et la ligne de transfert à température équivalente du dernier palier de température du programme, soit 315 °C pour éviter la précipitation des HAP du fait de la différence de température. Le gaz vecteur utilisé était l'hélium avec un débit constant de 1,4 mL min⁻¹. Le gaz vecteur a ainsi séparé progressivement les molécules en fonction de leur taille et de leur polarité.

La quantification des HAP a été réalisée par étalonnage interne. Cette méthode de quantification consiste en l'ajout d'une molécule de référence, appelée étalon interne, en quantité précise et connue, dans les échantillons à analyser et les solutions étalons pour la calibration. L'étalon interne ne peut pas être une molécule naturellement présente dans les échantillons mais doit avoir une structure très proche de la molécule cible pour avoir des propriétés physiques et chimiques similaires et ainsi s'affranchir des effets de matrice. Les standards internes utilisés étaient un mélange de six HAP deutérés (Internal Standards Mix 26, CIL Cluzeau®) : naphthalène-D8, 1,4-dichlorobenzène-D4, acénaphthène-D10, phénanthrène-D10, chrysène-D12 et pérylène-D12. Le détecteur a dû être préalablement calibré, à l'aide d'une solution contenant un mélange des HAP d'intérêt (QTM PAH mix, Sigma Aldrich). Pour la quantification des extraits des HAP des terres, l'appareil a été calibré d'après une gamme « haute », allant de 0,3 à 1,5 $\mu\text{g HAP mL}^{-1}$. Les extraits issus de l'extraction par résine Tenax® ou par la membrane POM et de la biomasse végétale nécessitaient la calibration de l'appareil sur une gamme « basse », de 0,024 à 0,3 $\mu\text{g HAP mL}^{-1}$.

3.5.3 Localisation du PHE par microscopie en épifluorescence

Le PHE est visible sous UV-1A (filtre UV-1A ; λ_{ext} : 330-380 nm). Les observations ont été réalisées à l'aide d'une caméra couleur (NIKON D5-Qi1Mc). En effet, dans les conditions d'observation, le PHE émettait un rayonnement d'émission bleu qui permettait de le distinguer sur la coupe, ce qui n'était pas possible avec une prise de photographie noire et blanche (voir partie 3.3.8). L'évaluation quantitative de l'accumulation de PHE a été estimée par traitement d'image en calculant le taux de recouvrement de la surface occupée par les cristaux de PHE sur la surface de la section racinaire et exprimé par la formule suivante :

$$TR_{PHE} = \frac{Aire_cristaux}{Aire_coupe} \times 1000 \text{ (Équation 20),}$$

Où TR_{PHE} = Taux de recouvrement en PHE (%), $Aire_cristaux$ = Aire totale occupée par les cristaux de PHE (μm^2) et $Aire_coupe$ = Aire de la coupe histologique racinaire (μm^2).

3.5.4 Observations en microscopie confocale à balayage laser

Dans le but d'affiner la localisation du PHE, des coupes, sélectionnées pour leur netteté, ont également été observées à l'aide d'un microscope confocale à balayage laser. Les coupes histologiques n'ont subies aucune préparation chimique préalable. Elles ont été immergées dans une goutte d'eau déminéralisée durant l'acquisition d'image, placée sur une lame simple.

Les observations confocales sont réalisées à l'aide d'un microscope inversé Nikon TE 2000 U Eclipse, équipé d'une tête confocale Radiance 2100 AGR-3Q-Rainbow (Biorad). Cette tête de balayage est reliée par une série de fibres optiques aux quatre sources lasers fournissant sept raies d'excitation différentes, réparties entre le proche UV et le rouge : (1) une diode violette pour l'excitation à 405 nm, (2) un laser Argon quatre raies à 457, 476, 488 et 514 nm, (3) un laser He-Ne émettant à 543 nm et (4) une diode rouge à 637 nm. Les informations se trouvant hors du plan focal du microscope ont été éliminées et seules les informations provenant de la structure éclairée ont été enregistrées dans l'image finale de l'échantillon.

Les objectifs Plan Apo x4 (N.A. 0.3) et x20 (N.A. 0.75) ont été utilisés pour réaliser les acquisitions d'images. Les acquisitions d'images confocales de fluorescence ont été réalisées en mode séquentiel sur trois canaux à l'aide des lasers à 405 nm et 637 nm. Le premier canal (dit "bleu") collectait l'émission de fluorescence entre 420 et 450 nm générée principalement par l'excitation à 405 nm du PHE (fin du spectre d'excitation). Le second canal (dit "vert") collectait

l'autofluorescence des composés cellulaires (lignine, cellulose, subérine...) dans une bande de 460-500 nm après une excitation à une longueur d'onde de 405 nm. Enfin, le troisième canal servait à collecter l'image en transmission obtenue par l'éclairage de la préparation avec le laser rouge (RLD à 637 nm). Pour améliorer le rapport signal/bruit, les signaux de fluorescence ont été acquis par comptage de photons (*i.e.* les photons émis aléatoirement sont éliminés) (Földes-Papp *et al.* 2003). De plus, la commutation d'une lentille de type télescope au sein de la tête confocale a pu améliorer la collection des photons émis sans perte de résolution. Les observations ont été stockées sous forme d'images composite (type RGB), chaque couleur étant associée à un canal d'émission. Le logiciel accompagnant le microscope confocal était LaserSharp2000TM software Bio-Rad Cell Science Division. L'objectif x20 a permis d'obtenir une résolution de 4,015 pixels par micron, pour une taille du voxel (pixel tridimensionnel) de $0,25 \times 0,25 \times 3,00 \mu\text{m}^3$ (x,y,z).

3.5.5 *Analyses statistiques*

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Xlstat (version 2012 4.03). Les données présentées sous forme de graphique ou de tableau sont les moyennes et les erreurs standards. Un test de Shapiro-Wilk est utilisé pour vérifier la distribution d'un échantillon. Une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur est réalisée selon une distribution normale, suivi d'un test de comparaisons multiples de Tuckey's (HSD). Pour une distribution non-paramétrique, un test de Kruskal-Wallis est réalisé. Les moyennes partageant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$).

CHAPITRE 3 :

TRANSFERT DES HAP

DU SOL À LA PLANTE

SOMMAIRE CHAPITRE 3

1	Évaluation de la bioaccumulation des HAP dans le maïs.....	82
1.1	Caractérisation de la contamination organique et des HAP totaux dans les terres industrielles	83
1.2	HAP accumulés dans les racines	86
1.3	HAP transloqués aux parties aériennes.....	89
2	Estimation de la disponibilité des HAP dans les terres.....	93
2.1	Fraction extraite par résine Tenax®	93
2.2	Concentration en HAP dissous dans l'eau porale	96
3	Prédiction de la bioaccumulation des HAP dans le maïs.....	99
3.1	Corrélations avec les fractions de HAP quantifiées dans les terres	99
3.2	Modélisation du prélèvement racinaire des HAP	101
3.3	Modélisation de la translocation aux parties aériennes des HAP	114
4	Localisation d'un HAP dans les racines à l'échelle cellulaire	118
5	Conclusion	124

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

L'étude bibliographique a montré que les HAP pouvaient pénétrer le système racinaire des plantes en s'adsorbant à la surface de celui-ci (Schwab *et al.* 1998; Jiao *et al.* 2007; Ling *et al.* 2013), pénétrer les tissus (Wild *et al.* 2005a) et se transloquer aux parties aériennes (Kipopoulou *et al.* 1999; Fismes *et al.* 2002; Samsøe-Petersen *et al.* 2002; Gao *et al.* 2004). Que ce soit dans un objectif de phytoremédiation ou d'aménagement paysager d'un ancien site industriel, l'implantation d'un couvert végétal fait face à ce risque de transfert de polluants dans la plante. Comprendre les mécanismes de transfert et de translocation dans la plante pourrait aider à identifier plus précisément les réponses toxiques de la plante. De plus, ce transfert peut être à l'origine d'un risque de contamination de la chaîne alimentaire dans le cas de la consommation de la biomasse végétale implantée. Il est ainsi nécessaire d'intégrer ce transfert dans l'évaluation quantitative du risque sanitaire dans la gestion des risques de sites et sols pollués. De ce fait, les objectifs de ce chapitre sont i) tester des outils et modèles pour prédire la bioaccumulation des HAP par les plantes afin de valider les mécanismes de prélèvements supposés, ii) caractériser les propriétés de terres multicontaminées pouvant contrôler la bioaccumulation des HAP dans la plante et iii) déterminer où et comment un HAP pénètre le système racinaire de la plante.

Pour répondre à ces objectifs, différentes approches expérimentales complémentaires ont été menées, se distinguant par la complexité des systèmes étudiés et des échelles d'observations choisies. Une première expérimentation a mis en œuvre une culture de maïs en conditions contrôlées de laboratoire sur des terres industrielles historiquement contaminées de Suède, Belgique et France pour évaluer le transfert de HAP dans la plante (Expérience III). Sur ce dispositif, une approche de modélisation de bioaccumulation des HAP a été testée. Différentes méthodes d'extractions de HAP ont été appliquées sur ces terres pour évaluer la fraction phytodisponible de HAP. En admettant que le transfert des HAP vers la plante se fasse par

advection selon le flux d'eau du sol (Chapitre 1, §2.3.2), l'hypothèse que la concentration dans l'eau porale soit plus représentative de la fraction de polluant potentiellement absorbable par les végétaux est émise. Ainsi, une estimation de la concentration en HAP dans l'eau porale à l'équilibre a été réalisée à l'aide de membranes POM. Toutefois, les racines étant à la fois en contact avec la solution et les particules de terre, il était pertinent d'intégrer une extraction en phase solide des HAP, à l'aide d'une résine adsorbante comme le Tenax®. Les résultats obtenus par ces deux approches ont été utilisés pour vérifier les prédictions de prélèvement obtenues par les modèles classiquement utilisés dans l'évaluation du risque de transfert des polluants et présentés dans la partie bibliographique (Chapitre 1, §2.3.4). Une seconde expérimentation a consisté en l'observation, à l'aide d'outils de microscopie, d'un HAP modèle, le PHE, sur des coupes racinaires de maïs cultivé sur du sable artificiellement contaminé et le suivi de son évolution dans le temps et l'espace (Expérience I).

Dans ce chapitre, seront abordés successivement les résultats relatifs à la caractérisation de la contamination en HAP dans les terres industrielles étudiées, à la quantification des HAP dans les parties racinaires et aériennes de maïs cultivés sur des terres historiquement contaminées, l'évaluation quantitative des différentes fractions de HAP présentes dans ces terres pour prédire la bioaccumulation des HAP dans les plantes et le traçage du PHE dans une racine de maïs à l'aide d'outils de microscopie.

1 Évaluation de la bioaccumulation des HAP dans le maïs

Les analyses réalisées sur les maïs témoins cultivés sur sable non contaminé ont indiqué une pollution analytique importante en PHE, probablement apportée lors de la préparation des échantillons avant extraction. De même, l'analyse de blancs, pour la quantification des HAP

dissous dans l'eau porale, a indiqué une pollution en NAPH d'origine atmosphérique. Enfin, l'ACY n'a pu être quantifié en HPLC lors des quantifications des extraits des systèmes aériens. De ce fait, ces trois molécules n'ont pas été intégrées dans les concentrations totales présentées dans ce chapitre. Les teneurs totales tiennent compte de treize molécules.

1.1 Caractérisation de la contamination organique et des HAP totaux dans les terres industrielles

Les teneurs en MOE, indicatrices de la pollution organique globale, varient de 0 à 30 mg g⁻¹ (Tableau 7). Ce sont les terres FR01 et FR02 qui présentent les valeurs les plus élevées, avec 29,9 et 22,1 mg g⁻¹ respectivement. Des valeurs beaucoup plus faibles sont observées pour les terres issues du même site FR03 et FR06, avec 1,2 et 8,7 mg g⁻¹. La terre FR04 montre une MOE moyenne de 12,8 mg g⁻¹; suivi par la terre BE01 avec 5,5 mg g⁻¹ de MOE. Les terres françaises FR05 et FR07, ainsi que les terres suédoises se distinguent par de très faibles valeurs, inférieures à 5 mg g⁻¹ et jusqu'à nulle. Les analyses des 13 HAP suivent les mêmes tendances. Les teneurs les plus élevées sont obtenues dans les terres FR01 (1705 mg kg⁻¹) et FR02 (982 mg kg⁻¹), suivis de FR04 (851 mg kg⁻¹) et FR06 (560 mg kg⁻¹). Les autres terres, FR03, FR05, BE01 et de Suède présentent de plus faibles concentrations en HAP, inférieures à 200 mg kg⁻¹. Les teneurs les plus importantes observées ici sont comparables à des études similaires portant sur la phytoremédiation (Parrish *et al.* 2005; Rezek *et al.* 2008). Les teneurs les plus faibles sont toutefois plus élevées par rapport à des terres agricoles. La distribution individuelle des molécules est présentée en Annexes (Tableau 12). Il apparaît que les teneurs de HAP totaux sont positivement et étroitement corrélées avec celles en MOE (R²=0,96).

Tableau 7 – Quantités de MOE (n = 3) et concentrations des HAP quantifiées depuis les extraits de terres par solvant (HAP totaux, n = 1).

Terre	MOE (mg g⁻¹)	∑13 HAP totaux (mg kg⁻¹)
FR01	29,9 ± 1,7	1705
FR02	22,1 ± 1,9	982
FR03	1,2 ± 0	55
FR04	12,8 ± 0,3	851
FR05	4,1 ± 0,4	187
FR06	8,7 ± 0,3	560
FR07	2,0 ± 0,5	85
BE01	5,5 ± 0,9	131
SW01	4,3 ± 0,4	117
SW02	1,8 ± 0,2	49
SW03	0,9 ± 0,1	13
SW04	0,0 ± 0,1	6
SW05	3,8 ± 0	126

La distribution moléculaire des 13 HAP est étudiée selon un regroupement en quatre familles : deux, trois, quatre et cinq cycles. La Figure 20 présente leur abondance relative dans les terres contaminées.

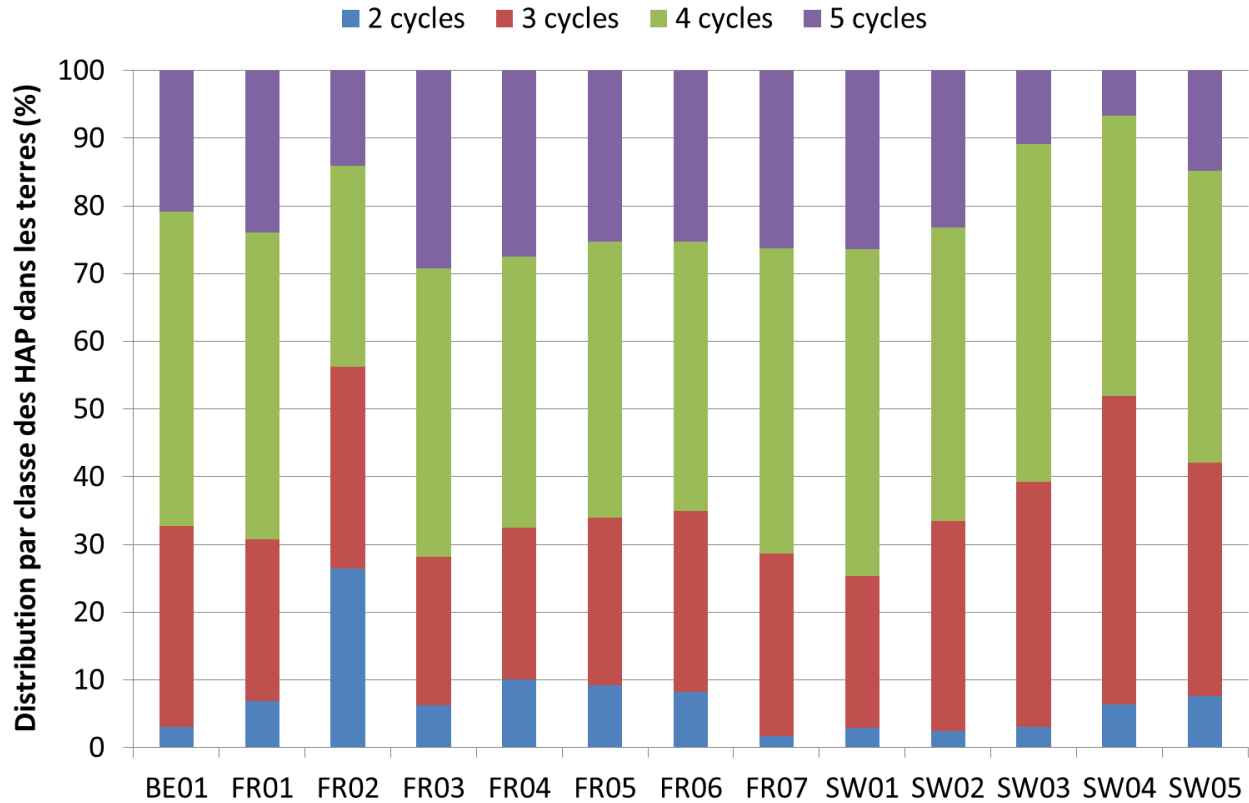


Figure 20 – Distribution en fonction du nombre de cycles des HAP totaux (%)

La distribution des HAP montre une majorité de HAP à quatre cycles, avec une moyenne d'abondance relative de 50 %, variant entre 37 et 62 % selon la terre. Les HAP à trois cycles représentent 17 à 35 % de la quantité de HAP, avec une moyenne d'abondance près de 23 %. De même, les HAP les plus lourds, à cinq cycles, équivalent à 24 % des HAP, les valeurs dans les terres étant comprises entre 9 et 34 %. Des terres d'anciennes usines à gaz (BE01, SW02 à SW05) montrent des proportions en HAP à trois cycles plus importantes que les HAP à cinq cycles. Les HAP les plus légers (deux cycles) sont les moins présents, avec une abondance de 3 %, les proportions variant entre 0 et 24 % selon les terres. Cette faible abondance de composés de faibles poids moléculaires peut être associée à des phénomènes de dégradation et/ou de

lixiviation dans le temps. Quel que soit le passé industriel des terres analysées, la distribution moléculaire de ces 13 HAP est globalement similaire pour chaque terre.

1.2 HAP accumulés dans les racines

La Figure 21 présente les concentrations totales de HAP quantifiées dans les systèmes racinaires des maïs cultivés sur les terres industrielles étudiées. L'humidité pondérale, la distribution individuelle des molécules et la somme des HAP sur biomasse sèche dans les racines sont données en Annexes (Tableau 13). Les racines de maïs développés sur les terres FR01, FR02 et FR03 montrent des concentrations décroissantes, avec des valeurs respectives de 43, 6,5 mg kg⁻¹ et proche de zéro. Sur la terre BE01, l'accumulation dans les racines est élevée, avec une teneur en HAP de 29,5 mg kg⁻¹. Des concentrations similaires entre elles sont observées dans les systèmes racinaires développés sur les terres FR04, FR07 et FR05, avec des valeurs respectives de 7,9, 4,4 et 3,5 mg kg⁻¹. Les maïs de la terre FR06 présentent une faible teneur en HAP absorbés de 1,3 mg kg⁻¹. De même, les maïs cultivés sur les terres suédoises montrent des teneurs faibles mais variables, comprises entre 1,0 et 6,7 mg kg⁻¹. Ces concentrations dans les racines sont en moyenne inférieures d'un facteur 10 à celles observées dans des racines de plantes cultivées en hydroponie mais correspondent à des teneurs mesurées dans des tissus racinaires après culture sur terres contaminées (Gao *et al.* 2004). La proportion de HAP quantifiés dans les racines correspond en moyenne à 17 % des concentrations en HAP totaux. Toutefois, les concentrations sont variables avec des erreur-standards parfois importantes.

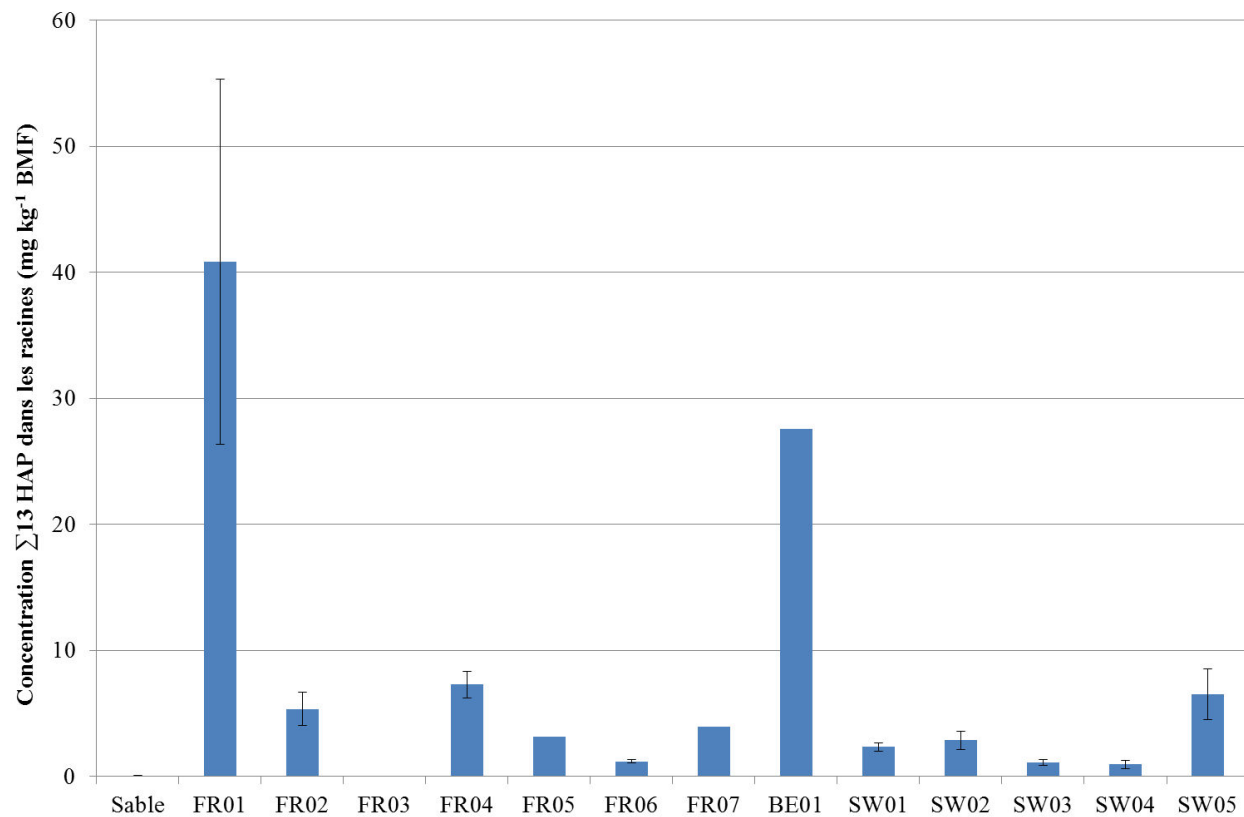


Figure 21 – Teneurs totales en HAP (mg kg⁻¹ BMF) quantifiées dans les racines de maïs cultivés sur les terres industrielles

L'abondance relative des molécules dans les systèmes racinaires des maïs cultivés sur terres contaminées est représentée dans la Figure 22 selon un regroupement en quatre familles.

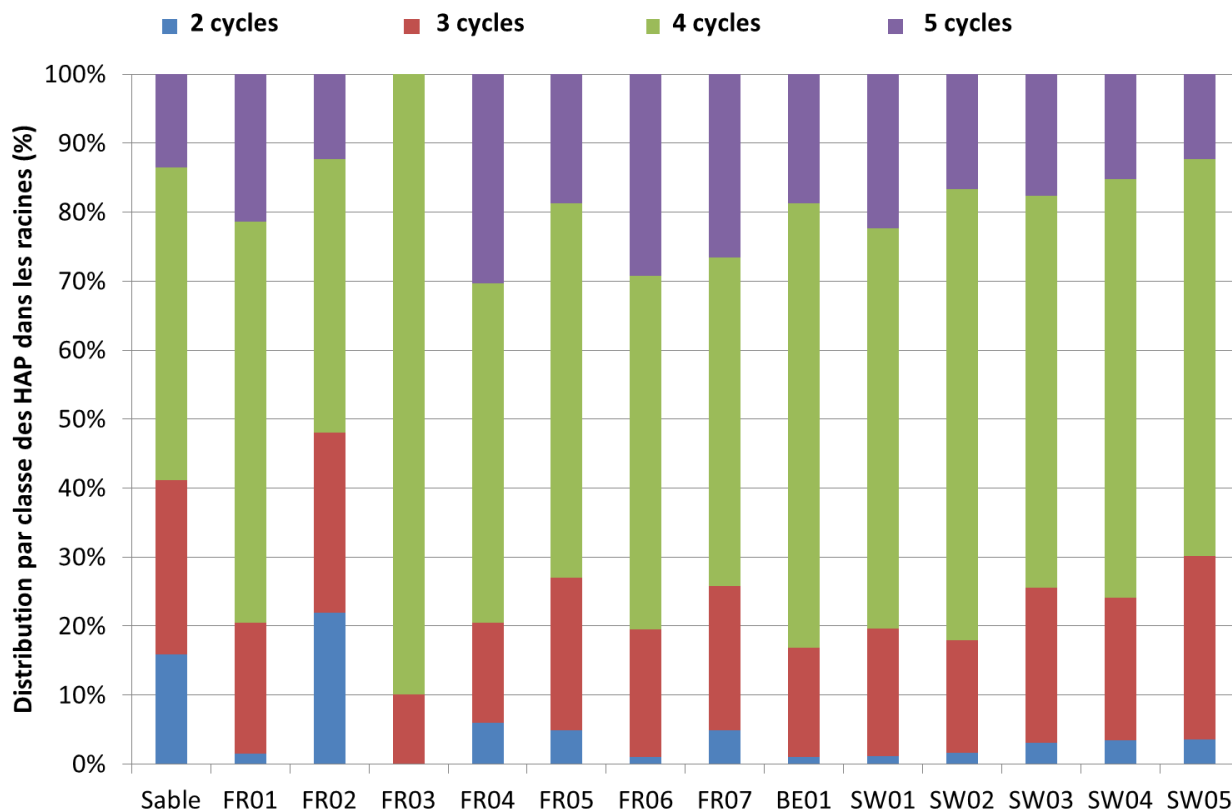


Figure 22 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP absorbés dans le système racinaire des maïs cultivés sur terres industrielles

La distribution montre une majorité de HAP à quatre cycles, avec une moyenne d'abondance relative de 57 %, variant entre 40 et 93 % selon la terre de culture. Les HAP à trois cycles représentent 7 à 26 % de la quantité de HAP absorbés, avec une moyenne d'abondance près de 20 %. De même, les HAP les plus lourds, à cinq cycles, équivalent à 18 % des HAP, les valeurs étant comprises entre 0 et 30 %. Les HAP les plus légers, à deux cycles, présentent une abondance de 5 %, les proportions variant entre 0 et 22 % selon la terre de culture. La distribution des familles de HAP dans les racines ressemble à celle des terres. Les molécules à quatre cycles sont les plus abondantes, suivies de celles à trois, cinq et deux cycles. Dans le cas d'une advection des HAP dans les racines selon le flux d'eau du sol, l'intensité de prélèvement racinaire d'un HAP devrait être inversement proportionnelle à son poids moléculaire

(Kipopoulou *et al.* 1999). La distribution relative des HAP selon le nombre de cycle dans les racines infirme cette hypothèse. Il est envisageable que des particules de terre résiduelles et porteuses de HAP aient perturbé la quantification dans la racine. Toutefois, les racines ont été soigneusement rincées après leurs récoltes. De plus, les abondances relatives moyennes des HAP à deux et quatre cycles sont plus élevées dans les racines que dans les terres, ayant augmenté en moyenne de 2 et 7 % respectivement. Cela confirme une accumulation des HAP dans la racine. Le transport passif est depuis longtemps accepté pour les molécules organiques telles que les HAP (Ryan *et al.* 1988; Collins *et al.* 2005) mais un transport actif complémentaire est soupçonné depuis peu (Zhan *et al.* 2010). Les auteurs avaient également mis en évidence une compétition de prélèvement dans le blé entre un HAP à deux cycles (le NAPH) et un à trois cycles (le PHE), caractérisée par une inhibition réciproque du prélèvement racinaire de ces deux HAP. Ce contrôle négatif du prélèvement entre molécules à deux et trois cycles n'est pas évident ici puisque l'abondance relative des HAP à deux cycles dans les racines est deux fois plus importante que dans la terre. Toutefois, les différences des abondances relatives dans les terres et les racines peuvent laisser envisager une compétition entre les HAP à deux et trois cycles (+ 2 % et - 3 % respectivement) et les HAP à quatre et cinq (+ 7 % et - 6 % respectivement). Cette observation renforce l'hypothèse de mécanismes de prélèvement de HAP distincts, selon le nombre de cycle dans ce cas.

1.3 HAP transloqués aux parties aériennes

La Figure 23 présente les concentrations totales de HAP quantifiées dans les systèmes aériens des maïs cultivés sur les terres industrielles. L'humidité pondérale, la distribution individuelle des molécules et la somme des HAP sur biomasse sèche dans les parties aériennes sont présentées en Annexes (Tableau 14). Les maïs cultivés sur les terres FR01, FR02 et FR03 montrent des

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

concentrations variables, avec des valeurs respectives de 0,08, 0,51 et 0,02 mg kg⁻¹. Sur la terre FR05, l'accumulation dans le système aérien est la plus élevée, avec une teneur totale en HAP de 1,27 mg kg⁻¹. Des concentrations similaires sont observées dans les systèmes aériens des maïs cultivés sur les autres terres, variant entre 0,01 et 0,06 mg kg⁻¹. La proportion de HAP quantifiés dans les parties aériennes correspond en moyenne à moins de 1 % des concentrations en HAP dans les racines et témoigne d'une translocation très faible entre ces deux compartiments de la plante.

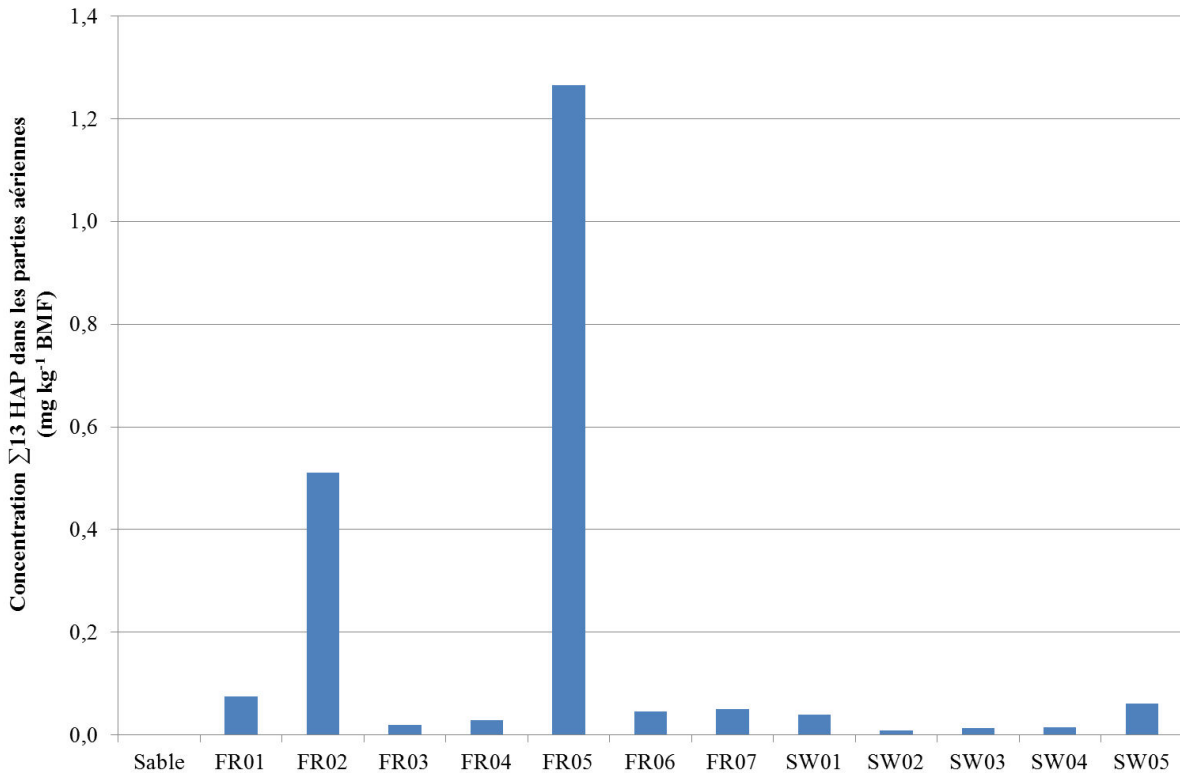


Figure 23 - Teneurs totales en HAP (mg kg⁻¹ BMF) quantifiées dans les parties aériennes de maïs cultivés sur les terres industrielles

L'abondance relative des molécules quantifiées dans les systèmes aériens est représentée dans la Figure 24 selon un regroupement en quatre familles.

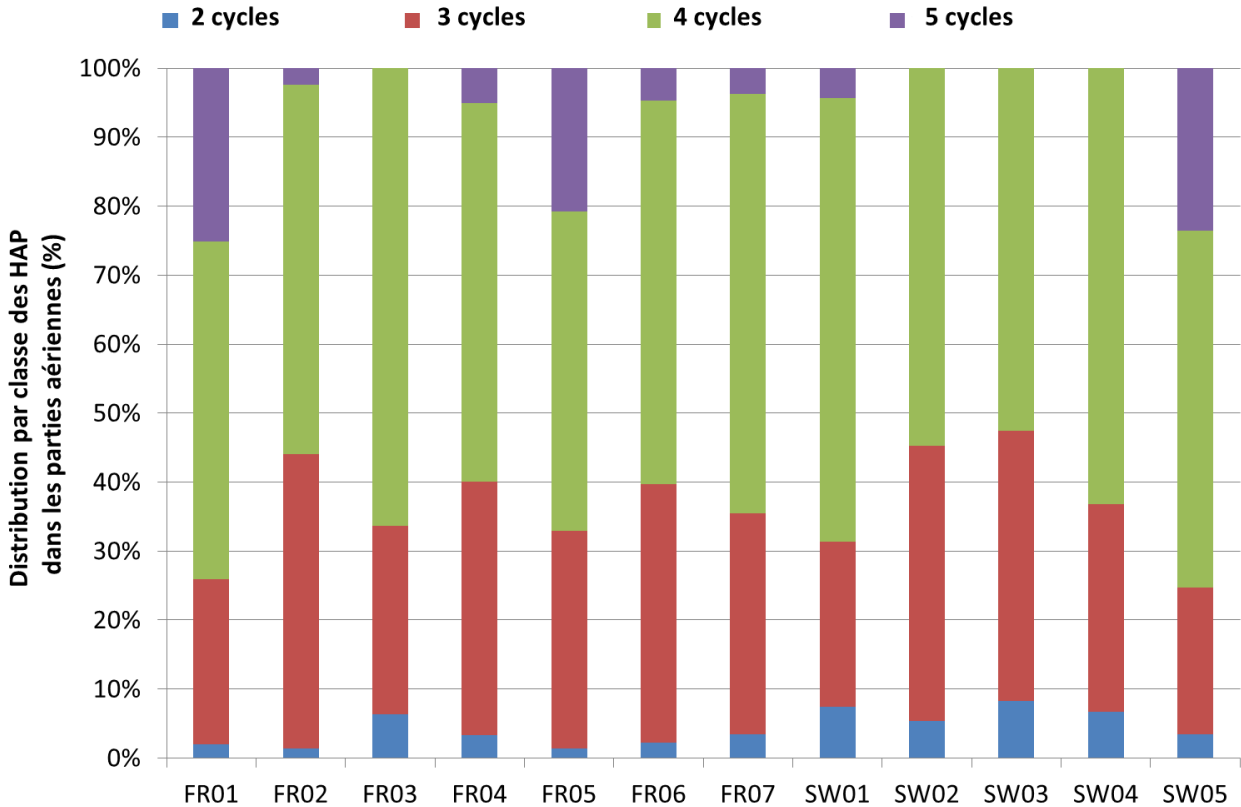


Figure 24 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP quantifiés dans les systèmes aériens de maïs cultivés sur terres industrielles

La distribution montre une majorité de HAP à quatre cycles, avec une moyenne d'abondance relative de 56 %, variant entre 46 et 64 % selon la terre de culture. Les HAP à trois cycles représentent 21 à 43 % de la quantité de HAP absorbés, avec une moyenne d'abondance de 32 %. De même, les HAP les plus lourds, à cinq cycles, et les plus légers, à deux cycles, équivalent à 7 et 4 % des HAP, les valeurs étant respectivement comprises entre 0 et 25 % et 1 et 8 %.

L'existence de deux voies de transfert des HAP dans les feuilles des plantes supérieures a déjà été mise en évidence : la translocation depuis les racines par le xylème selon le flux de transpiration et/ou la volatilisation des polluants depuis le sol et l'assimilation par les feuilles (Henner 2000; Gao *et al.* 2009). Ces deux voies dépendraient donc de la volatilité et de la solubilité du HAP,

directement liées au poids moléculaire. Dans l'hypothèse où la voie de transfert par l'atmosphère était majoritaire, les molécules les plus légères devraient être plus abondantes que les molécules plus lourdes et dans les racines. Pourtant les HAP à deux cycles présentent une abondance relative moyenne de 4 %, soit 1 % de moins que dans les racines et 14 fois inférieure à l'abondance des HAP à quatre cycles. La translocation racinaire est donc le mécanisme le plus plausible dans ce cas. Dans cette hypothèse, les HAP les plus lourds devraient être « freinés » lors de ce transfert vers les feuilles. C'est le cas des HAP à cinq cycles, qui voient leur abondance relative fortement diminuer dans les parties aériennes (+ 11 et + 17 % dans les racines et les terres respectivement) mais sont toutefois bien présents (Fismes *et al.* 2002; Meudec *et al.* 2006). Ces observations infirment l'hypothèse que les HAP à haut poids moléculaire auraient un potentiel d'adsorption trop élevé et ne pourraient pas traverser les tissus racinaires pour s'accumuler dans les parties aériennes (Kipopoulou *et al.* 1999). Les molécules à trois et quatre cycles représentent respectivement 32 et 56 % des HAP quantifiés dans les parties aériennes des maïs, des valeurs proches de celles observées dans les racines pour les HAP à quatre cycles et supérieures pour les trois cycles. Les HAP à poids moléculaires moyens ont donc la plus forte capacité de pénétration dans la racine et de translocation dans la plante (Kipopoulou *et al.* 1999; Bakker *et al.* 2000; Fismes *et al.* 2002; Tao *et al.* 2004; Gao *et al.* 2004; Xu *et al.* 2005; Gao *et al.* 2009). Toutefois, les concentrations en HAP dans les parties aériennes sont en moyenne 200 fois inférieures à celles observées dans les racines. Concernant le maïs, le transfert de ces 13 HAP reste donc négligeable malgré de fortes contaminations pour certaines terres.

2 Estimation de la disponibilité des HAP dans les terres

2.1 Fraction extraite par résine Tenax®

La Figure 25 présente les concentrations totales de HAP quantifiées après des extractions par résine Tenax® sur les terres industrielles étudiées. Les terres FR01, FR02 et FR03 montrent un gradient de concentrations décroissant, avec des valeurs respectives de 18,7, 9,3 et 1,7 mg kg⁻¹. Par rapport à la fraction de HAP des terres, la fraction extraite représente ainsi 1,1, 0,9 et 3 %. La terre FR06 présente une teneur faible en HAP, celle-ci étant de 5,7 mg kg⁻¹ soit 1 % de la totalité des HAP. Une concentration proche, soit 3,4 mg kg⁻¹, est observée dans la terre FR05. Cela équivaut à 1,8 % de la fraction de HAP. Les terres françaises FR04 et FR07 montrent des teneurs plus élevées, 15 et 8,5 mg kg⁻¹ respectivement, ou 1,8 et 10 % des HAP des terres. La terre BE01 se démarque également par une forte concentration en HAP extractibles par résine Tenax, supérieure à 15,8 mg kg⁻¹, soit 12,1 % des HAP. Au contraire, les terres suédoises SW01 à SW05 ont des teneurs faibles, comprises entre 1,5 et 3,6 mg kg⁻¹. La terre SW04 présente la fraction extractible la plus importante en comparaison à sa teneur de HAP, équivalant à 28,4 %. Au contraire, la terre SW05 montre une disponibilité très faible, représentant 1,2 % de la fraction des HAP.

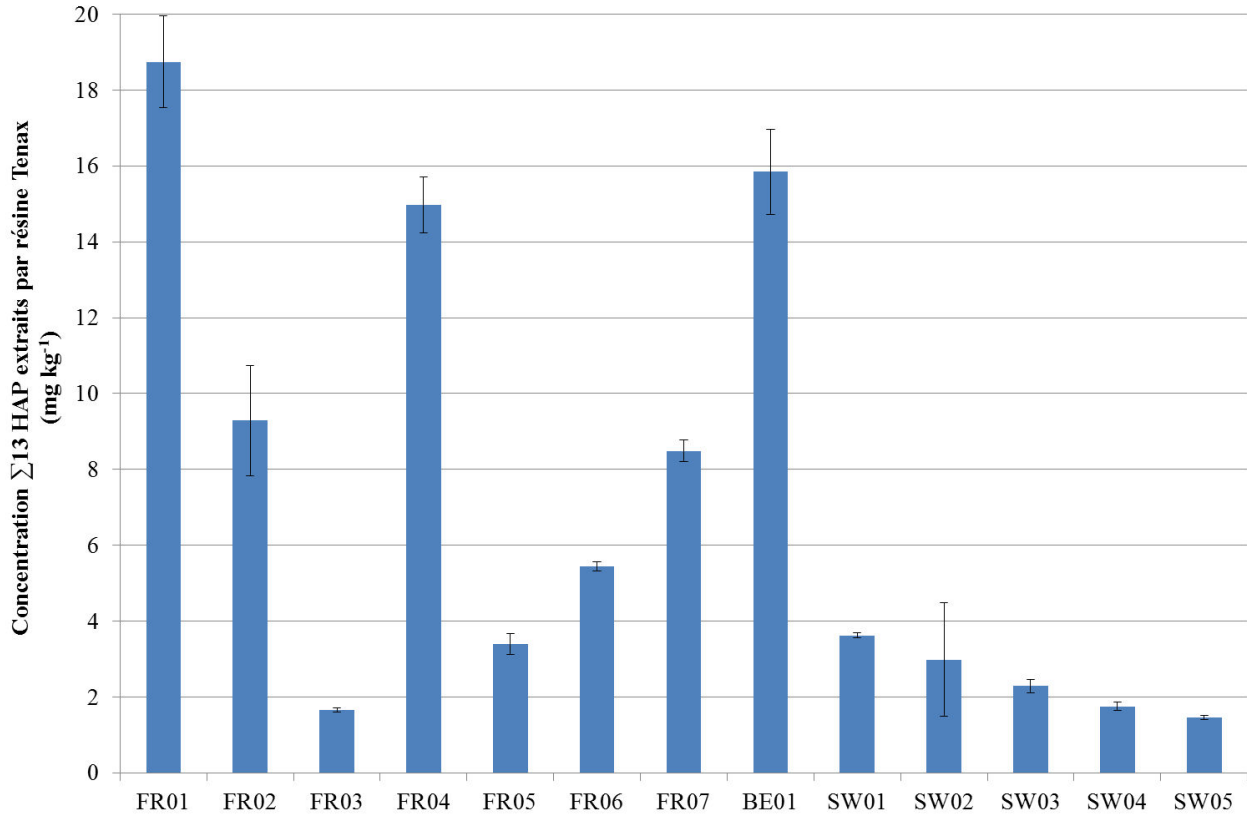


Figure 25 - Teneurs totales en HAP (mg kg⁻¹) quantifiées d'après les extractions par résine Tenax® sur les terres industrielles

Malgré une très grande variabilité des disponibilités dans ces 13 terres, comprises entre 1 et 30 %, ces niveaux de HAP extraits par résine Tenax® sont faibles en comparaison aux niveaux mesurés sur des sédiments anciennement contaminés, variant entre 20 % (van Noort *et al.* 2003; Reeves *et al.* 2004; Schwab et Brack 2007) et 60 % (Cornelissen *et al.* 1998), en raison de teneurs en MO plus élevées dans les terres. De même, les fractions de HAP extraits par cette résine sur des terres fraîchement contaminées sont plus élevées, entre 60 et 90 % de la totalité des HAP (Cornelissen *et al.* 1997; You *et al.* 2006). En effet, plus le temps de contact entre les contaminants et les particules du sol augmente, plus la disponibilité diminue (Alexander 2000; Oleszczuk 2009).

L'abondance relative des molécules dans les extraits Tenax® des terres industrielles est représentée dans la Figure 26 selon un regroupement en quatre familles : deux, trois, quatre et cinq cycles.

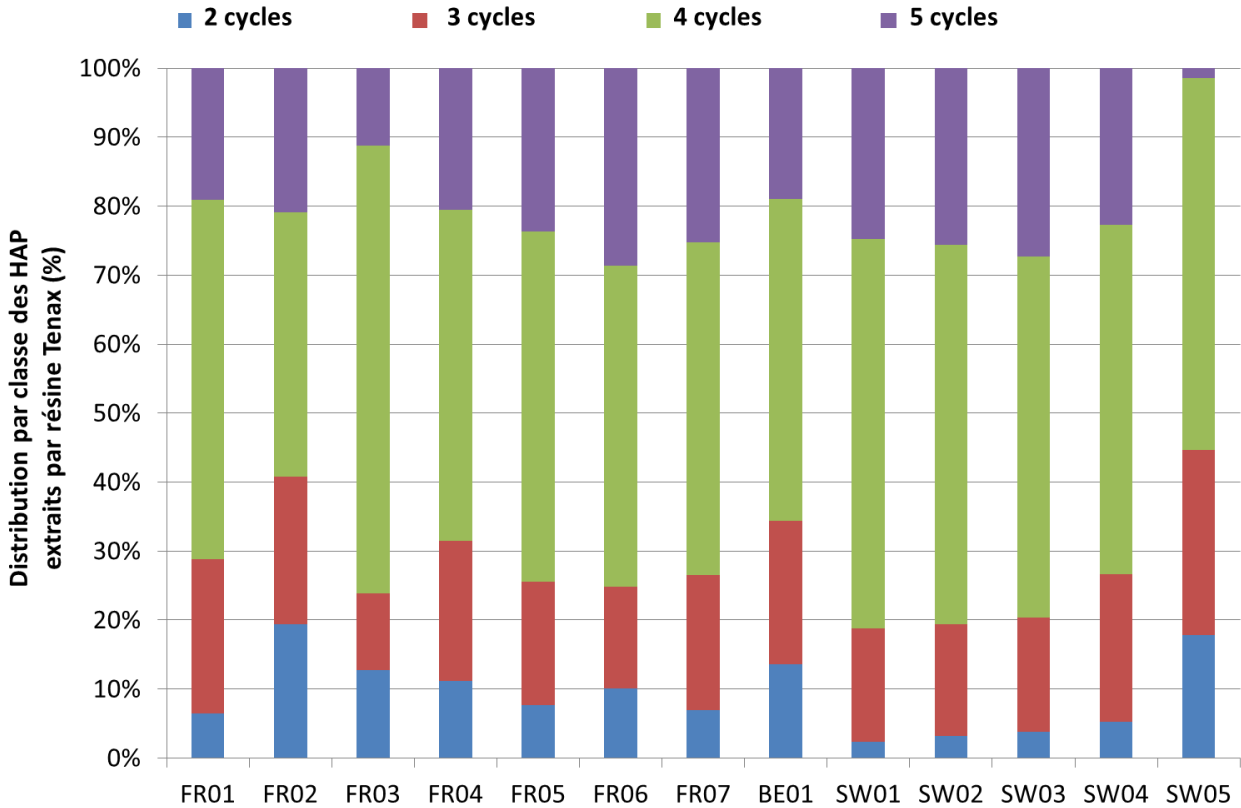


Figure 26 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP extraits par résine Tenax® dans les terres industrielles

Le profil de distribution des HAP extraits par Tenax® présente un ordre d'abondance similaire à celui observé pour les HAP toaux. La distribution montre une majorité de HAP à quatre cycles, avec une moyenne d'abondance relative de 51 %, variant entre 38 et 65 % selon la terre. Les HAP à trois cycles représentent 11 à 27 % de la quantité de HAP totaux, avec une moyenne d'abondance près de 19 %. Les HAP à quatre cycles présentent des abondances relatives similaires, avec une moyenne de 21 %, variant entre 1 et 29 %. La contribution des HAP à deux

cycles est toutefois trois fois plus importante dans les extraits par résine que dans les terres, avec en moyenne 9 % d'occurrence, les proportions variant entre 2 et 19 % selon les terres.

Les teneurs de HAP extraits par résine Tenax® sont d'autant plus élevées que les teneurs en HAP totaux sont élevées, à l'exception de la terre BE01. En ne considérant pas cette dernière, une forte corrélation existe entre ces mesures ($R^2 = 0,81$). Aucune autre corrélation n'est observée entre la disponibilité des HAP et les paramètres physico-chimiques mesurés des terres (Chapitre 2, § 1.2.2).

2.2 Concentration en HAP dissous dans l'eau porale

La terre belge BE01 se démarque avec la concentration en HAP dissous la plus élevée, égale à $29,5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$ (Figure 27). Ces valeurs sont jusqu'à 58 fois supérieures à celles observées dans les autres terres. La terre FR04 présente également une concentration en HAP dans l'eau porale élevée, équivalente à $10,1 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. Les terres FR01, FR02 et FR03 montrent des concentrations variables, avec des valeurs respectives de $0,95 \cdot 10^{-3}$, $3,76 \cdot 10^{-3}$ et $0,05 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. La terre FR06, présente une teneur en HAP dissous sensiblement plus élevée, celle-ci étant de $1,09 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. Une concentration similaire est observée dans la terre FR07, soit $1,57 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. Quant à la terre FR05, elle présente une concentration faible, avec $0,02 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. Les terres suédoises ont les teneurs les plus faibles, comprises entre $0,01 \cdot 10^{-3}$ et $1,00 \cdot 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$. Il ne semble pas il y avoir de corrélation entre les teneurs en HAP dissous et en HAP totaux ou les quantités de HAP extraits par résine Tenax®.

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

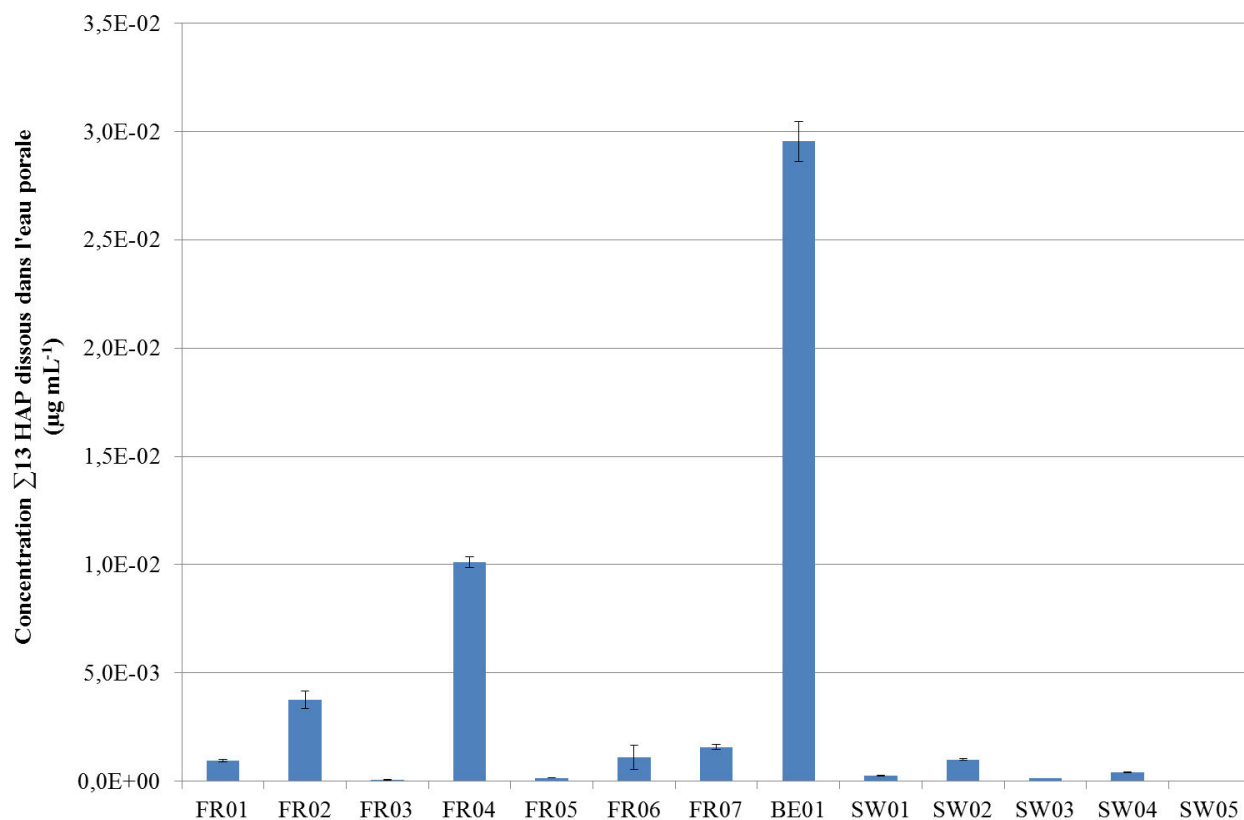


Figure 27 - Teneurs totales en HAP dissous ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dans les terres industrielles

L'abondance relative des molécules dissoutes dans l'eau porale de terres contaminées est représentée dans la Figure 28 selon un regroupement en quatre familles.

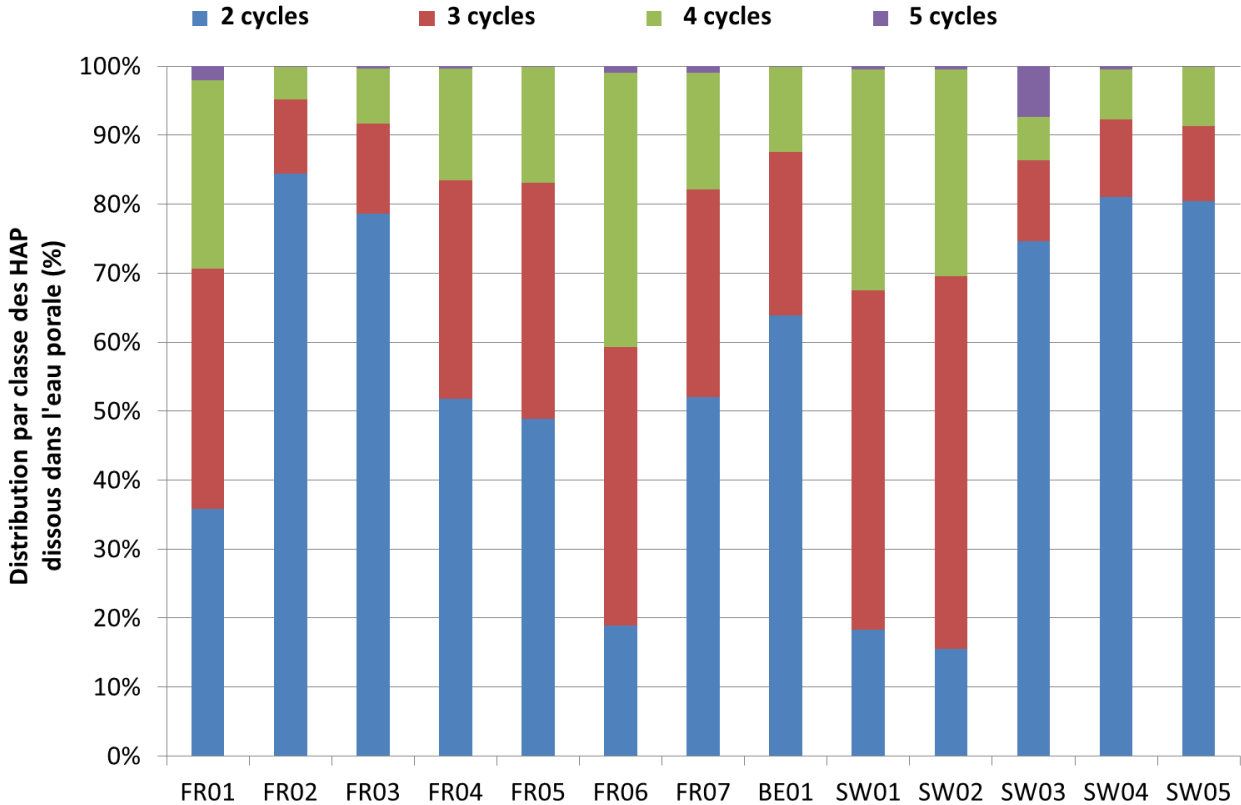


Figure 28 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des 13 HAP dissous dans l'eau poreuse des terres industrielles

La distribution montre une majorité de HAP à deux cycles avec une moyenne d'abondance relative de 54 %, variant entre 15 et 84 % selon la terre. Les HAP à trois cycles représentent 11 à 54 % de la quantité de HAP, avec une moyenne d'abondance près de 27 %. Les HAP à quatre cycles sont faiblement abondants, avec une moyenne de 17 %, les valeurs variant entre 5 et 40 %. Quant aux HAP les plus lourds, ceux à cinq cycles, ils sont quasiment inexistants, avec une abondance moyenne de 1 %, dont les valeurs sont comprises entre 0 et 7 %. Ainsi, les HAP à deux et trois cycles représentent la fraction de HAP la plus importante du fait de leur solubilité dans l'eau plus élevée, contrairement aux profils de distribution des HAP extraits par résine Tenax® et dans les terres, où les HAP à trois et quatre cycles sont les plus abondants. Les auteurs Gomez-Eyles *et al.* (2012) et Brennan *et al.* (2014) n'ont pas quantifié les HAP à deux cycles et

observent donc majoritairement des HAP à trois et quatre cycles dissous dans l'eau porale de terres urbaines, d'usines à gaz et de sédiments historiquement contaminés. De ce fait, les valeurs en HAP dissous mesurées dans les 13 terres étudiées sont 2 à 180 fois supérieures aux concentrations présentées dans les travaux de Gomez-Eyles *et al.* (2012) à des niveaux de concentrations en HAP totaux équivalents.

3 Prédiction de la bioaccumulation des HAP dans le maïs

3.1 Corrélations avec les fractions de HAP quantifiées dans les terres

Le Tableau 8 présente les coefficients de corrélation linéaires (R^2) entre les concentrations de HAP extraits par résine Tenax® et dissous dans l'eau porale avec les teneurs de HAP quantifiés dans les racines en fonction du nombre de cycles et la somme des 13 HAP.

Tableau 8 – Coefficients de détermination (R^2) des corrélations linéaires entre les concentrations de HAP totaux, extraits par résine Tenax® et dissous dans l'eau porale avec les teneurs en HAP dans les racines et les feuilles de la plante (sur biomasse sèche) en fonction du nombre de cycles et la somme des 13 HAP

	HAP totaux		HAP extraits par Tenax		HAP dissous dans l'eau porale	
	Racines	Aérien	Racines	Aérien	Racines	Aérien
Deux cycles	0,82	0,06	0,53	0,001	0,10	0,006
Trois cycles	0,78	0,02	0,69	0,0001	0,10	0,024
Quatre cycles	0,81	0,004	0,70	0,006	0,26	0,004
Cinq cycles	0,82	0,0005	0,62	0,0091	0,31	0,059
$\Sigma 13$ HAP	0,78	0,008	0,68	0,0006	0,22	0,004

La concentration des HAP dans les racines sur biomasse sèche est bien corrélée aux concentrations en HAP totaux, tout cycle confondu (R^2 entre 0,78 et 0,82) et pour la somme des 13 HAP ($R^2 = 0,78$). Les très faibles R^2 indiquent qu'il n'y a aucune relation linéaire entre les teneurs dans les parties aériennes avec celles des racines et les HAP totaux. Le transfert dans les parties aériennes ne semble donc pas dépendre des concentrations dans la terre et les racines.

La concentration dans l'eau porale obtenue par la méthode POM n'apparaît pas expliquer la teneur en HAP accumulés dans les racines et les parties aériennes. En revanche, les quantités de HAP extraits par résine Tenax® sont positivement corrélées aux HAP dosés dans les racines, tout cycle confondu (R^2 entre 0,53 et 0,70) et pour la somme des 13 HAP ($R^2 = 0,68$). Là encore il n'y a aucune corrélation avec les HAP quantifiés dans les parties aériennes. Le Tenax® peut servir

comme outil de prédiction pour les réponses toxiques d'organismes tels que les vers ou les plantes (Cofield *et al.* 2008). Une bonne corrélation avec la germination de la laitue cultivée sur la terre d'une ancienne usine à gaz ($R^2 = 0,80$) a ainsi été mise en évidence avec la concentration de 5 HAP (BaP, BkF, BaA, dBahA et IcdP) extraits par résine Tenax®. Toutefois, les méthodes POM et Tenax ne permettent pas d'expliquer les HAP quantifiés dans les terres et ceux bioaccumulés.

3.2 Modélisation du prélèvement racinaire des HAP

L'application du modèle de Briggs (équation 6, page 35) a permis la comparaison des valeurs mesurées dans les racines à celles prédites (équation 3, page 34) en utilisant soit les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale mesurées par la méthode POM (Figure 29) ou les concentrations estimées grâce à l'équation 4 (page 35) et les données de concentrations en HAP extractibles par résine Tenax® (Figure 30) ou en HAP totaux (Figure 31). Dans les figures 29, 30 et 31, la droite continue représente une relation de type 1:1 et les droites en pointillées délimitent des intervalles d'une unité log par rapport à la relation 1:1.

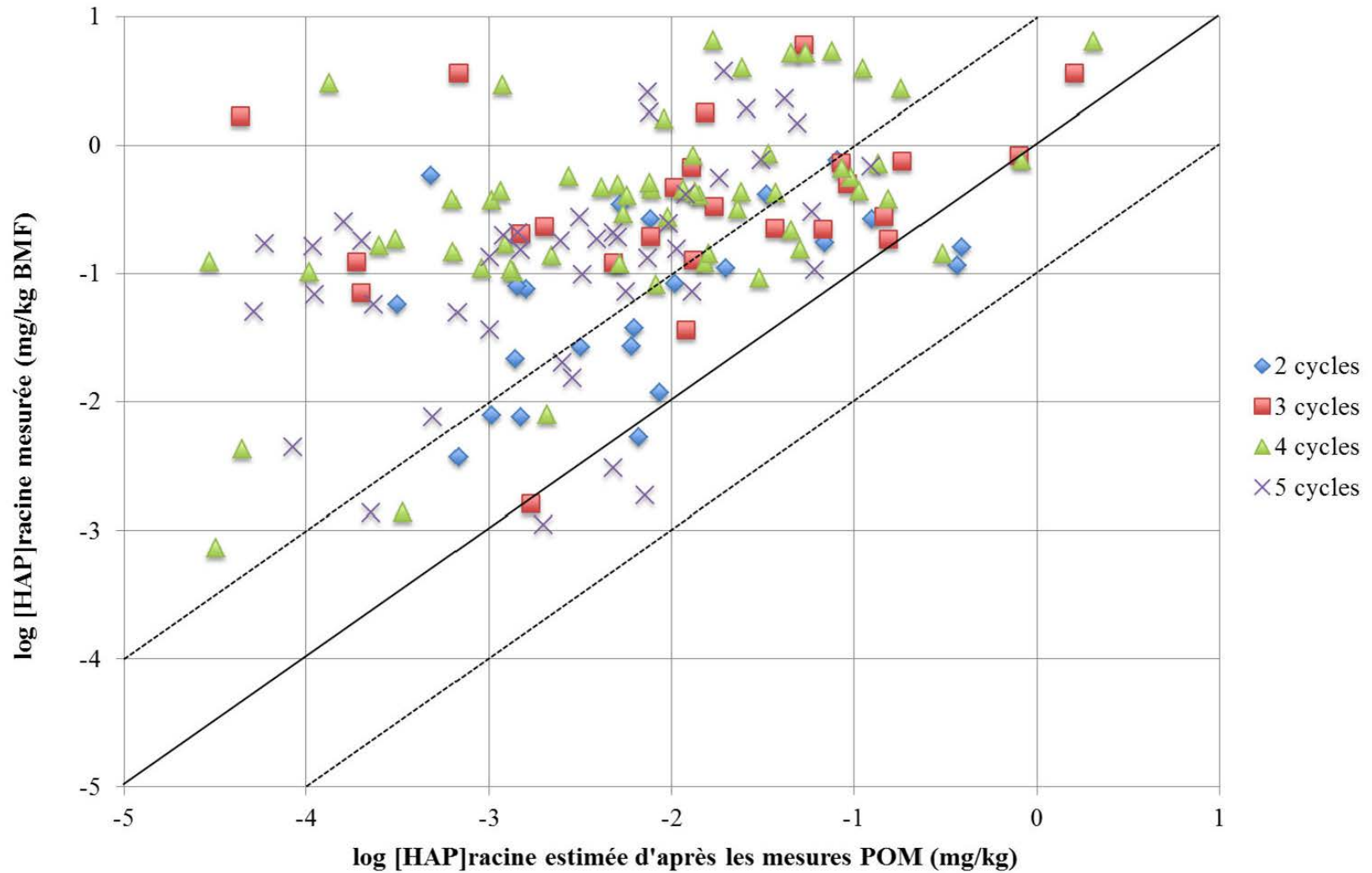


Figure 29 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale

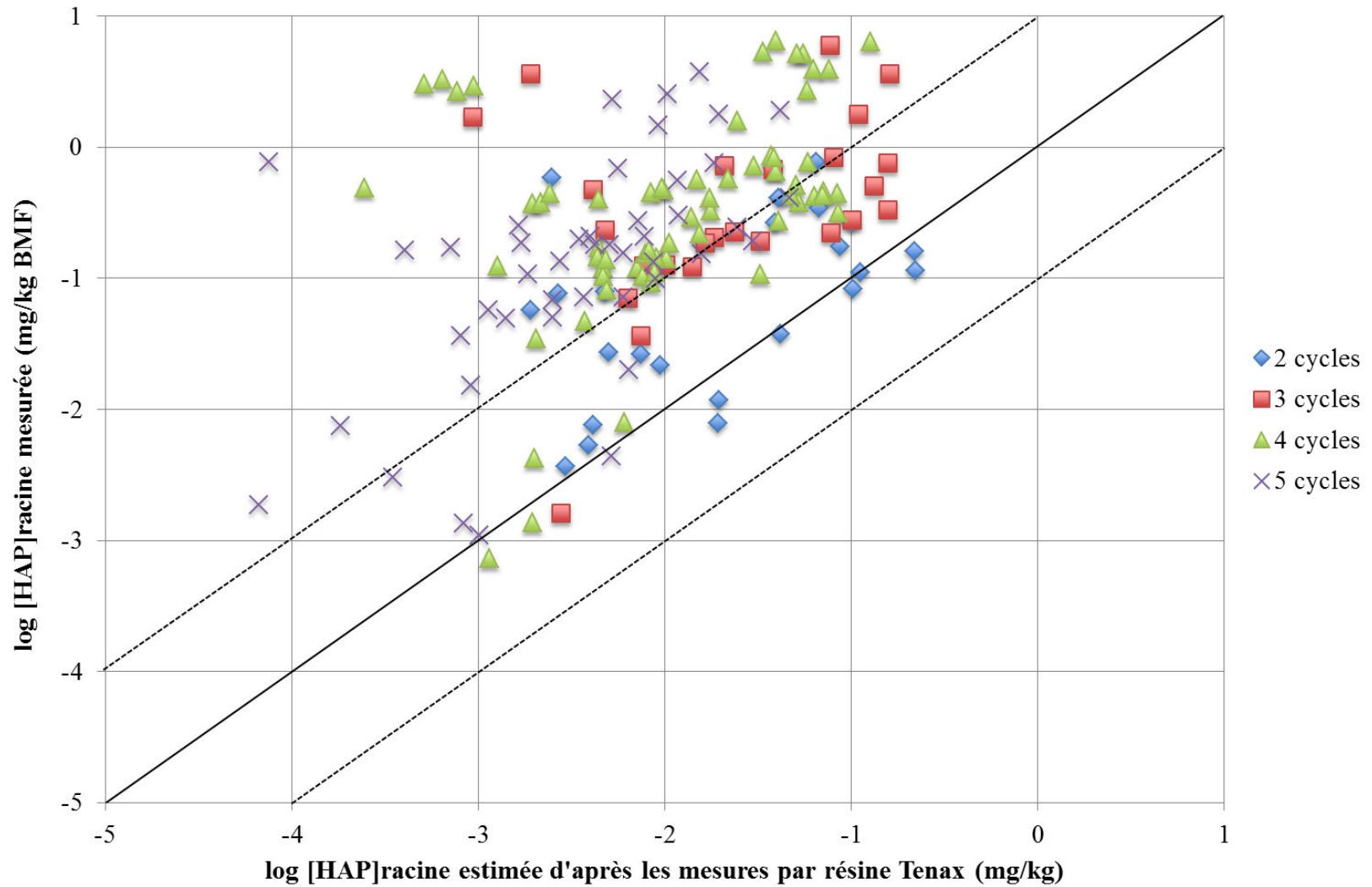


Figure 30 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax

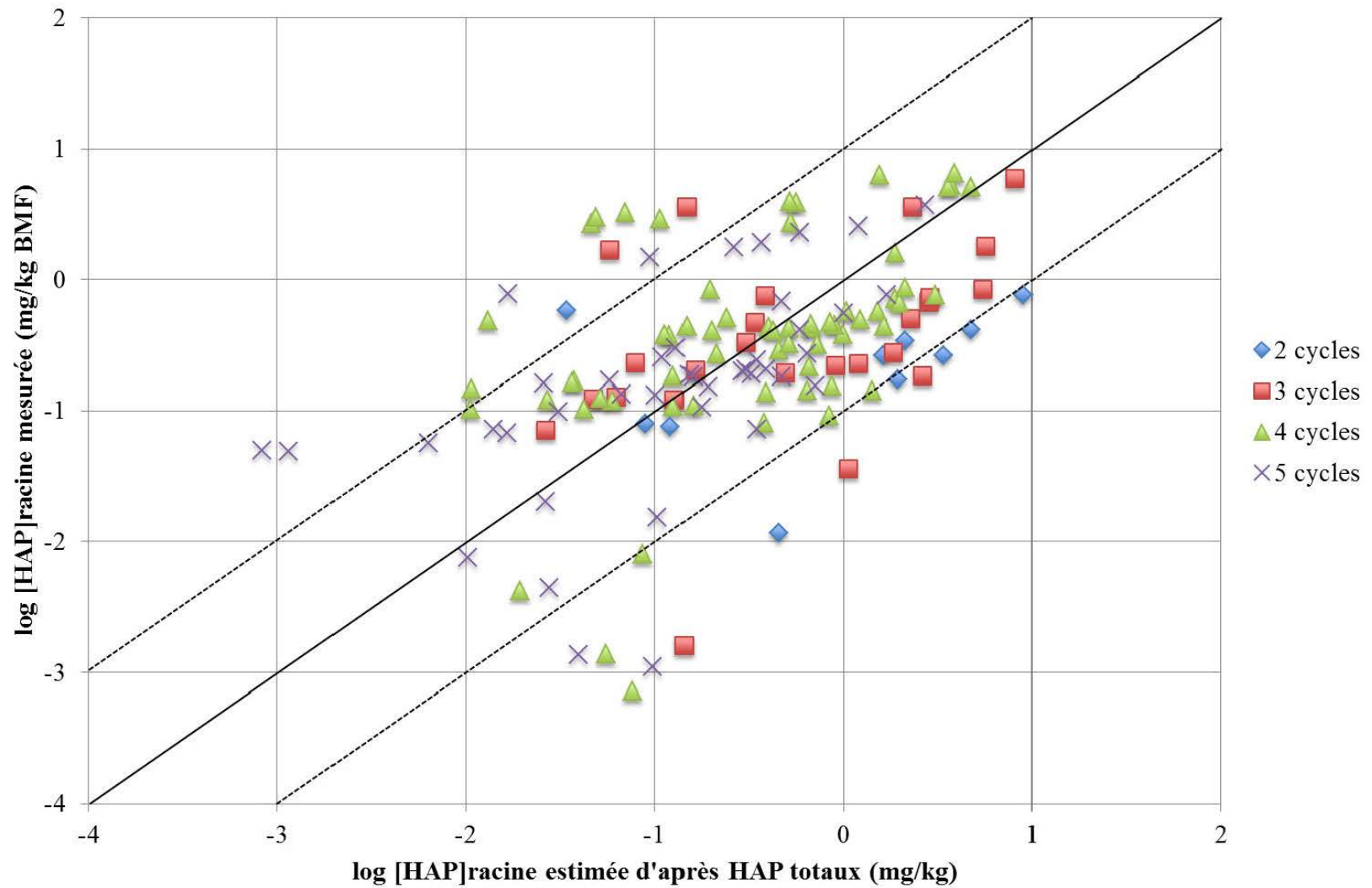


Figure 31 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP totaux

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

Les valeurs prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP dissous obtenues par les méthodes POM et Tenax® ont tendance à sous-estimer les teneurs en HAP dans les racines en comparaison à celles réelles. Seules les prédictions établies pour les HAP à deux cycles extractibles au Tenax® se rapprochent de teneurs mesurées. Les teneurs prédites des autres molécules tendent à être sous-estimées d'un facteur 10. Dans le cas de la méthode POM, les valeurs prédites sont plus dispersées, en raison d'une plus forte variabilité liée à la méthode de mesure du fait d'un seuil de quantification plus bas. Au contraire, les estimations réalisées à partir des concentrations en HAP totaux présentent une relativement bonne relation avec les valeurs mesurées dans les racines pour les HAP à trois, quatre et cinq cycles. Toutefois, elles tendent à surestimer les valeurs des HAP à deux cycles. La répartition des points en fonction des terres (Annexes, Figure 73, Figure 74 et Figure 75) montre des regroupements distincts selon la terre étudiée. Les prédictions réalisées d'après les concentrations en HAP extractibles par résine Tenax® et totaux de SW05 sont diminuées par la très forte teneur en carbone organique de la terre (60 %). Les valeurs prédites d'après les concentrations en HAP dissous obtenues par les méthodes POM et Tenax sont fortement en deçà des valeurs réelles pour les terres FR01 et BE01. Les concentrations en HAP quantifiées dans les racines de maïs cultivés sur ces deux terres sont les plus élevées, 43 et 30 mg kg⁻¹ respectivement. Or le modèle considère uniquement les molécules absorbées par les racines et les teneurs en HAP mesurées ne distinguent pas les HAP absorbés par les racines aux HAP adsorbés à la surface racinaire. En conséquence, les teneurs en HAP mesurées dans les racines sont plus élevées que celles prédites. Cette tendance est renforcée pour les HAP les plus lourds.

Le modèle de Zhang et al. (2009) est également testé (équation 7, page 36). Les valeurs mesurées sont comparées à celles prédites (équation 3, page 34) d'après les concentrations en HAP dissous

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

mesurées par la méthode POM (Figure 32) et celles calculées par l'équation 4 (page 35) d'après les concentrations en HAP extractibles par la résine Tenax® (Figure 33) et dans les terres (Figure 34).

Les mêmes tendances pour les méthodes POM et Tenax sont observées avec l'application du modèle de Zhang et al. (2009), bien que l'écart entre les valeurs prédites et mesurées soit moins important qu'avec le modèle de Briggs et al. (1982). La distribution selon le nombre de cycle des HAP indique également une discrimination des HAP les plus légers, à deux cycles, lors de l'utilisation de la membrane POM. Cette sous-estimation résulte de la surreprésentation de ces HAP dans les valeurs mesurées. Les prédictions réalisées pour les terres FR05 et SW05 d'après les méthodes POM et Tenax sont particulièrement inférieures aux valeurs réelles (Annexes, Figure 76 et Figure 77). Cela s'explique par les fortes proportions en carbone organique de ces terres, 35 et 60 % respectivement. Les prédictions réalisées d'après les concentrations en HAP totaux tendent à surestimer les valeurs dans les racines d'une amplitude, à l'exception des terres SW03, SW04, SW05 et FR05 (Annexes, Figure 78). Dans ce cas, les valeurs élevées en carbone organique compensent la surestimation. Ce modèle n'est donc pas adapté à la prédiction de l'accumulation des HAP dans les plantes. De la même façon, Gomez-Eyles *et al.* (2012) ont démontré qu'aucune des méthodes testées pour l'estimation des HAP dissous (extractions par solvants tels que acétone/hexane ou le butanol, microextraction sur phase solide, membrane POM) ne permettait de prédire la bioaccumulation des HAP dans le ray-grass par le modèle de Zhang et al. (2009).

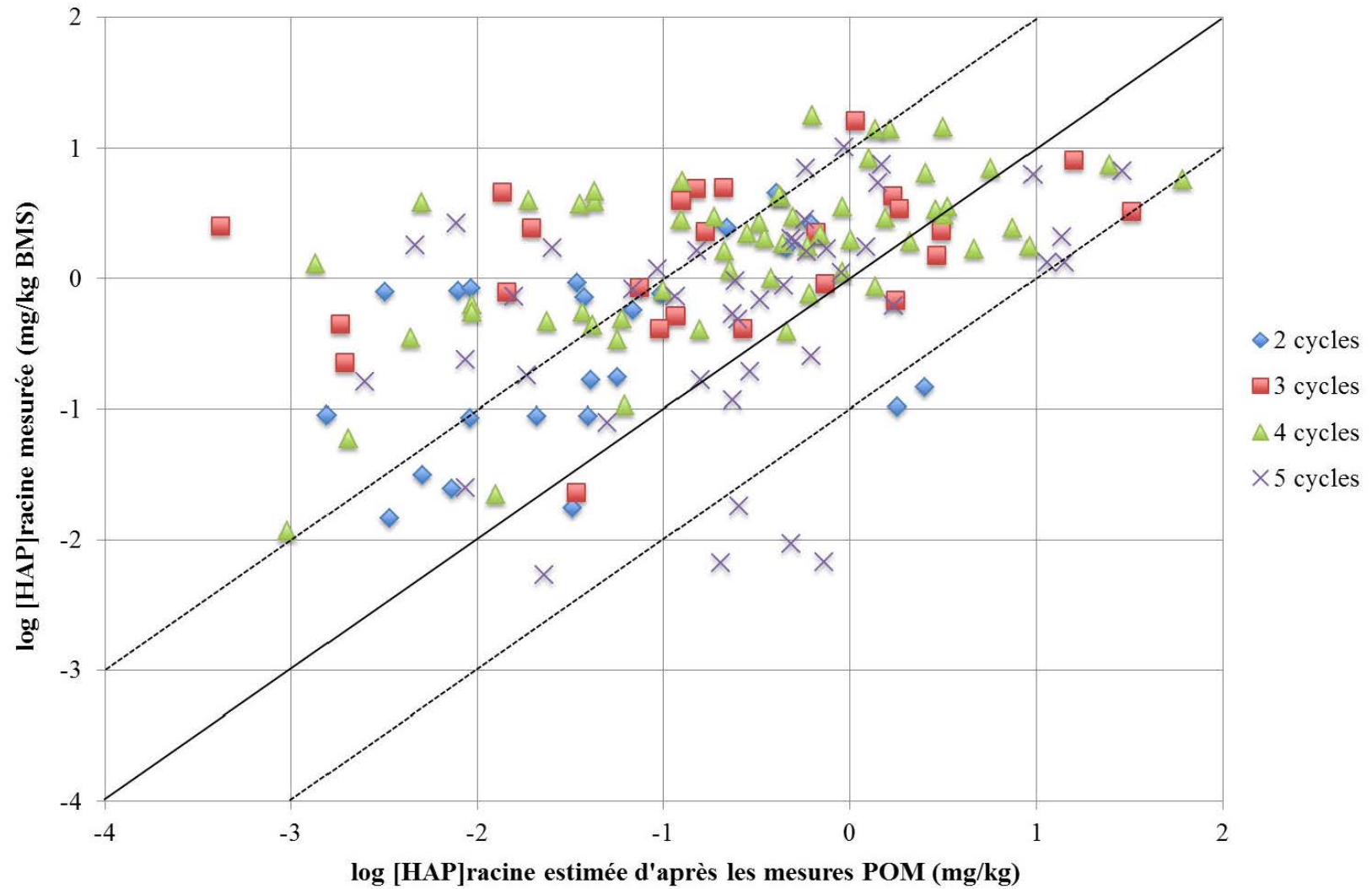


Figure 32 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale

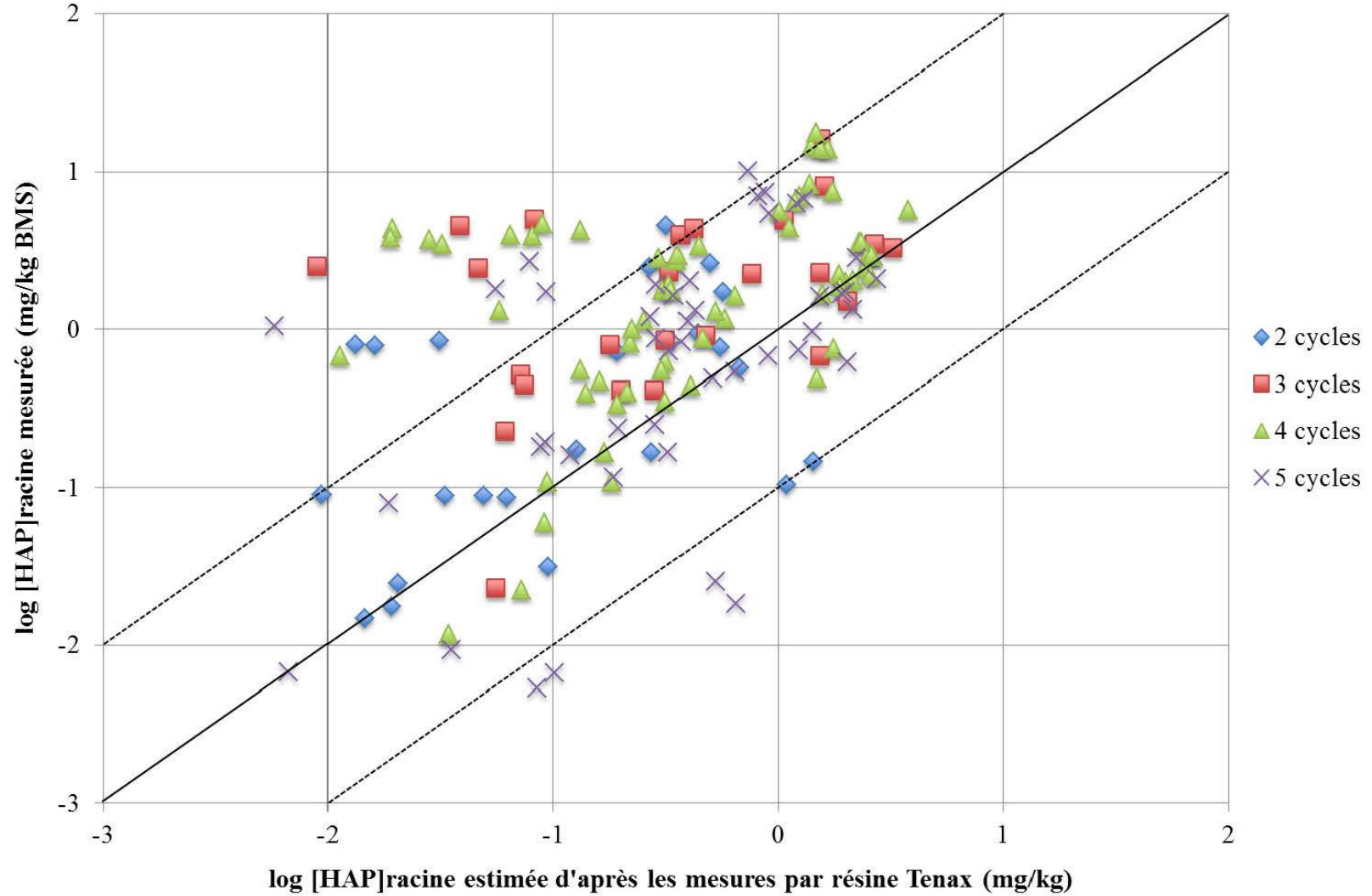


Figure 33 - Relation entre les concentrations individuelles des 14 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax

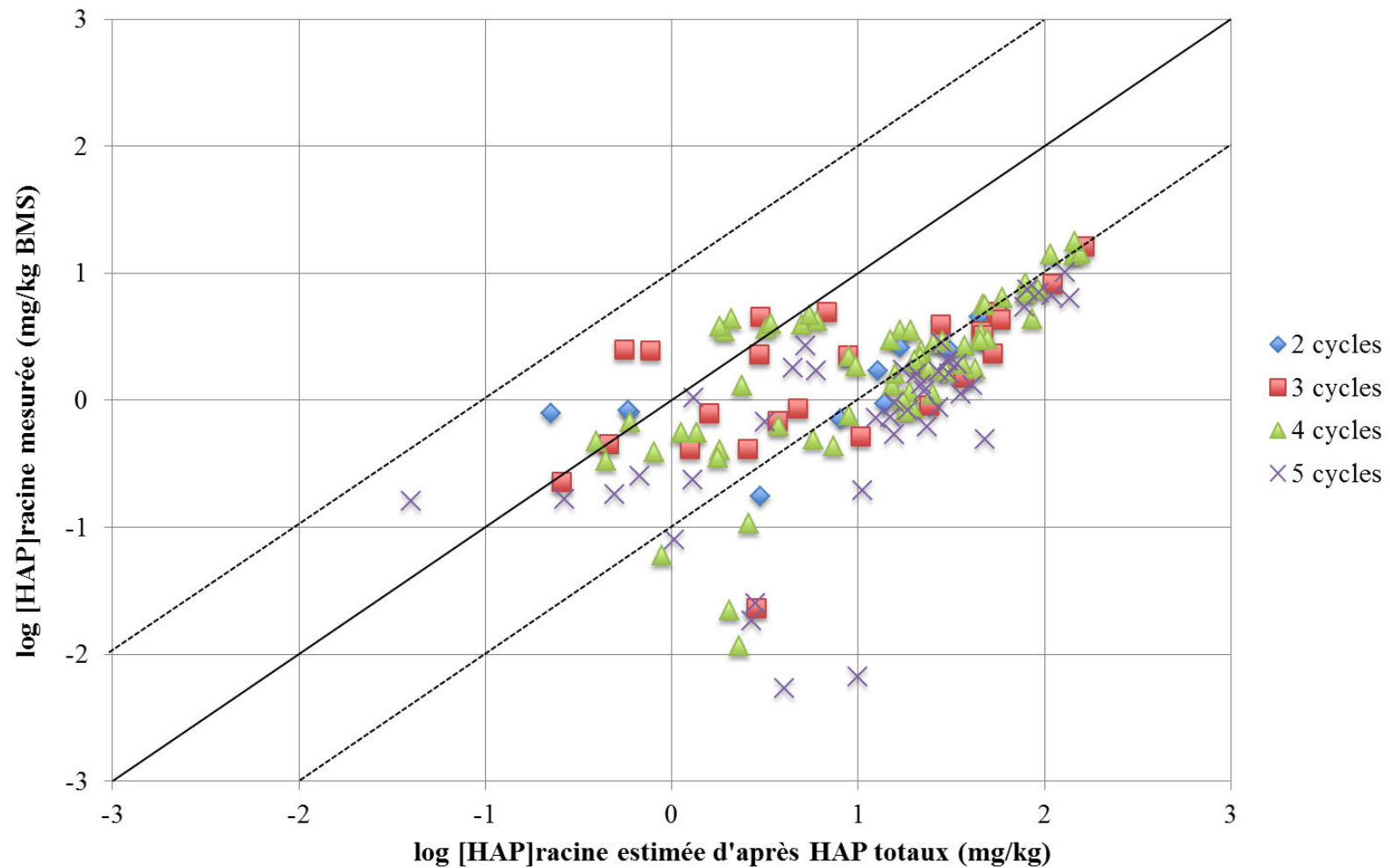


Figure 34 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP totaux

En conclusion, le modèle de Briggs et al. (1982) couplé aux concentrations en HAP totaux permet les meilleures prédictions parmi les différentes combinaisons testées. La méthode POM tend à sous-estimer fortement l'accumulation racinaire des HAP, à l'exception des plus légers qui sont surreprésentés lors de la quantification dans l'eau porale. Cela couplé à l'absence de corrélation entre les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale (méthode POM) et en HAP dans les racines ainsi que la grande différence entre les distributions dans la solution et dans les racines renforcent l'hypothèse selon laquelle il existerait plusieurs voies d'entrée des HAP dans les racines et que la voie porale ne serait pas la voie principale, en particulier pour les HAP les plus lourds. De plus, la forte corrélation entre les concentrations en HAP dans les terres et en HAP dans les racines ainsi que la similarité des distributions des familles entre racines et ceux des terres laisse supposer une voie principale par sorption physique des HAP en contact direct avec les particules de terre. Ainsi, les modèles de prédiction ne devraient pas uniquement considérer la concentration en HAP dissous mais devraient prendre en compte les HAP en phase solide du sol. De plus, l'intégration de la fraction lipidique de la plante par le modèle de Zhang et al. (2009) n'améliore pas suffisamment les prédictions pour les méthodes POM et Tenax et surestime les valeurs prédites d'après les concentrations en HAP des terres. La contribution attribuée à la fraction lipidique de la plante serait donc trop importante. Bien qu'ayant une affinité avec les HAP inférieure, la fraction de carbone pourrait constituer le site de stockage des HAP le plus important dans la racine. Par ces hypothèses, un modèle est proposé, en considérant les HAP extractibles par résine Tenax® et les HAP des terres, et leur répartition entre les fractions organiques (f_{oc}) des terres et de la plante :

$$[HAP]_{racine} = [HAP]_{extractibles} \times \frac{f_{oc\ racine}}{f_{oc\ terre}} \text{ (Équation 21)}$$

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

Les valeurs prédites par ce modèle d'après les concentrations en HAP extractibles par la résine Tenax® (Figure 35) et en HAP totaux (Figure 36) sont comparées à celles mesurées.

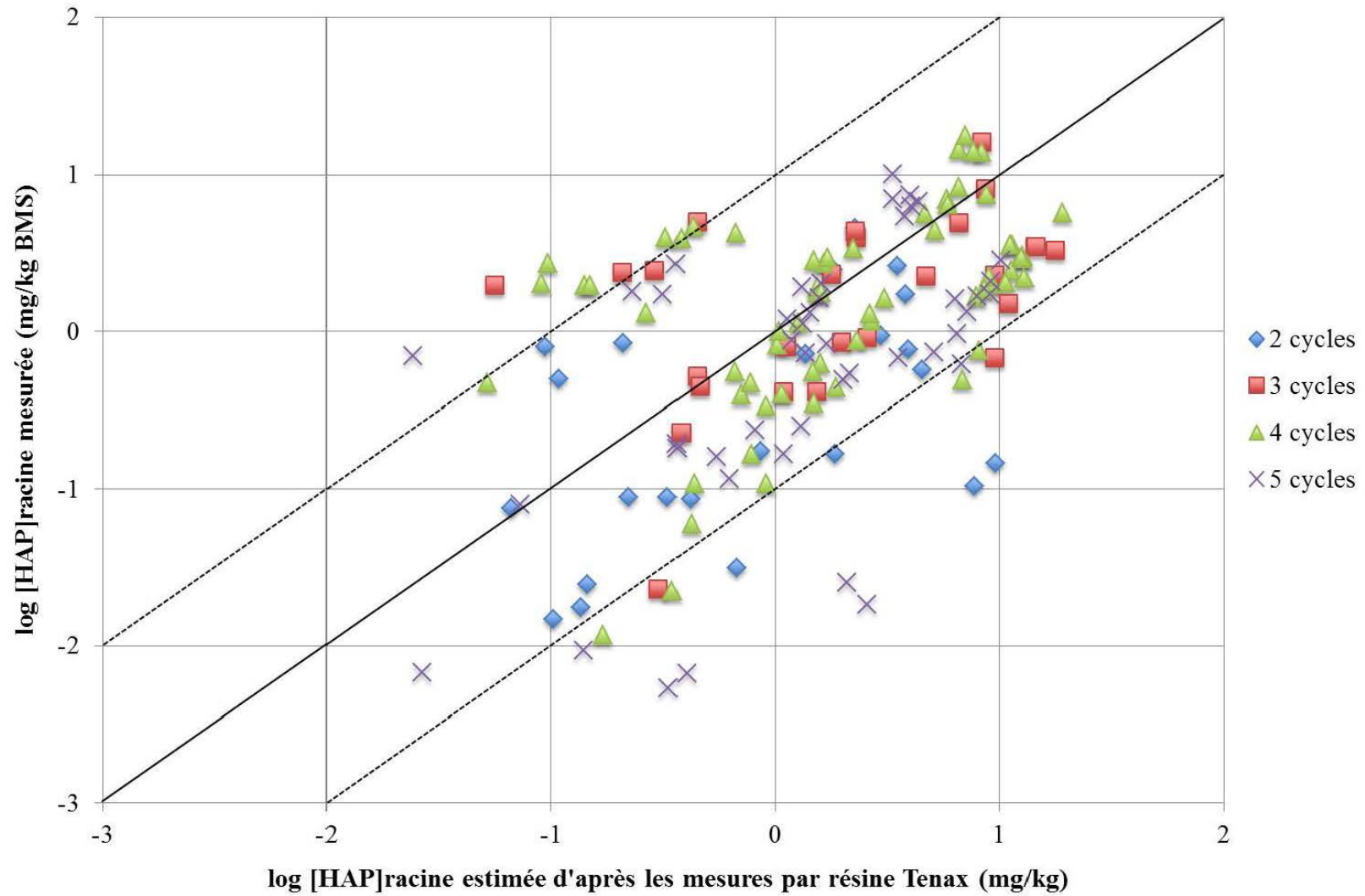


Figure 35 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle proposé à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax

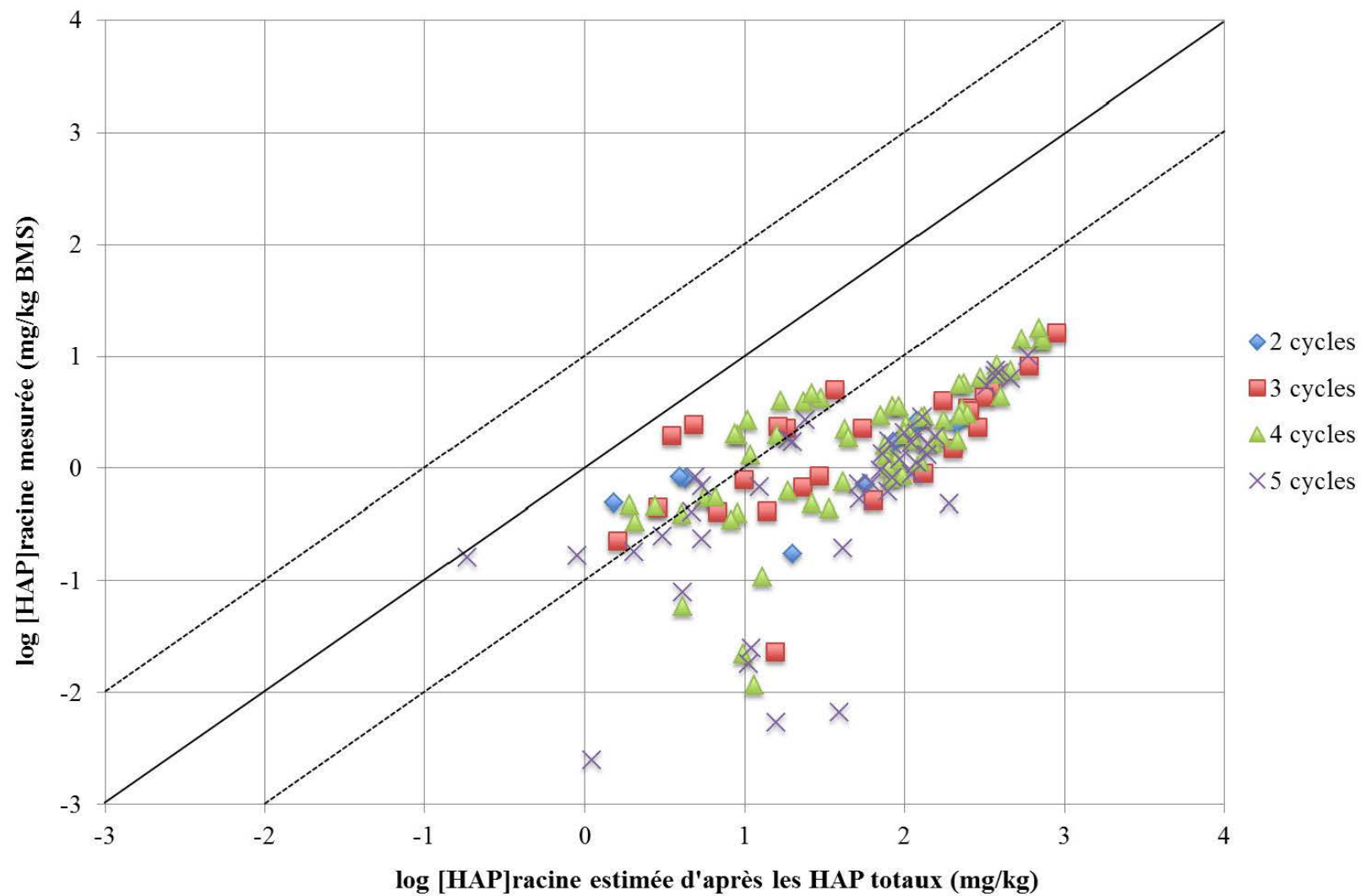


Figure 36 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle proposé à partir des concentrations en HAP totaux

Les prédictions réalisées à partir des concentrations en HAP extractibles par résine Tenax® présentent une relativement bonne estimation des valeurs mesurées dans les racines pour les HAP, tout cycle confondu. Toutefois, l'utilisation des concentrations en HAP des terres entraîne une surestimation de l'accumulation racinaire. La répartition des points en fonction des terres (Annexes, Figure 79 et Figure 80) montre des regroupements distincts selon la terre étudiée. Avec la méthode Tenax, les prédictions pour les terres FR05 et SW05 sont sensiblement sous-estimées mais l'écart est nettement inférieur à celui observé avec le modèle de Zhang et al. (2009) malgré de fortes teneurs en carbone.

3.3 Modélisation de la translocation aux parties aériennes des HAP

Les concentrations en HAP dissous mesurées par la méthode POM (Figure 37) ou estimées depuis la fraction extractible au Tenax® (Figure 38) ne permettent pas de prédire correctement l'accumulation dans les parties aériennes du maïs. Les teneurs en HAP les plus lourds (quatre à cinq cycles) tendent à être sous-estimés. Cet effet est plus accentué pour les teneurs concernant la terre FR05 (Annexes, Figure 81 et Figure 82). Les estimations réalisées à partir des concentrations en HAP totaux (Figure 39) sont plus proches des valeurs réelles pour les HAP à trois et quatre cycles malgré une tendance à la surestimation des trois cycles. Les teneurs prédites pour les HAP à cinq cycles restent inférieures à celles mesurées. Ces écarts de prédiction peuvent être dus au domaine de validité du modèle qui a été établi initialement pour des molécules organiques de K_{ow} inférieurs à 4 alors que les 16 HAP réglementaires ont des K_{ow} compris entre 4 et 7,5. On peut également supposer que dans le cas des HAP le transfert via le xylème n'est pas la voie principale de transport des HAP depuis les racines aux parties supérieures, en particulier pour les HAP avec plus de deux cycles.

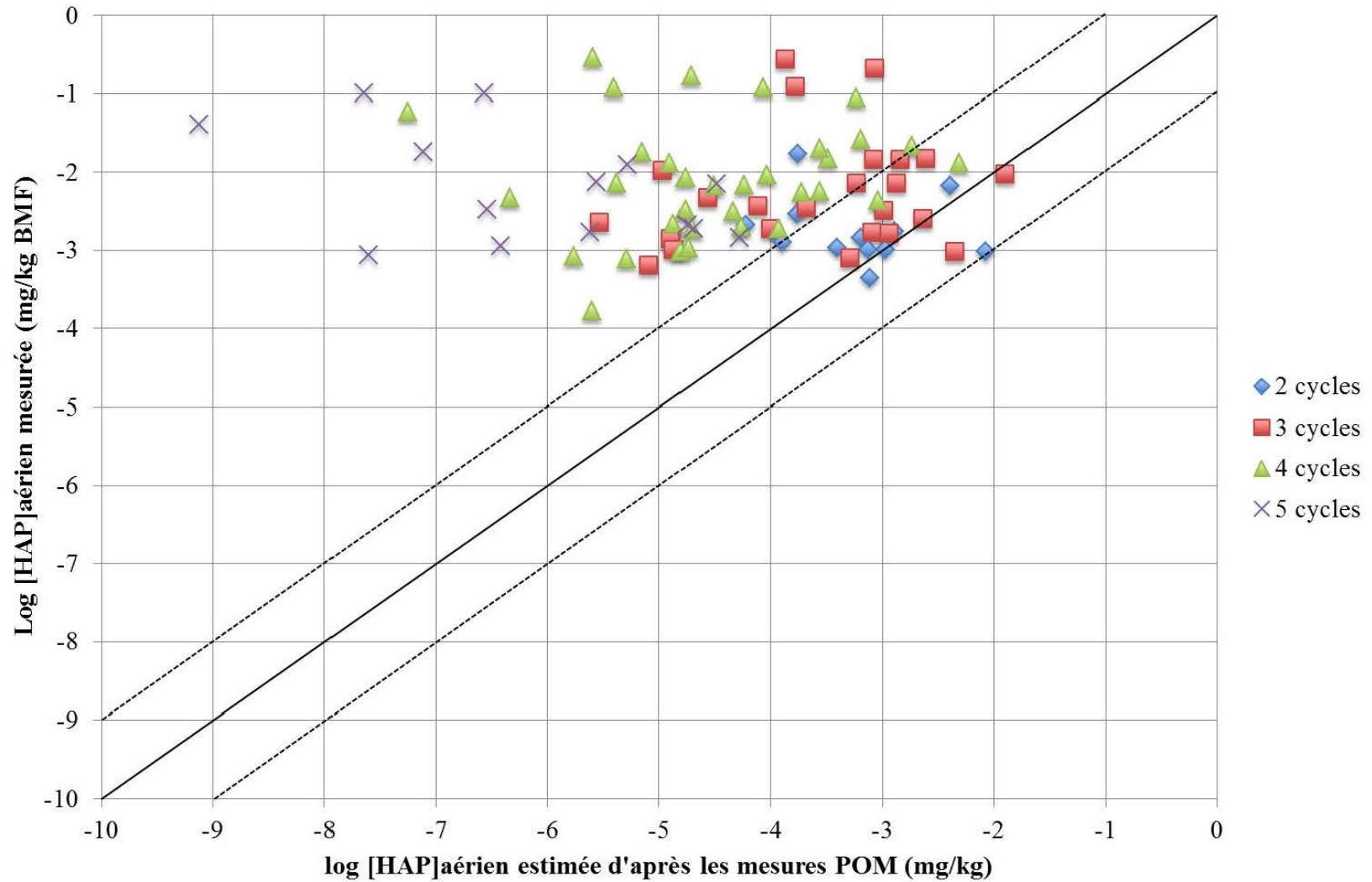


Figure 37 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale

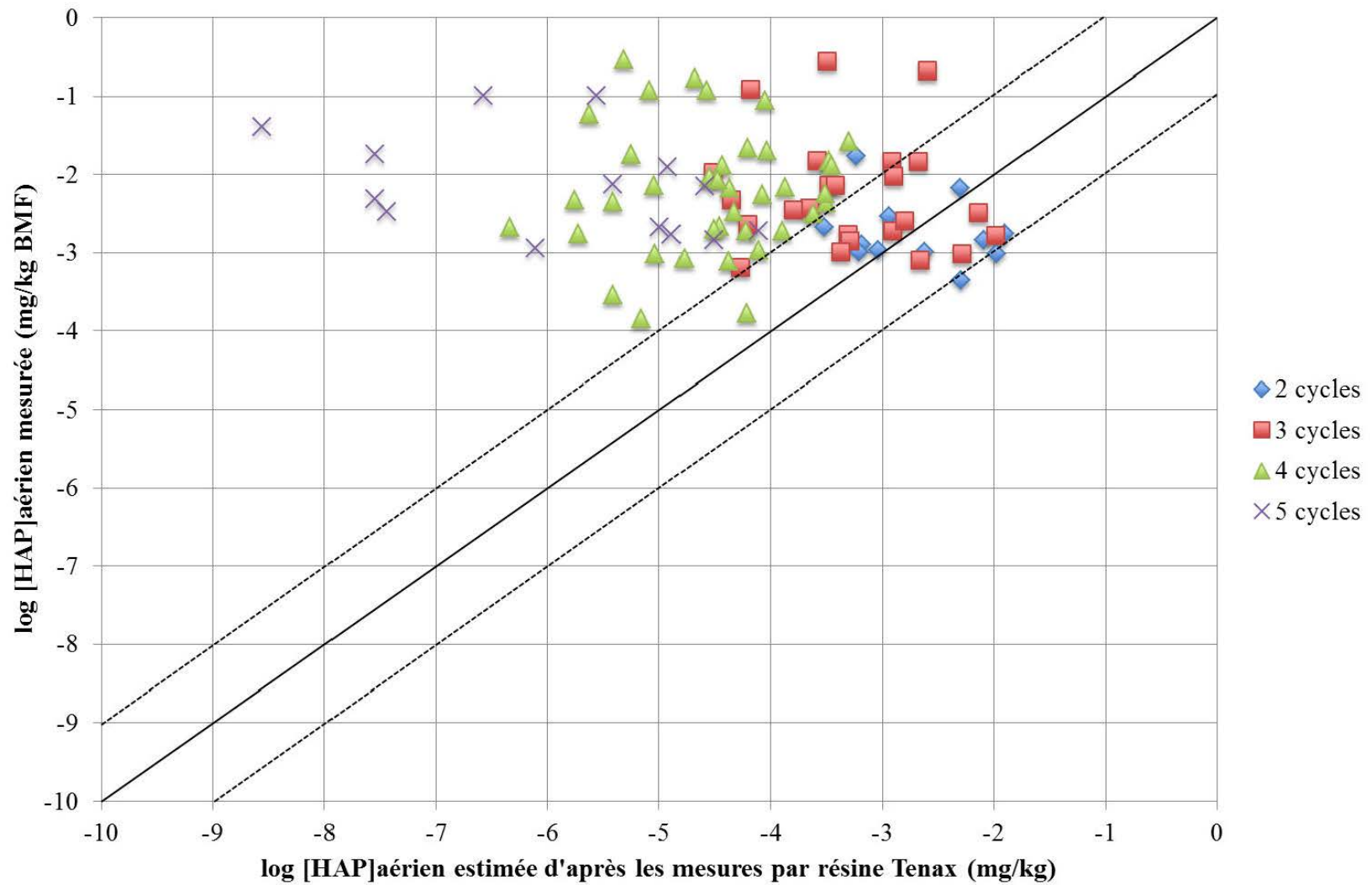


Figure 38 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax

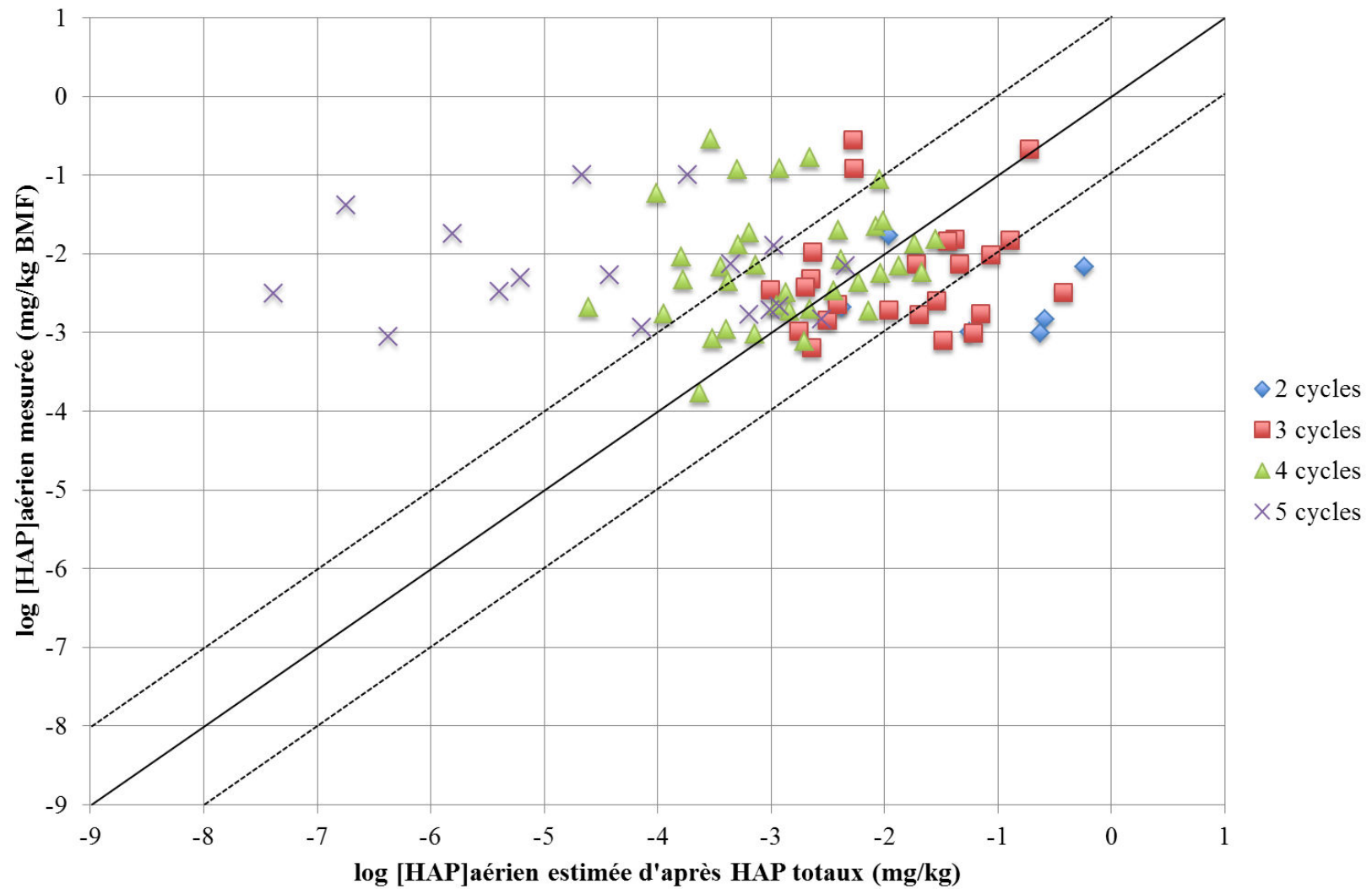


Figure 39 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP totaux

4 Localisation d'un HAP dans les racines à l'échelle cellulaire

Une approche par microscopie a été adoptée pour permettre l'observation du PHE dans les tissus racinaires après exposition et aider à la compréhension du transfert de ce HAP du milieu à la plante. Dans la racine principale, des amas de PHE ont essentiellement été détectés dans l'exoderme à 10 j et à la fois dans l'exoderme et l'endoderme à 20 j (Figure 40). Rien n'a pu être observé dans le cortex. Cette première observation semble montrer un mouvement centripète du PHE dans les structures racinaires avec le temps.

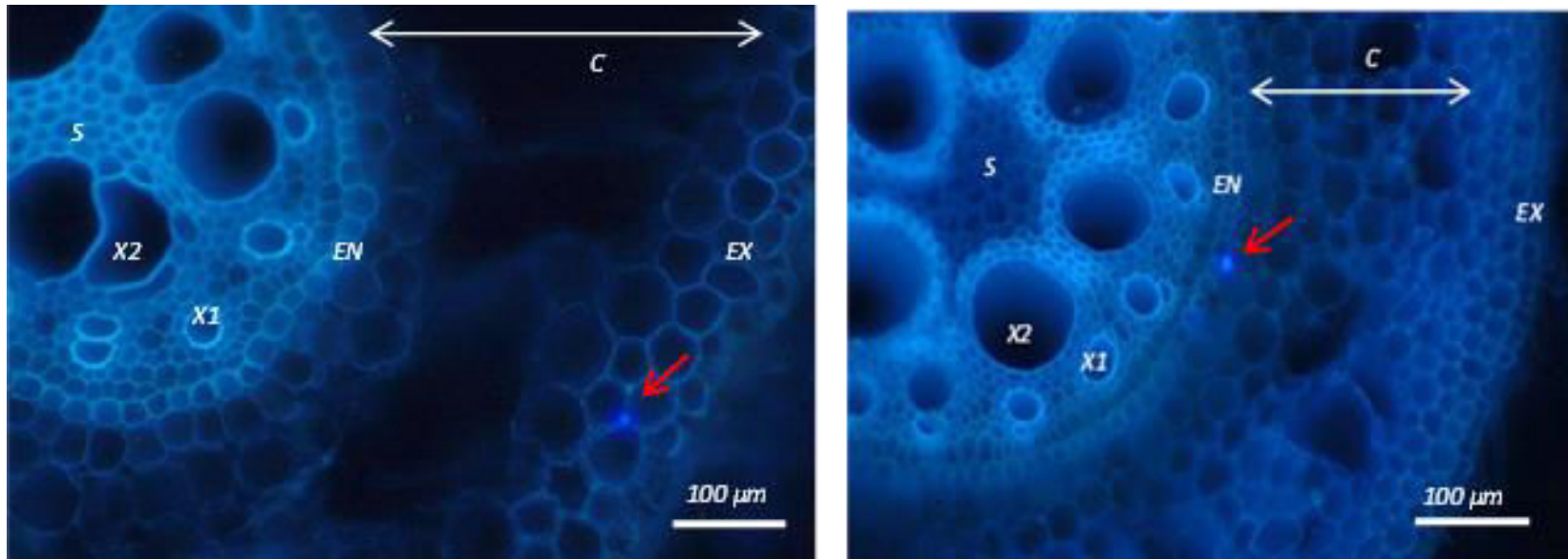


Figure 40 - Visualisation d'un amas de PHE, dans la racine principale de maïs, exposé à $150 \text{ mg PHE kg}^{-1}$, sous microscope à épifluorescence, en filtre UV-1A, localisé dans l'exoderme après 10 j de culture (à gauche) ou dans l'endoderme après 20 j de culture (à droite), sur une coupe transversale ($200 \mu\text{m}$ d'épaisseur) à environ 80 % de distance à l'apex. La flèche rouge désigne l'amas de PHE. EX=exoderme ; C=cortex ; EN=endoderme ; X1=xylème primaire ; X2=xylème secondaire ; S=stèle.

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

Les teneurs en PHE ne pouvant être mesurées directement à partir des observations, une estimation des taux de recouvrement des amas de PHE sur la surface de la section racinaire a été réalisée (Figure 41) afin d'avoir une estimation semi-quantitative de l'accumulation de PHE dans les racines. Le bruit de fond lié à l'analyse d'image est représenté par les maïs de contrôle dont les images ont subi les mêmes traitements analytiques. L'analyse de covariance (ANCOVA) révèle un effet significatif du traitement (p -value $< 10^{-10}$), de la distance (p value $< 10^{-10}$) et un effet combiné des deux (p -value $< 10^{-10}$). Le temps n'exerce pas d'effet significatif (p -value $< 0,4$) mais des tendances apparaissent. Après 10 j de culture, les mesures indiquent des taux de recouvrement de PHE plus importants près de la graine, jusqu'à 75 % de distance à l'apex. Ces taux de recouvrement tendent à diminuer le long de la racine en direction de l'apex et sont plus élevés dans les cas d'exposition de 150 mg PHE kg⁻¹ qu'à 50 mg PHE kg⁻¹.

Après 20 j de culture, les racines exposées à 50 mg PHE kg⁻¹ montrent globalement une diminution des taux de recouvrement en PHE en plus d'une diffusion vers la partie apicale de la racine. En effet, les taux de recouvrement au-delà de 60 % de distance à l'apex ont diminué avec le temps quand ceux à mi-distance (35 à 50 %) ont augmenté. Lors d'une contamination à 150 mg PHE kg⁻¹ du milieu de culture, les taux de recouvrement près de la graine (au-delà de 75 % de distance à l'apex) sont plus importants et un gradient de taux de recouvrement décroissant est toujours observé le long de la racine jusqu'à l'apex. Cela peut notamment témoigner d'un effet cumulatif du PHE dans la racine.

Chapitre 3 : Transfert des HAP du sol à la plante

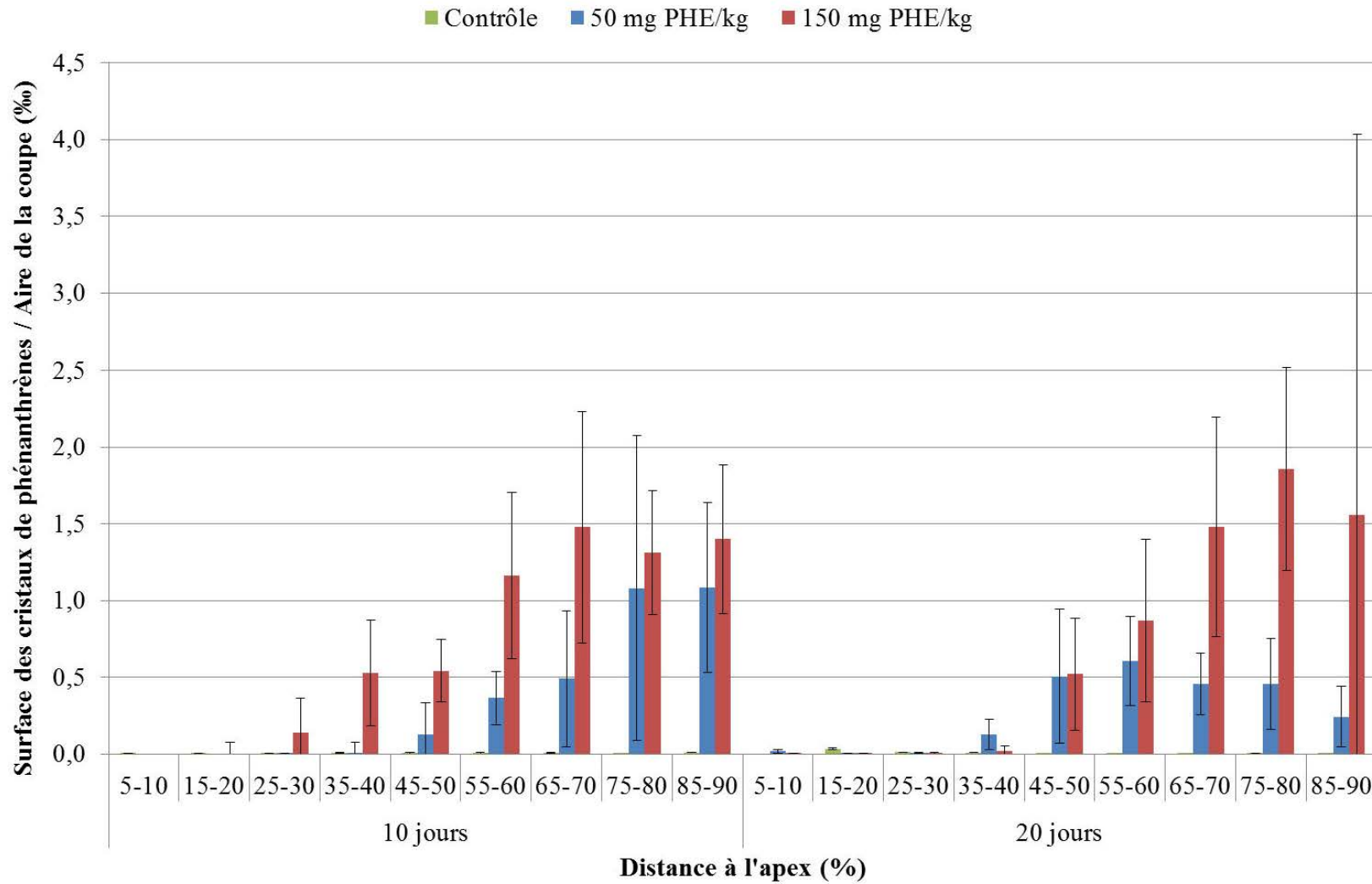


Figure 41 - Taux de recouvrement (%) des amas de PHE en fonction de la distance à l'apex de la racine principale de maïs exposé à 50 et 150 mg PHE kg⁻¹ (n=5)

Wild *et al.* (2005) ont également rapporté l'absence d'accumulation du PHE au niveau de la coiffe et de l'apex. Ils ont aussi observé une accumulation à la surface des cellules épidermales, dans la zone d'élongation, la zone pilifère et la zone de ramification. Ils ont ainsi conclu que le PHE était absorbé au niveau de la zone d'élongation puis remontait le long de la racine principale par voie apoplastique en se dirigeant vers la stèle. Toutefois, la baisse du taux de recouvrement à 20 j pour l'exposition 50 mg kg^{-1} laisse supposer l'existence d'un système de régulation par la racine du prélèvement de PHE et/ou la métabolisation du HAP conduisant à sa dégradation. Mais à fortes concentrations en PHE dans le milieu, ces mécanismes pourraient être saturés, laissant s'accumuler davantage de PHE dans la racine. Ainsi, le PHE non dégradé pourrait constituer un réservoir interne de PHE susceptible de se dissoudre dans la plante (Wild *et al.* 2006).

Les observations en microscopie à épifluorescence ont également permis de détecter des amas de PHE en forme de bâton, parallèles à la longueur de la racine (Figure 42). Ces derniers semblent à l'intérieur de la paroi des cellules de l'exoderme et pourraient indiquer un passage dans la racine par voie apoplasmique plutôt que symplasmique. De plus, l'intensité des bâtons est plus importante lors d'expositions à $150 \text{ mg PHE kg}^{-1}$ qu'à $50 \text{ mg PHE kg}^{-1}$, suggérant une nouvelle fois un effet dose-réponse à ces concentrations.

Dans le but de préciser la localisation du PHE, des observations en microscopie confocale ont été réalisées. Des amas de PHE semblent remplir une cellule exodermale (Figure 43 A, B et C). Toutefois, ils peuvent également être issus d'une accumulation au niveau des parois communes.

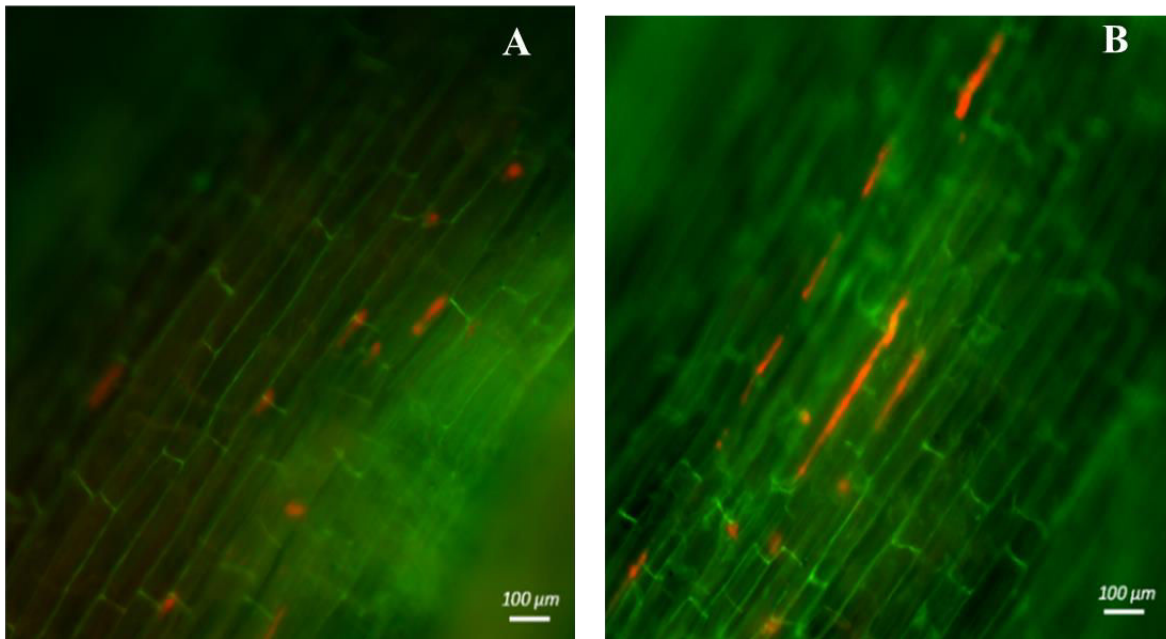


Figure 42 - Observations au microscope à épifluorescence des amas de PHE dans la racine principale de maïs exposés à 50 (A) et 150 (B) mg PHE kg⁻¹ pendant 10 j, à environ 60 % de distance de l'apex (images issues de la superposition de deux photographies prises sous filtre UV-1A (rouge) et filtre FITC (verte)).

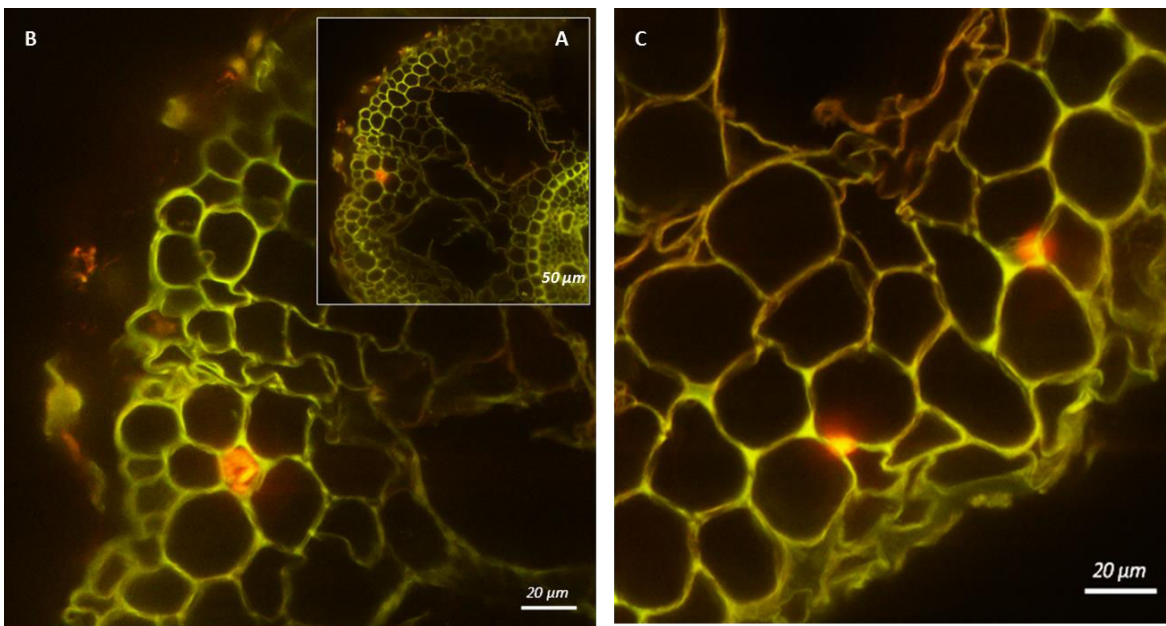


Figure 43 - Visualisation des amas de PHE sous microscope confocale. (A) et (B) Amas de PHE accumulés dans l'exoderme (vue en x-y) (C) Deux amas localisés dans l'épaisseur de l'exoderme (vue en x-z). Les cristaux de PHE sont visibles en rouge et l'autofluorescence des composés constituant la racine en jaune-vert.

Ainsi, les racines seraient exposées à deux fractions du polluant dans le substrat contaminé : du PHE dissous dans l'eau porale et du PHE sous forme d'amas solides adsorbés sur les particules de sable. Les molécules de PHE dissous pourraient s'accumuler à la surface des racines du fait d'une forte affinité avec des tissus lipidiques tels que la subérine (Chen et Schnoor 2009). Le PHE complexé sur les grains de sable pourrait diffuser dans ces tissus par contact direct (Wild *et al.* 2006) avec les racines lors de leur croissance. Cette hypothèse concorde avec les résultats d'une étude portant sur l'observation de PHE par des outils de microscopie dans des feuilles de maïs exposés à une atmosphère contaminée (Wild *et al.* 2006). Les auteurs ont ainsi observé la diffusion de ce HAP à travers les cuticules, pour pénétrer dans les cellules épidermales et s'accumuler essentiellement dans les parois cellulaires, indiquant un transport apoplasmique plutôt que symplasmique, pour former un réservoir. Les observations par microscopie laissent supposer trois types de mouvement du PHE dans la racine de maïs : une diffusion radiale depuis l'exoderme à l'endoderme, confirmée par Wild *et al.* (2005) et une diffusion longitudinale vers l'apex dans l'exoderme selon l'élongation cellulaire, en plus d'une translocation vers la partie foliaire dans l'endoderme selon le flux de transpiration (Wild *et al.* 2005).

5 Conclusion

Ce chapitre a ainsi permis l'étude du transfert de HAP dans les racines de maïs cultivés sur des milieux complexes, des terres industrielles historiquement contaminées (Expérience III), et sur un milieu simplifié, du sable artificiellement contaminé en PHE (Expérience I). Les principaux résultats de ces deux études renforcent l'hypothèse d'une sorption physique des HAP par contact direct (Wild *et al.* 2006; Chen *et al.* 2009) avec les racines comme mécanisme principal d'entrée et non la diffusion par la voie porale (Ryan *et al.* 1988; Collins *et al.* 2005), comme illustrée en Figure 44. Les principaux arguments en faveur de cette hypothèse sont les distributions

moléculaires similaires entre les HAP totaux et extractibles par résine Tenax® avec celle dans les racines, les mauvaises corrélations entre les concentrations mesurées par la méthode POM et les racines, à la fois pour les quantités totales et les types de HAP (nombres de cycle), la surestimation des concentrations prédites par des modèles d'absorption de molécules organiques par voie porale, ainsi que la localisation du PHE en amas dans l'exoderme des racines. Les HAP dissous diffuseraient vers l'endoderme par voie apoplasmique (Wild *et al.* 2005). La bande de Caspari pourrait former une barrière physique aux HAP transportés et favoriser l'accumulation sous forme d'amas dans l'endoderme du fait d'une forte affinité pour la subérine (Chen *et al.* 2009). Les amas de PHE, observés aux intersections cellulaires sous forme de bâton, seraient liés à l'élongation des cellules épidermales et non à une diffusion longitudinale intercellulaire.

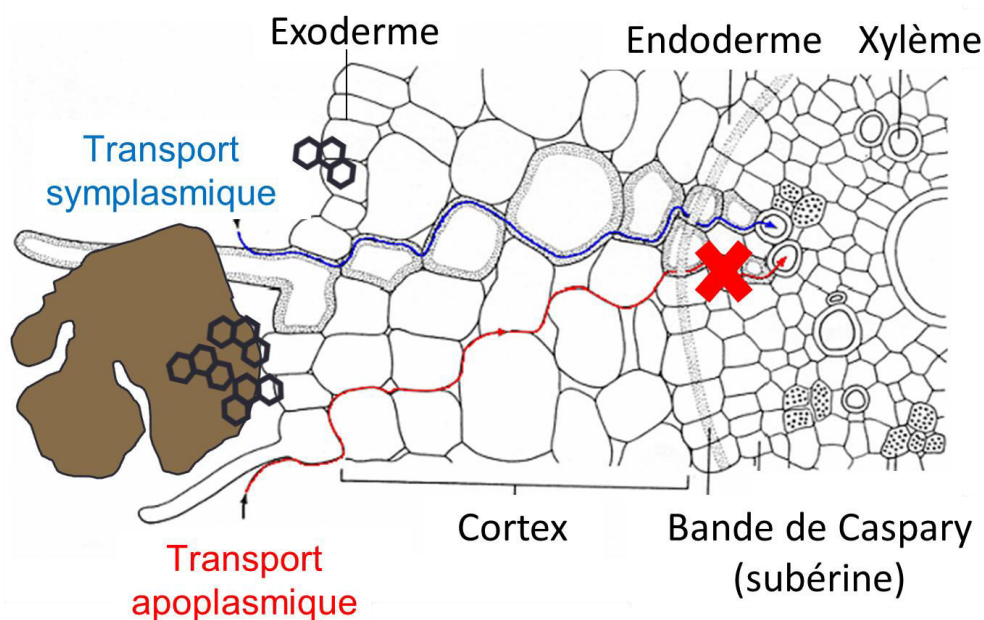


Figure 44 – Représentation hypothétique du transfert des HAP du sol à la racine

À faible concentration, un mécanisme de régulation permettrait de limiter le transfert des HAP dans les racines et la dégradation des molécules. Autrement, des réservoirs de HAP se

formeraient dans les tissus racinaires et pourraient diffuser progressivement (Wild *et al.* 2006). Cette rétention des HAP dans les racines limiterait le passage aux parties aériennes. Bien que la culture ait été réalisée sur une courte durée, l'accumulation dans la partie aérienne est restée très faible (en moyenne 200 fois moins importantes que dans les racines) et l'effet de dilution par la biomasse lors de la croissance de la plante écarte une potentielle menace des HAP pour l'alimentation. De plus, malgré leur faible lipophilie, les molécules à deux cycles sont très peu présentes dans les feuilles et tige. De même, les molécules à cinq cycles voient leur abondance foliaire drastiquement inférieure à celle racinaire. Ces observations écartent également l'hypothèse d'une accumulation HAP dans les feuilles par voie atmosphérique mais laissent plutôt supposer un passage majoritaire par translocation racinaire. Ainsi, les molécules à trois et quatre cycles ont la plus forte capacité de pénétration dans la racine et de translocation dans la plante une fois adsorbés en surface. Ainsi, ces hypothèses de fonctionnement remettent en question les modèles de Briggs *et al.* (1982) et de Zhang *et al.* (2009) pour les racines, et de Briggs *et al.* (1983) pour les feuilles, basés sur le fait que la solution du sol serait le vecteur du passage des HAP dans la racine et utilisés actuellement pour la prédiction de la bioaccumulation des HAP dans les plantes supérieures. La considération des concentrations en HAP totaux permet l'amélioration de ces prédictions. D'un point de vue pratique, la mesure de la MOE, dont les teneurs sont fortement corrélées aux concentrations en HAP totaux, pourrait se substituer à des analyses quantitatives des HAP, beaucoup plus compliquées et onéreuses. Toutefois, le modèle alternatif proposé dans ce chapitre, couplé aux concentrations mesurées par la méthode Tenax serait plus représentatif du fonctionnement global du système plante-sol.

Après avoir étudié le transfert des HAP dans les plantes, l'impact de la contamination sur le fonctionnement du maïs est étudié dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 4 :

FONCTIONNEMENT

DU MAÏS EXPOSÉ AUX

HAP

SOMMAIRE CHAPITRE 4

1	Fonctionnement du maïs exposé aux HAP	130
1.1	Allocation de la biomasse	130
1.2	Géométrie racinaire	134
1.3	Nutrition minérale.....	138
1.3.1	<i>Prélèvement de l'eau</i>	138
1.3.2	<i>Éléments dans les racines</i>	140
1.3.3	<i>Éléments dans les parties aériennes</i>	147
1.4	Effets des terres sur le fonctionnement du maïs	153
2	Fonctionnement du maïs exposé au PHE	156
2.1	Devenir du PHE dans le milieu	156
2.1.1	<i>Observation du PHE au sein du support de culture</i>	156
2.1.2	<i>Devenir dans le temps</i>	156
2.2	Réponses physiologiques du maïs	160
2.2.1	<i>Allocation de la biomasse</i>	160
2.2.2	<i>Géométrie du système foliaire</i>	163
2.2.3	<i>Géométrie du système racinaire</i>	164
2.2.4	<i>Fonctions physiologiques</i>	168
	Photosynthèse et transpiration	168
	Nutrition minérale.....	169
2.3	Subérification des tissus racinaires	174
3	Conclusion	179

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

L'étude bibliographique a montré des résultats de rhizodégradation prometteurs en conditions contrôlées de laboratoire. Pourtant, l'efficacité de ce procédé appliqué *in situ* sur des sites et sols pollués reste fortement limitée du fait des difficultés culturales rencontrées (Ouvrard *et al.* 2011). L'espèce végétale utilisée doit pouvoir tolérer la contamination dans un environnement complexe pour un développement optimal sur le sol à dépolluer. Les plantes supérieures répondent de multiples façons à la présence de HAP. Les réponses observées sont d'intensité variable selon l'espèce végétale, la nature et la concentration du polluant, mais souvent communes : inhibition de la germination (Chaineau 1995; Henner *et al.* 1999; Kummerová *et al.* 2004), diminution de la biomasse totale, généralement accompagnée de modifications morphologiques du système racinaire (Wittig *et al.* 2003; Baldyga *et al.* 2005; Alkio *et al.* 2005; Liu *et al.* 2009a; Kummerová *et al.* 2012, 2013), interactions avec les phytohormones (Alkio *et al.* 2005; Váňová *et al.* 2009; Weisman *et al.* 2010; Ahammed *et al.* 2012b), dommages cellulaires (Pašková *et al.* 2006; Li *et al.* 2008; Liu *et al.* 2009a; Ahammed *et al.* 2012a; b; Kummerová *et al.* 2004, 2006; Váňová *et al.* 2009; Oguntimehin *et al.* 2010; Alkio *et al.* 2005; Babula *et al.* 2012; Debiane *et al.* 2008) et inhibition de l'activité photosynthétique (Oguntimehin *et al.* 2010; Ahammed *et al.* 2012a; b). Malgré l'identification de tous ces symptômes phytotoxiques, le mécanisme général de toxicité des HAP sur les plantes n'est toujours pas pleinement identifié. L'hypothèse de base de cette étude est que les HAP entraînent un dysfonctionnement du système racinaire, organe directement exposé à la pollution, au niveau du prélèvement de l'eau et/ou des nutriments, se répercutant ensuite à l'ensemble de l'organisme. En conséquence, l'objectif général de ce chapitre est d'évaluer l'efficacité de la nutrition minérale et du prélèvement d'eau du maïs en présence de HAP, en vérifiant le statut nutritionnel et les teneurs en eau des systèmes racinaires et aériens de la plante. Pour répondre à cet objectif, différentes approches expérimentales complémentaires ont

été menées, se distinguant par la complexité des systèmes étudiés et des échelles d'observations choisies. Une première expérimentation a mis en œuvre une culture de maïs en conditions contrôlées de laboratoire sur des terres industrielles historiquement contaminées (Expérience III) pour prendre en compte les difficultés de revégétalisation de sites et sols pollués rencontrés *in situ*. Une deuxième culture de maïs a été réalisée sur du sable artificiellement contaminé en un HAP modèle, le PHE, à plusieurs niveaux de concentration (ExpérienceII) pour évaluer la toxicité du PHE sur le maïs, en s'affranchissant de paramètres édaphiques limitant la croissance de la plante et la disponibilité du polluant. En plus de la quantification des éléments nutritifs, d'autres paramètres physiologiques ont été mesurés pour évaluer l'intensité de la réponse toxique du maïs en présence de HAP tels que l'allocation de la biomasse, la géométrie des systèmes foliaire et racinaire et les échanges gazeux des feuilles. Une partie de ces travaux ont fait l'objet d'un article (Dupuy *et al.* 2015). Enfin, une troisième expérimentation a suivi la subérification des racines de maïs cultivés sur du sable artificiellement contaminé en PHE pendant 10 et 20 j, à l'aide d'outils de microscopie, la subérine intervenant dans la perméabilité des racines et donc indirectement sur la nutrition minérale de la plante et son économie en eau (Expérience I).

1 Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

1.1 Allocation de la biomasse

À l'issue de l'expérience III, les plantes présentent des BMSt très variables selon les terres industrielles utilisées comme support de culture (Figure 45). Un effet significatif de la terre de culture sur la BMSt est observé ($p < 0,05$). Les maïs cultivés sur sable et FR02 présentent les BMSt les plus élevées, proches de 4 g par plante, suivis des maïs de la terre FR03, avec environ 3 g par plante. Les maïs des terres FR01 et suédoises présentent des biomasses plus faibles,

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

comprises entre 2 et 2,6 g en moyenne par plante. Sur les terres FR04, FR06 et BE01, les plantes ont des biomasses encore plus faibles, variant entre 1 et 1,4 g par individu en moyenne. Enfin, les maïs cultivés sur FR05 et FR07 présentent les biomasses totales les plus significativement diminuées, comprises entre 0,3 et 0,5 g par plante. La diminution de biomasse est souvent observée lors de cultures sur des terres contaminées fraîches ou anciennes (Henner *et al.* 1999; Baldyga *et al.* 2005; Merkl *et al.* 2005a; Smith *et al.* 2006). Chaineau (1995) a noté une inhibition de la croissance de maïs cultivés sur terre contaminée mais sans relation de proportionnalité à la quantité d'hydrocarbures.

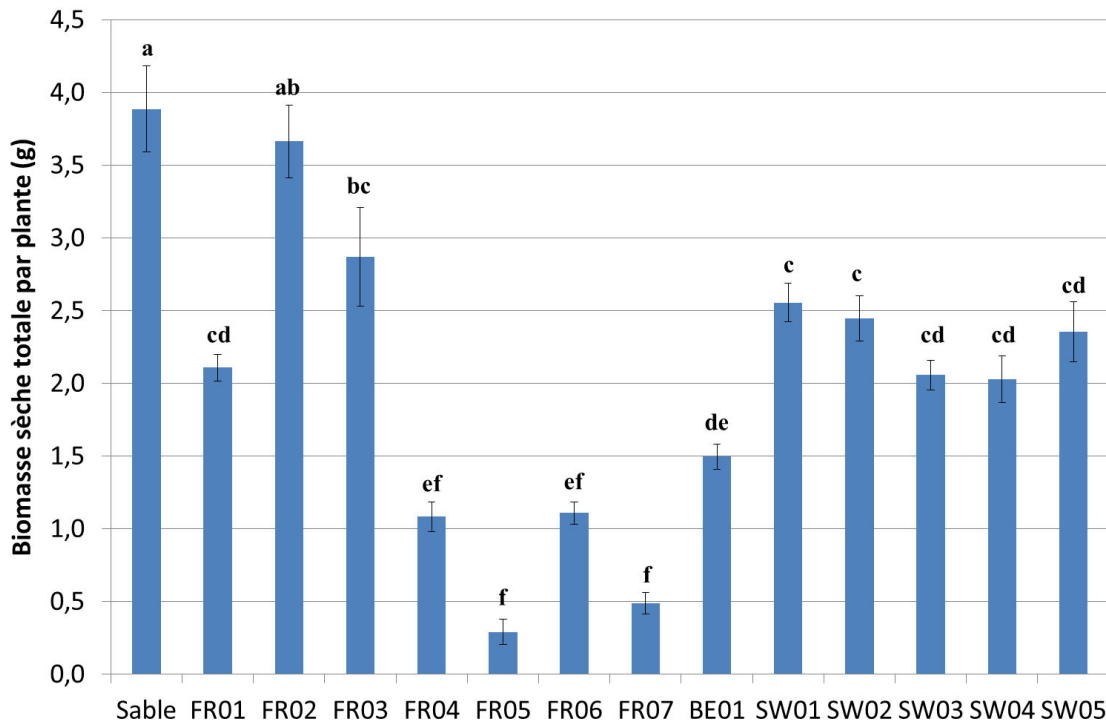


Figure 45 – Moyennes des biomasses sèches totales par plante (g) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)

L'allocation de biomasse aux différents organes de la plante peut traduire en partie l'utilisation du carbone assimilé et rendre compte des stratégies d'évitement ou de tolérance d'un stress environnemental par des modifications spécifiques du métabolisme. La Figure 46 présente la

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

répartition des biomasses racinaires et aériennes des maïs à l'issue de la culture sur les terres industrielles. Les maïs des terres FR03, FR04 et FR05 présentent un système racinaire proportionnellement plus important que les maïs cultivés sur du sable, les distributions étant comprises entre 64 et 79 % de la biomasse totale. Les maïs des terres FR06 et FR07 possèdent également des parties racinaires plus importantes que les parties aériennes, 52 et 54 % respectivement. Au contraire, les maïs cultivés sur les terres suédoises, belges et françaises, FR01 et FR02, présentent des proportions en biomasses aériennes supérieures à celles souterraines, et représentent 30 à 48 % de la biomasse totale en moyenne.

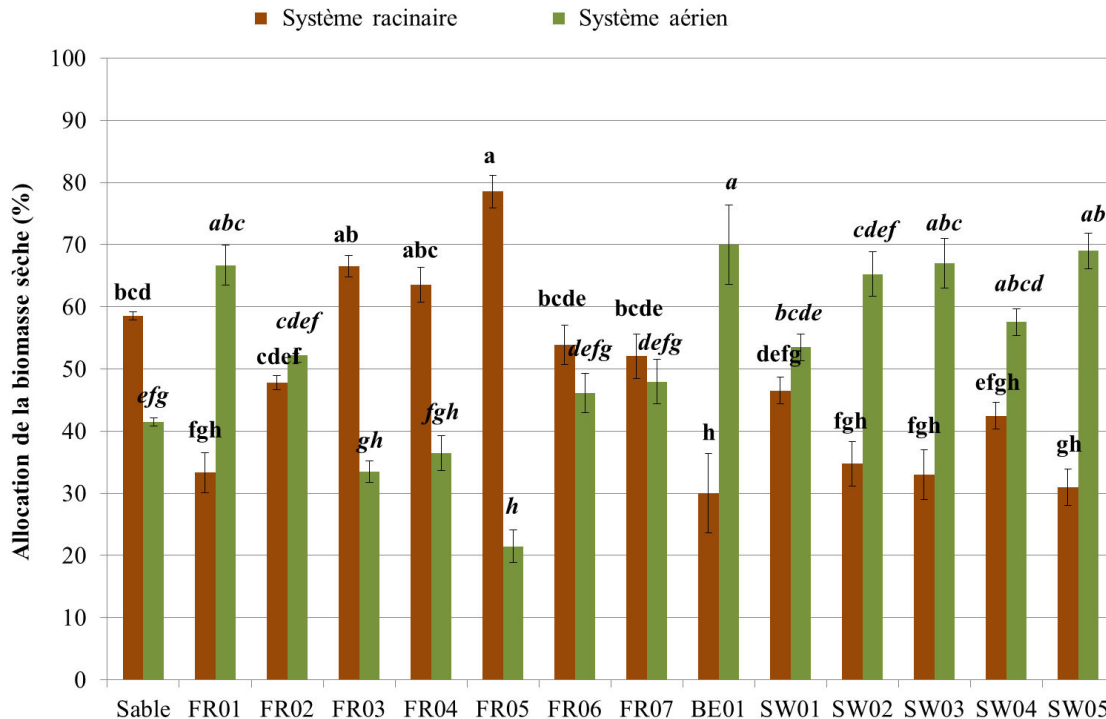


Figure 46 – Allocation de la biomasse (%) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)

Ces différences selon la terre de culture peuvent être issues d'une modification du développement ou d'une inhibition de la production de biomasse. La Figure 47 présente le nombre moyen de feuilles par plante, indicateur du développement de la plante, à l'issue de la culture sur les terres

industrielles. Les maïs des terres suédoises, FR02 et FR03 ne présentent pas de différences significatives avec les maïs cultivés sur le sable et présentent le stade le plus avancé, avec un nombre de feuilles moyen compris entre six et huit par plante. Les plantes des terres FR01, FR04 et SW02 ont en moyenne six feuilles tandis que celles des terres FR05, FR06, FR07 et BE01 présentent des stades phénologiques moins avancés, avec quatre à cinq feuilles par individu en moyenne.

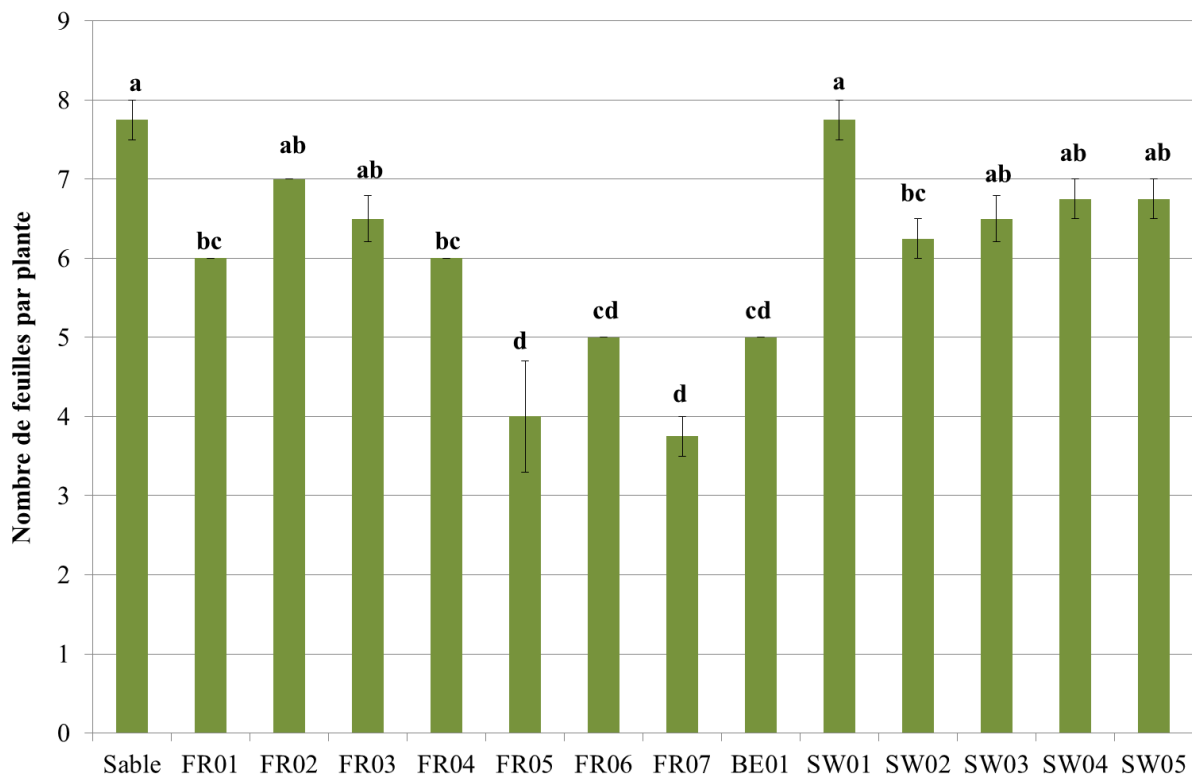


Figure 47 – Nombre de feuilles moyen par plante selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)

Ainsi, sans pouvoir démontrer un effet direct des concentrations en HAP des terres sur la biomasse végétal, ces différences de biomasses totales et d'allocation seraient le résultat d'un développement ralenti. En effet, durant la phase végétative, l'allocation de biomasse aux différents organes de la plante au cours de son cycle se traduit pour l'appareil racinaire par une

réduction progressive de la biomasse au bénéfice de l'appareil aérien (Lövenstein *et al.* 1995). De ce fait, les maïs aux biomasses totales les plus faibles et ayant un système racinaire proportionnellement plus important, FR04, FR05, FR06 et FR07, ne seraient pas au même stade de développement que ceux de contrôle et cultivés sur les terres FR01, FR02, FR03, BE01 et suédoises.

1.2 Géométrie racinaire

Les longueurs totales moyennes des racines de maïs cultivés sur les terres industrielles sont présentées dans la Figure 48.

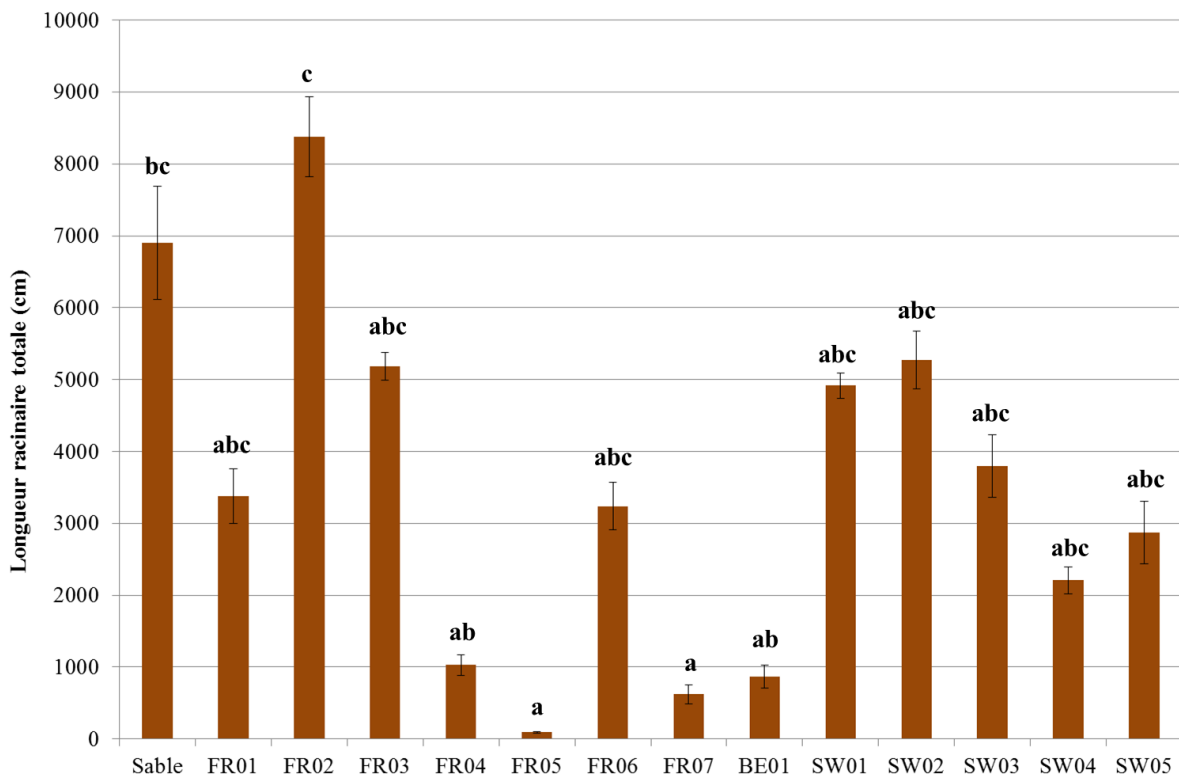


Figure 48 – Longueurs racinaires totales des maïs selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

Les maïs de contrôle ont une longueur racinaire moyenne de 6906 cm par individu, qui tend à être supérieure à celles des maïs cultivés sur les terres industrielles. Une diminution significative ($p < 0,05$) est d'ailleurs observée pour les terres FR05 et FR07, avec des valeurs respectives de 90 et 619 cm. Les maïs de FR04 et BE01 ont également des faibles longueurs racinaires, étant en moyenne de 1027 et 867 cm par plante. Les maïs des terres suédoises ne présentent pas de différence significative entre eux et ont des longueurs racinaires moyennes comprises entre 2207 et 5269 cm par individu, similaires à celles observées pour les terres FR01 (3376 cm), FR03 (5183 cm) et FR06 (3238 cm). Ainsi, les différences observées sur les BMSt sont semblables à celles concernant la longueur totale des systèmes racinaires : les maïs aux biomasses les plus faibles présentent les longueurs racinaires les plus diminuées, tels que FR05 et FR07.

La Figure 49 présente la distribution des diamètres des racines selon sept classes en fonction de la terre industrielle utilisée comme support de culture. Un effet significatif des terres de culture sur les diamètres des racines apparaît ($p < 0,05$). Les maïs de contrôle possèdent essentiellement des racines très fines, aux diamètres inférieurs à 0,2 mm, à hauteur d'environ 48 % de la longueur racinaire totale. De même, les maïs des terres FR01, FR02, SW01, SW02, SW03, et SW05 présentent majoritairement des racines de ce diamètre, avec des proportions respectives de 45, 56, 53, 46, 49 et 43 %. Au contraire, ceux des terres FR03, FR04, FR05, FR06, FR07, BE01 et SW04 montrent une majorité de racines aux diamètres compris entre 0,2 et 0,4 mm, avec des distributions de 41, 34, 22, 36, 35, 45 et 47 % respectivement. Sur ces mêmes terres, les racines aux diamètres compris entre 0,4 et 0,6 mm représentent en moyenne 12, 22, 22, 14, 18, 13 et 10 % de la longueur totale des racines respectives. Elles sont en proportions plus abondantes que dans la modalité contrôle et les terres FR01 et FR02 (7 %), SW01 (6 %), SW02 (8 %), SW03 (6%). Les maïs cultivés sur les terres industrielles ont également des abondances relatives de

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

racines aux diamètres compris entre 0,6 et 0,8 mm plus élevées (variant entre 4 et 9 %) que dans le sable et FR02 (en moyenne 3 %). Des abondances maximales sont observées pour les maïs des terres FR04 et FR05, avec 10 et 23 % respectivement. De même, les classes de racine aux diamètres supérieurs à 0,8 mm pour les terres FR04, FR05, FR06, FR07 et BE01 présentent des abondances relatives supérieures au contrôle et autres terres.

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

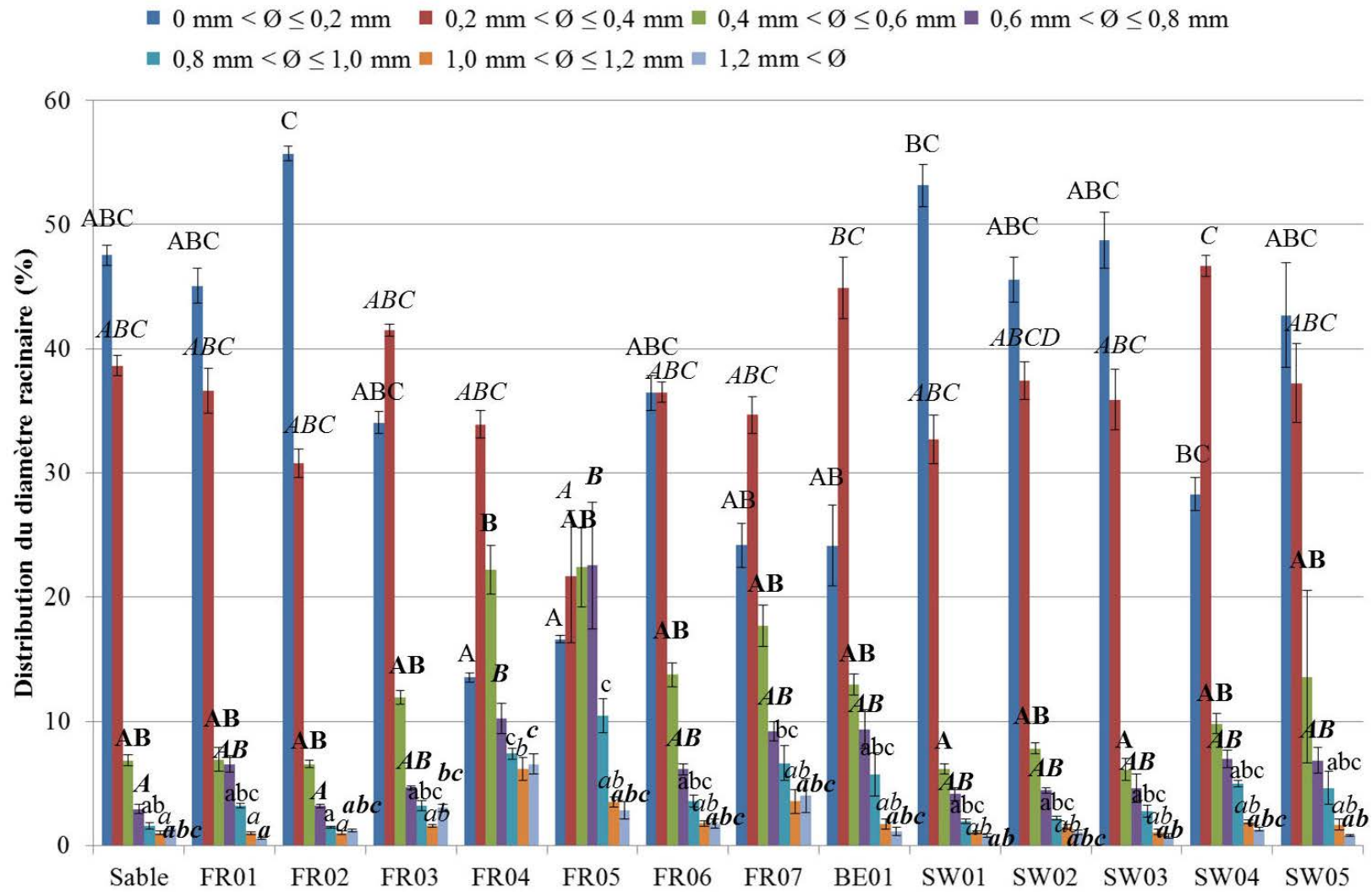


Figure 49 – Distribution du diamètre des racines (mm) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)

Un effet de la terre de culture est donc observé pour chaque paramètre morphologique étudié et une phytotoxicité plus ou moins élevée des terres industrielles historiquement contaminées est mise en évidence, sans toutefois pouvoir démontrer un effet des concentrations en HAP totaux, extractibles par résine Tenax® et dissous dans l'eau porale. L'allocation de la biomasse et le nombre de feuilles à l'issue des quatre semaines de culture indiquent un retard de croissance des maïs des terres FR04, FR05, FR06, FR07 et BE01 en comparaison aux maïs cultivés sur du sable non contaminé. Ces maïs négativement impactés présentent un système racinaire plus court avec des racines plus épaisses.

La surabondance de certains éléments dans les terres pourrait induire cette phytotoxicité mais la caractérisation des terres FR04, FR05, FR06, FR07 et BE01 ne montre pas de valeurs remarquables communes. Chaque dispositif a été préparé de la même façon et exclut un effet possible de la compaction des terres. Au cours de ses travaux, Chaineau (1995) a observé des chloroses sur des feuilles de maïs cultivés sur une terre contaminée en hydrocarbures et a émis l'hypothèse d'une carence en nutriments attribuée à la consommation par les microorganismes responsables de la biodégradation. Une solution nutritive adaptée a été apportée de façon hebdomadaire pour éviter de possibles carences nutritives et les éléments nutritifs ont été dosés dans les tissus des parties racinaires et aériennes des maïs à l'issue de la culture.

1.3 Nutrition minérale

1.3.1 Prélèvement de l'eau

La Figure 50 renseigne sur le statut hydrique des systèmes racinaires et aériens des maïs cultivés sur les terres industrielles contaminées. Sur sable, les plantes ont une humidité pondérale relative moyenne de 87 % pour chaque compartiment. Les plantes cultivées sur les terres ne présentent

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

pas différence significative avec le témoin, hormis les parties aériennes de FR05 avec 47 % d'humidité pondérale relative. BE01 et SW05 présentent également des systèmes racinaires impactés, avec respectivement 43 et 65 % d'humidité pondérale relative, sans diminution significative de leur teneur en eau dans les parties aériennes toutefois.

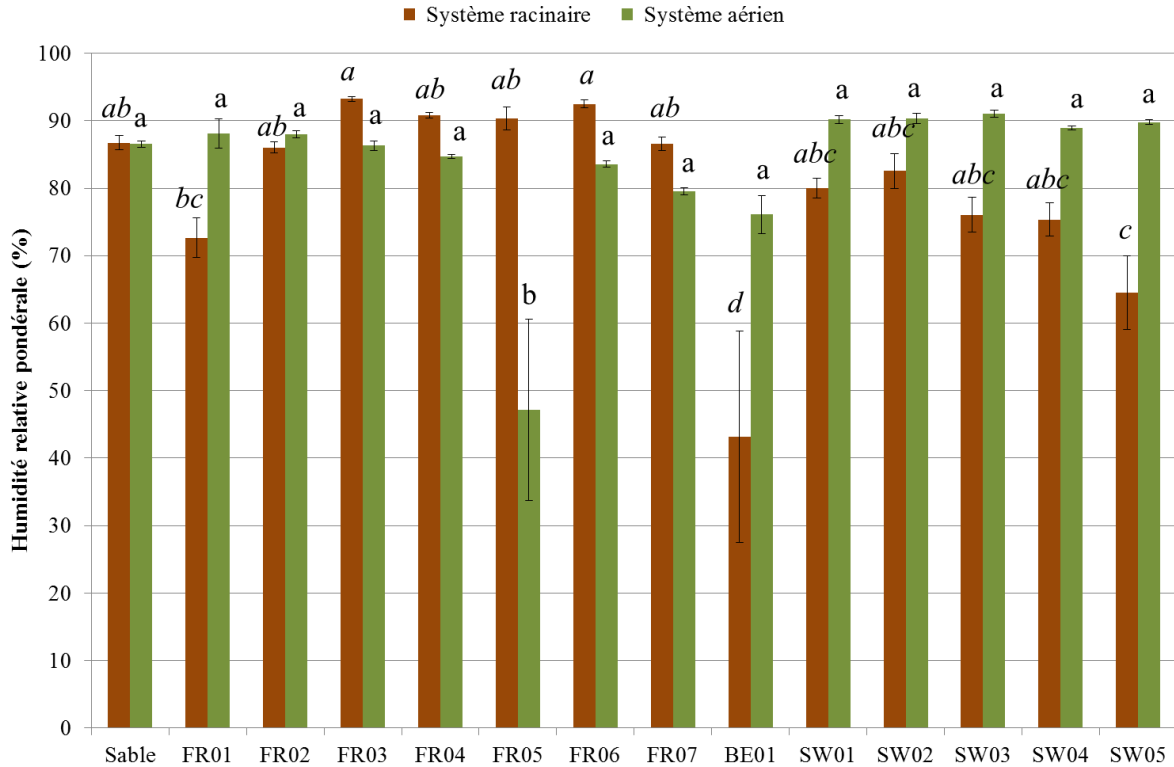


Figure 50 – Humidité pondérale relative (%) des systèmes racinaires et aériens des maïs cultivés sur les terres industrielles contaminées (n=4)

À l'exception de BE01, il semblerait que le prélèvement d'eau par les racines et le transport vertical jusqu'aux feuilles n'aient pas été affectés durant la culture. Cela peut laisser supposer que le prélèvement des minéraux et leur translocation n'ont pas été impactés.

1.3.2 *Éléments dans les racines*

La Figure 51 présente les concentrations $\mu\text{molaires}$ en éléments majeurs (Ca, K, Mg et P) quantifiées dans les parties racinaires de maïs à l'issue des quatre semaines de culture sur les terres industrielles et du sable non contaminé. Un effet des terres de culture est observé ($p < 0,05$) et des tendances apparaissent. Les maïs de contrôle montrent des teneurs de $216 \mu\text{mol g}^{-1}$ en Ca, $98 \mu\text{mol g}^{-1}$ en K, $18 \mu\text{mol g}^{-1}$ en Mg et $37 \mu\text{mol g}^{-1}$ en P. Les maïs de la terre FR05 présentent des teneurs en Ca supérieures significatives ($922 \mu\text{mol g}^{-1}$). Les maïs des terres FR03, FR06 et FR07 tendent à avoir des teneurs en Ca élevées, en moyenne 418, 387 et $566 \mu\text{mol g}^{-1}$ respectivement. Les plantes des terres FR02, FR04, BE01 et de Suède présentent des teneurs variables mais il n'y a pas de différence significative en comparaison avec le témoin pour cet élément. Concernant le K, les teneurs quantifiées dans les maïs des terres FR01, FR05, SW03, SW04 et SW05 sont équivalentes ou inférieures aux contrôles, avec des concentrations moyennes respectives de 138, 66, 135, 87 et $25 \mu\text{mol g}^{-1}$. Les autres plantes ont des teneurs supérieures, variant entre 201 et $408 \mu\text{mol g}^{-1}$. Les maïs des terres FR01, FR04, FR05, FR06, FR07 et SW01 se démarquent avec des fortes teneurs en Mg (232, 242, 96, 100, 125 et $95 \mu\text{mol g}^{-1}$ respectivement) en comparaison aux maïs de contrôle et des terres FR02, BE01 et SW02 à SW05 (18, 52, 65, 44, 39, 51 et $15 \mu\text{mol g}^{-1}$ respectivement). Il n'y a pas de différence significative des teneurs en P entre les maïs cultivés sur les terres industrielles et le sable, exceptée une tendance notable pour les maïs de FR05 et FR07 qui montrent une légère accumulation (85 et $79 \mu\text{mol g}^{-1}$) en comparaison avec le témoin ($37 \mu\text{mol g}^{-1}$).

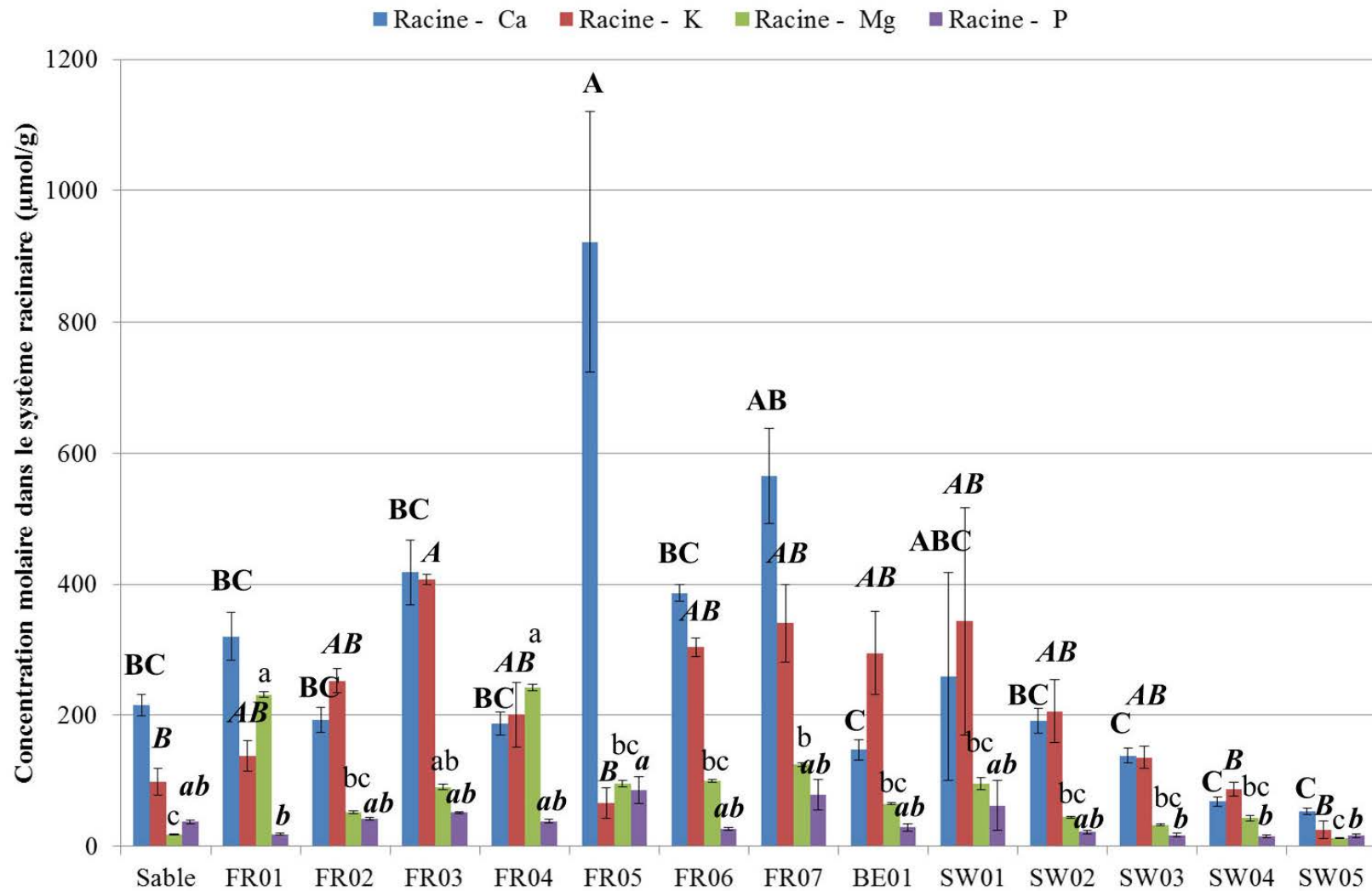


Figure 51 – Concentrations molaires en éléments majeurs dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

Les Figure 52 et Figure 53 présentent respectivement les concentrations molaires en Cu, Mn et Zn, et Fe, quantifiées dans les parties racinaires de maïs. Les autres éléments (B, Cd, Co, Cr, Na, Ni et Pb) ne sont pas présentés, étant en dessous des limites de quantification (LQ respectives de 0,0017 ; 0,0004 ; 0,0005 ; 0,0017 et 0,0403 mg L⁻¹). Les mesures d'azote dans les tissus n'ont pas pu être réalisées du fait d'un manque de biomasse. Un effet des terres de culture est observé. La teneur en Cu dans les maïs cultivés sur sable n'a pas pu être déterminée, étant en dessous de la limite de quantification (LQ = 0,0232 mg L⁻¹). Les maïs de FR04 présentent les teneurs les plus faibles, en moyenne 0,5 µmol Cu g⁻¹, quand les plus élevées sont observées pour SW01 (1,0 µmol Cu g⁻¹) et SW02 (2,4 µmol Cu g⁻¹). La variabilité est faible entre les maïs cultivés sur les terres industrielles mais les maïs à faible biomasse ont de faibles teneurs en Cu dans les racines. Les maïs de contrôle montrent des teneurs de 0,5 µmol g⁻¹ en Mn, 0,4 µmol g⁻¹ en Zn et, 1,7 µmol g⁻¹ en Fe. Les maïs des terres FR02, FR03 et suédoises (à l'exception de SW01) présentent des teneurs en Mn similaires à celles des maïs de contrôle, avec des valeurs moyennes comprises entre 0,3 et 1,3 µmol g⁻¹. Ceux des terres BE01, FR01 et FR06 montrent des teneurs un peu plus élevées, variant entre 2,1 et 2,8 Mn µmol g⁻¹. Des teneurs encore plus importantes sont observées dans les racines de maïs cultivés sur FR04, FR05 et FR07, avec des valeurs respectives de 9,7, 6,3 et 6 Mn µmol g⁻¹. Les maïs FR04 présentent également des concentrations en Zn significativement supérieures à celles des témoins, moyennant 6,8 µmol g⁻¹; de même que les racines de SW01 et SW04 (5,8 et 6,9 µmol g⁻¹ respectivement). Les maïs de FR05, FR07 et BE01 ont également des teneurs en Zn plus élevées mais non significatives, avec des valeurs respectives de 1,8, 2,3 et 2 µmol g⁻¹. De plus, les teneurs en Fe dans les maïs cultivés sur les terres industrielles sont toutes plus élevées que les teneurs observées dans les maïs de contrôle

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

avec des teneurs remarquables pour FR04 ($369 \mu\text{mol g}^{-1}$), FR05 ($281 \mu\text{mol g}^{-1}$), FR07 ($312 \mu\text{mol g}^{-1}$) et SW01 ($127 \mu\text{mol g}^{-1}$). Les teneurs pour les autres maïs varient entre 20 et $89 \mu\text{mol g}^{-1}$.

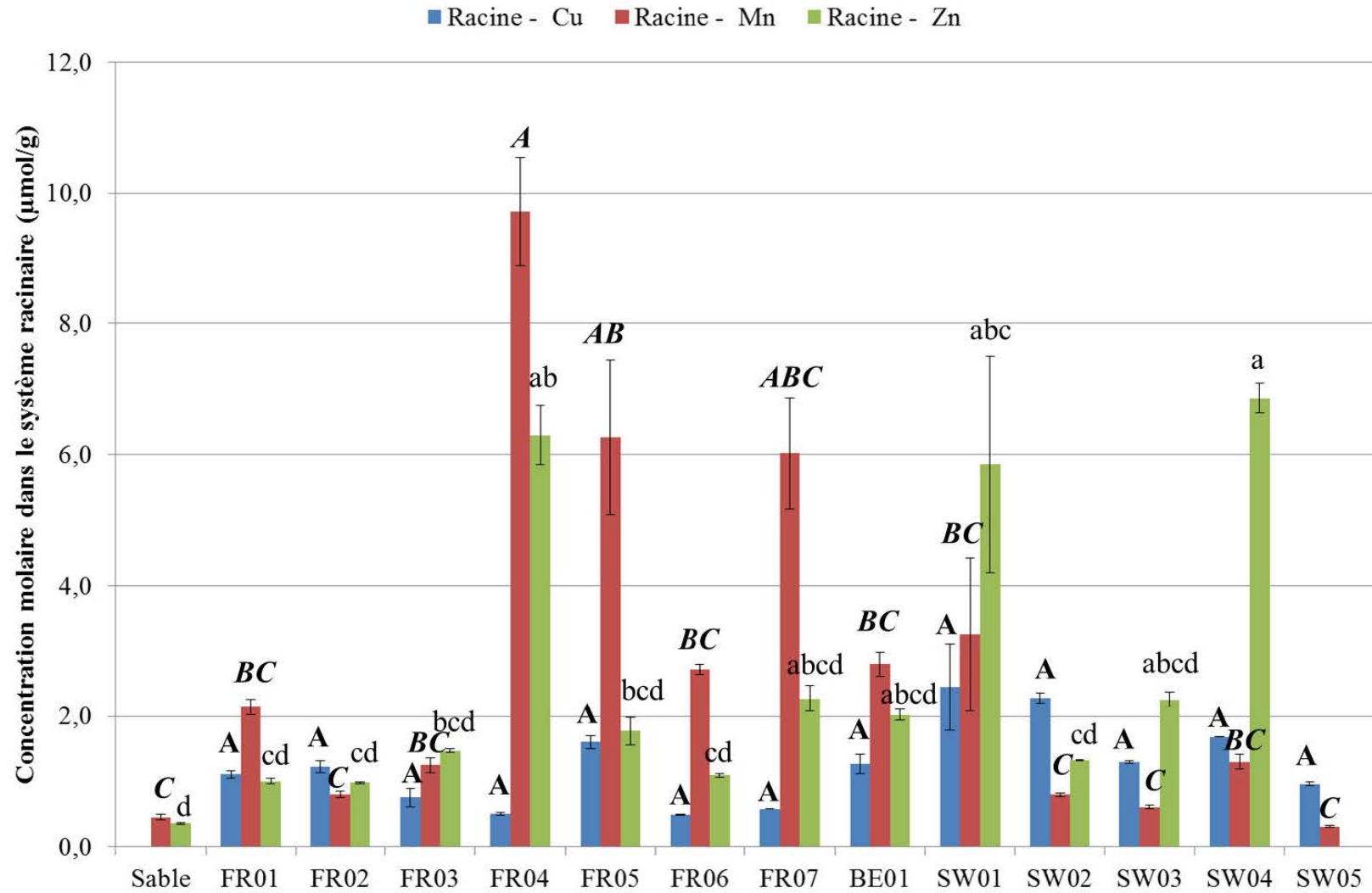


Figure 52 - Concentrations molaires en Cu, Mn et Zn dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 3 et 4)

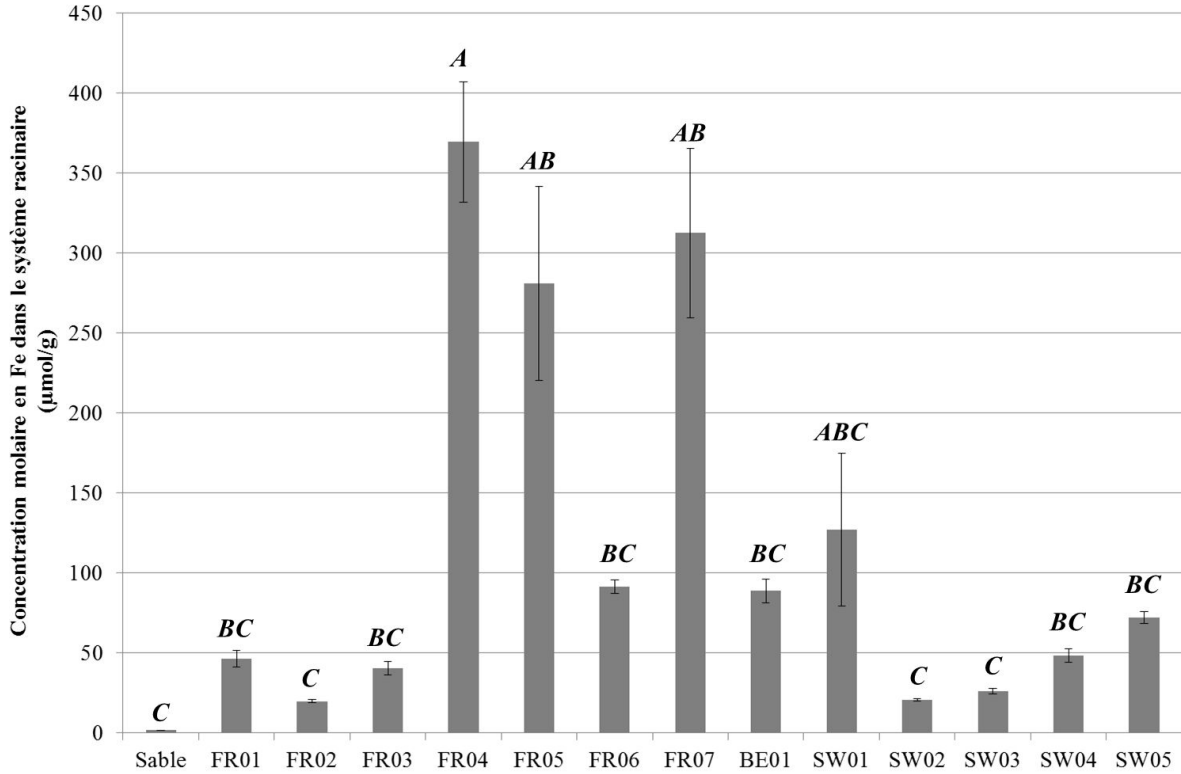


Figure 53 – Concentrations molaires en Fe dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)

Ainsi, les maïs aux BMSt et géométries racinaires les plus impactées, tels que FR04, FR05, FR06, FR07 et BE01, présentent généralement des teneurs en éléments nutritifs dans les racines contrastées par rapport aux témoins et autres maïs cultivés sur terres industrielles avec des accumulations de Ca, Mg, Mn, Zn et Fe. L'analyse en composantes principales (ACP) de paramètres morphologiques racinaires (BMS, HMP, proportion de la longueur racinaire au compris entre 0,2 et 0,4 mm et proportion de la BM racinaire) avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\Sigma 13$ HAP quantifiées dans les racines (Figure 54) permet une meilleure compréhension des réponses de phytotoxicité des racines de maïs cultivés sur les terres industrielles.

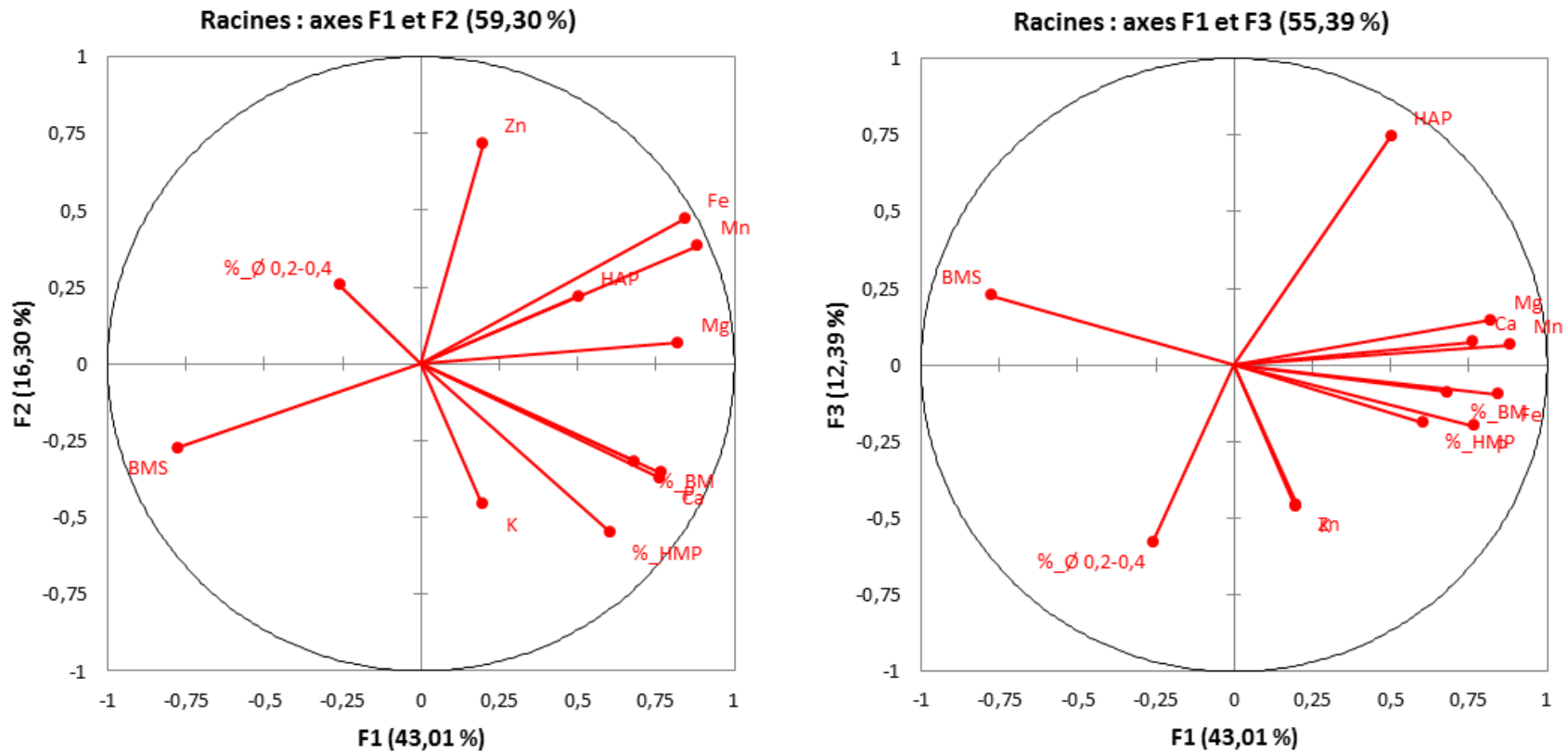


Figure 54 – Représentations des ACP des paramètres morphologiques racinaires avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\Sigma 13$ HAP dans les racines selon deux axes (F2 à gauche et F3 à droite) (BMS : biomasse sèche ; %_ø 0,2-0,4 : proportion des racines de diamètre compris entre 0,2 et 0,4 mm ; %_HMP : humidité pondérale ; % BM : allocation de la biomasse du système racinaire dans la plante entière ; HAP : concentrations en 13 HAP dans le système racinaire ; Zn, Fe, Mn, Mg, Ca, K : concentrations en éléments nutritifs dans le système racinaire)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

La BMS des racines présente notamment des corrélations négatives significatives avec les teneurs en Mg ($R^2 = -0,495$), Fe ($R^2 = -0,806$) et Mn ($R^2 = -0,708$), qui seraient positivement corrélées à la teneur en HAP mesurées dans les racines (R^2 de 0,581, 0,434 et 0,605 respectivement). La teneur en HAP aurait également un effet négatif significatif sur la proportion de racines à diamètre compris entre 0,2 et 0,4 mm, R^2 étant égal à $-0,372$. Les HAP dans les racines auraient un effet sur la nutrition des racines. Leur accumulation entraînerait alors une diminution de la biomasse des racines. L'étude des concentrations de ces éléments dans les feuilles devrait renseigner sur leur translocation et sur le fonctionnement global du maïs sur ces terres de culture.

1.3.3 Éléments dans les parties aériennes

Les Figure 55 et Figure 56 présentent respectivement les concentrations molaires en éléments majeurs (Ca, K, Mg et P) et traces métalliques (Cu, Mn, Zn et Fe) quantifiées dans les parties aériennes de maïs à l'issue de la culture sur les terres industrielles et du sable non contaminé. Les autres éléments (B, Cd, Co, Cr, Na, Ni et Pb) ne sont pas présentés, étant en dessous des limites de quantification (LQ respectives de 0,0232 ; 0 ; 0,0011 ; 0,0007 ; 0,1911 ; 0,0007 et 0,0020 mg L⁻¹). De même, les mesures sur les maïs de FR05 et BE01 n'ont pas pu être réalisées du fait d'un manque de biomasse. Un effet des terres de culture est observé ($p < 0,05$) et des tendances apparaissent. Les maïs de contrôle montrent des teneurs en macroélément de 123 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en Ca, 188 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en K, 98 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en Mg et 34 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en P. Quant aux concentrations molaires en microéléments, elles sont de 0,6 $\mu\text{mol Cu g}^{-1}$, 0,7 $\mu\text{mol Mn g}^{-1}$ et 1,2 $\mu\text{mol Fe g}^{-1}$, le Zn n'ayant pas pu être dosé dans les contrôles (LQ de 0,0514 mg L⁻¹). Les maïs des terres FR01, FR06, FR07 et SW03 présentent des teneurs en Ca supérieures à celles des témoins, avec des valeurs moyennes respectives de 251, 208, 241 et 197 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Dans les maïs des autres terres, les valeurs varient entre 77 et 140 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Les maïs des terres FR01 et FR04 présentent également

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

des teneurs en Mg supérieures significatives par rapport aux maïs de contrôle, ces valeurs étant respectivement de 252 et 198 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Les concentrations en Mg observées dans les maïs cultivés sur les autres terres varient en moyenne de 59 à 111 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Les maïs des terres FR02, FR03 et FR07 ont également des teneurs en P plus élevées que les témoins, celles-ci étant de 50, 61 et 47 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Autrement, les valeurs sont comprises entre 22 et 32 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Enfin, de très fortes accumulations en K sont observées, allant de 579 à 1046 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Comme pour les racines, les feuilles de FR04, FR06 et FR07 présentent de fortes teneurs en Mn en comparaison avec les témoins, avec en moyenne 1,8, 1,4 et 1,6 $\mu\text{mol g}^{-1}$ respectivement. Les teneurs en Cu sont très faibles et sont significativement inférieures dans les maïs cultivés sur les terres industrielles en comparaison avec les maïs de contrôle, les valeurs varient entre 0,11 et 0,23 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Quant aux teneurs en Zn et Fe, elles ne semblent pas significativement affectées par la terre de culture mais varient respectivement entre 0,8 et 3,1 $\mu\text{mol g}^{-1}$ et 1,1 et 2 $\mu\text{mol g}^{-1}$.

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

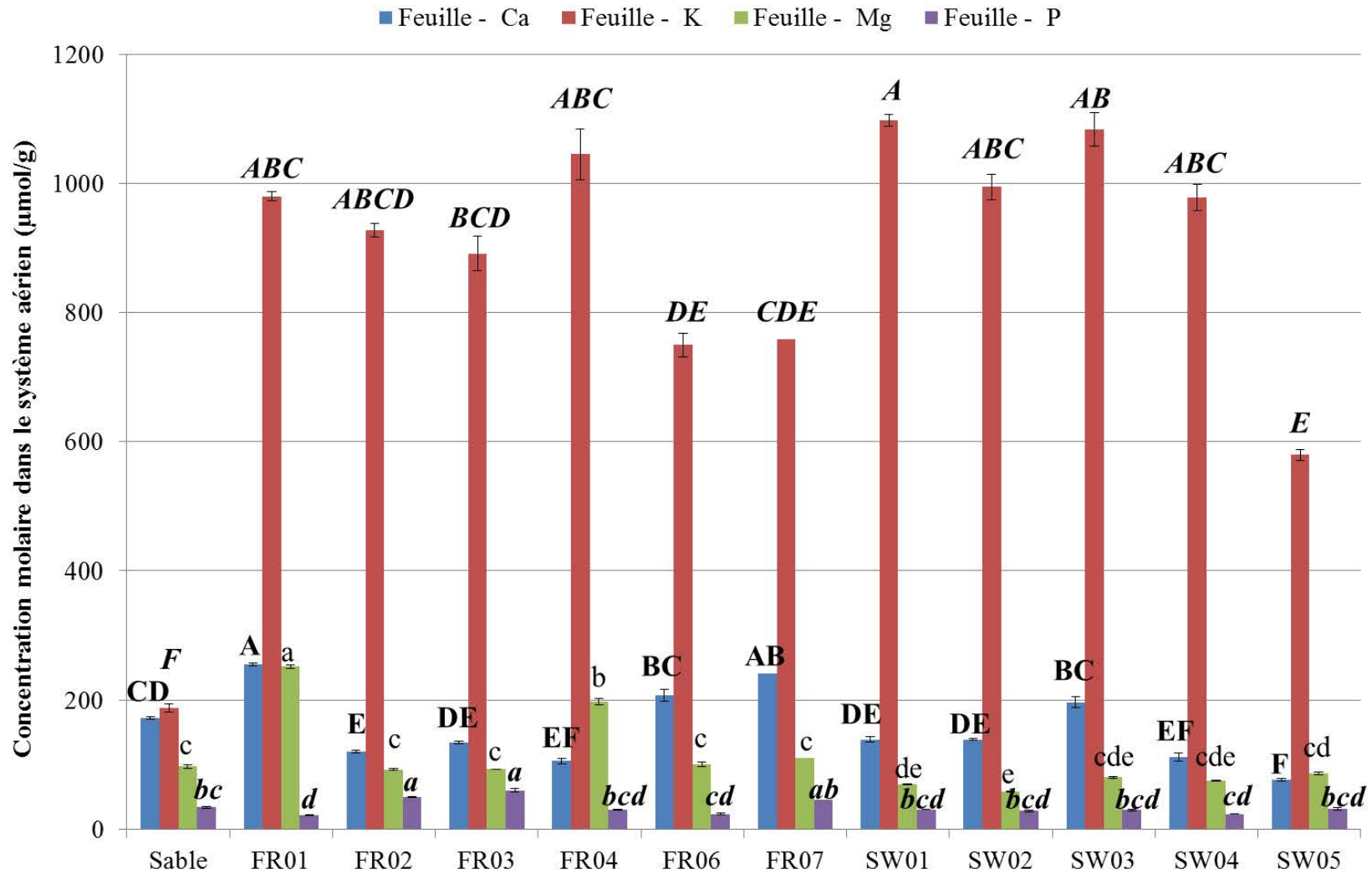


Figure 55 - Concentrations molaires en éléments majeurs dans le système aérien selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

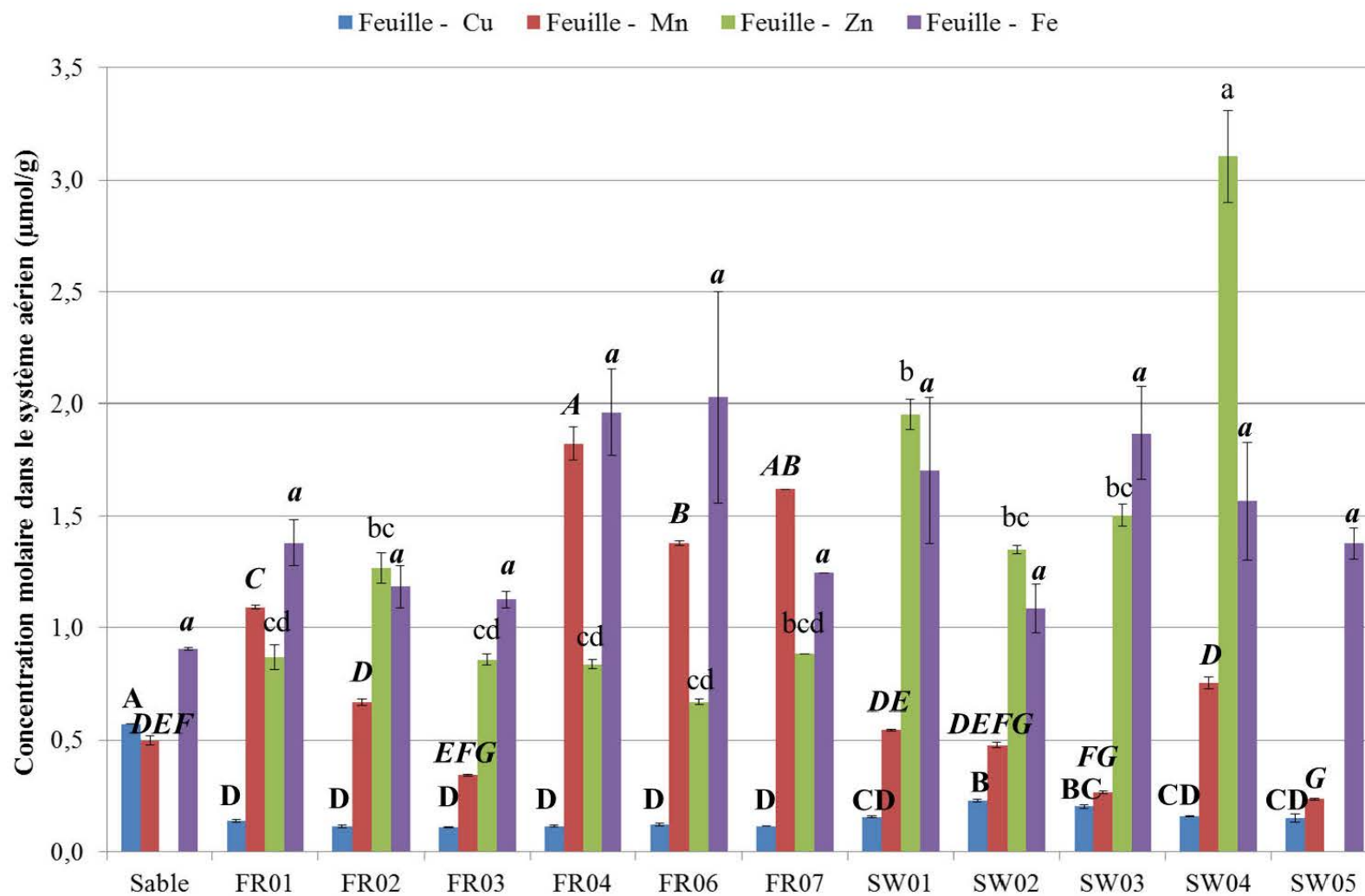


Figure 56 - Concentrations molaires en éléments traces métalliques dans le système aérien selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

L'analyse en composantes principales (ACP) de paramètres morphologiques du système aérien (BMS, HMP, nombre de feuilles et proportion de la BM aérienne) avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\sum 13$ HAP quantifiées (Figure 57) permet une meilleure compréhension des réponses de phytotoxicité du système aérien de maïs cultivés sur les terres industrielles. La teneur en HAP dans les parties aériennes semble limiter la translocation des éléments Zn et Cu, comme l'indiquent les R^2 significatifs de $-0,391$ et $-0,397$. Le Zn présente toutefois des corrélations positives significatives avec la BMS aérienne ($R^2 = 0,367$) et le nombre de feuilles ($R^2 = 0,357$). L'accumulation de Ca et Mn aurait également un effet négatif sur le nombre de feuilles (R^2 respectifs de $-0,528$ et $-0,538$), ainsi que sur la BMS pour ce dernier élément ($R^2 = -0,309$).

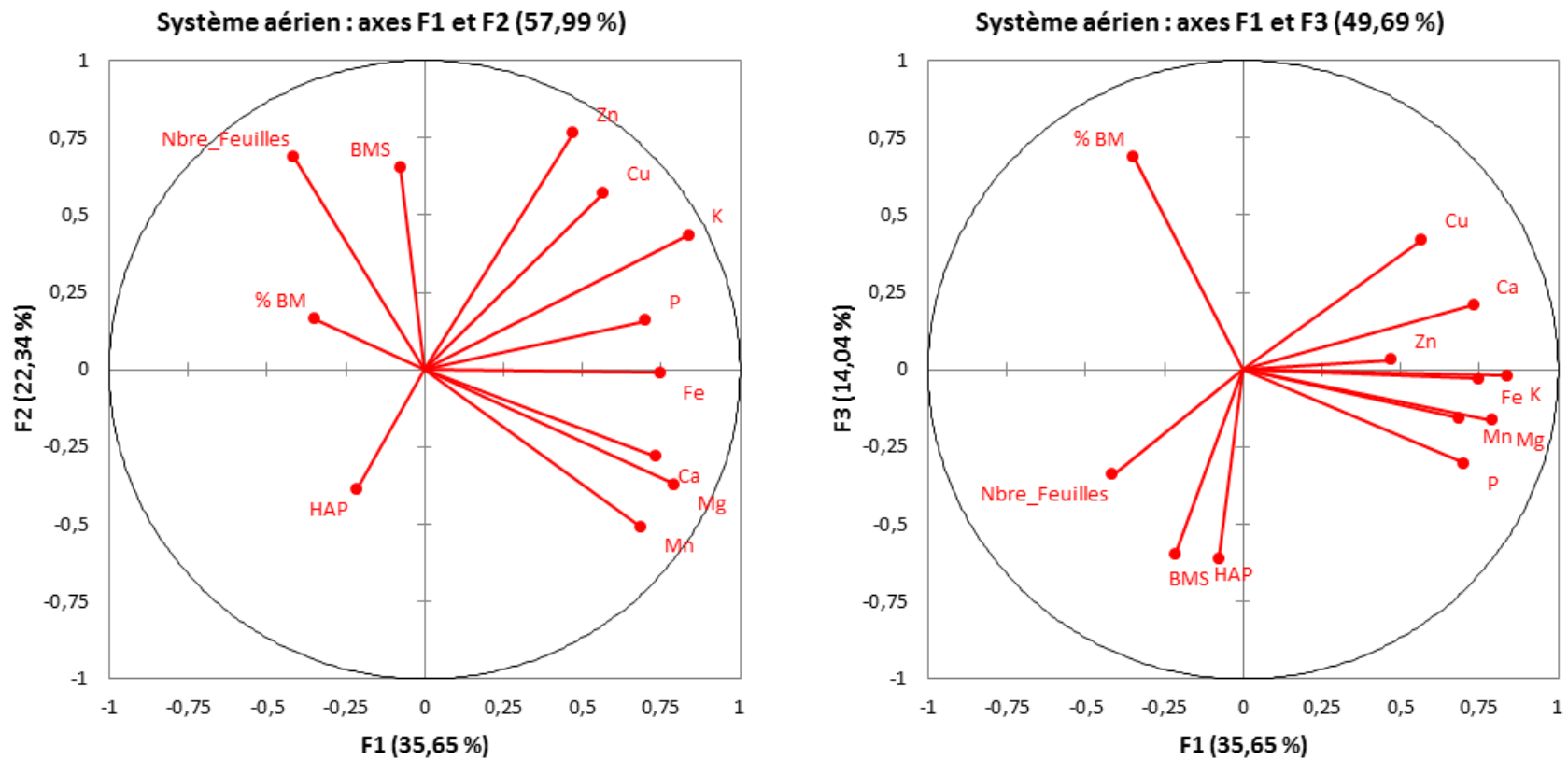


Figure 57 - Représentations des ACP de paramètres morphologiques du système aérien avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\Sigma 13$ HAP dans les parties aériennes selon deux axes (F2 à gauche et F3 à droite) (BMS : biomasse sèche ; Nbre_Feuilles : nombre de feuilles par plante ; %_HMP : humidité pondérale ; % BM : allocation de la biomasse du système aérien dans la plante entière ; HAP : concentrations en 13 HAP dans le système aérien ; Zn, Cu, K, P, Fe, Ca, Mg, Mn : concentrations en éléments nutritifs dans le système racinaire)

Ainsi, les symptômes phytotoxiques identifiés dans la plante semblent liés aux teneurs en certains éléments dans les racines et les parties aériennes et non aux HAP accumulés. Ces différences nutritionnelles peuvent être liées aux propriétés agronomiques très hétérogènes d'une terre à l'autre et/ou aux teneurs en HAP totaux.

1.4 Effets des terres sur le fonctionnement du maïs

L'analyse en composantes principales (ACP) des propriétés agronomiques des terres industrielles (Figure 58) indique de fortes corrélations positives entre les teneurs en argile et les éléments quantifiés dans les terres. La fraction fine concentrerait la majorité des éléments (P, Ca, Mg, K, Fe, Na, Zn, S, Co, Pb, Cd, Cr et Ni), dont les teneurs montrent des corrélations négatives significatives avec les BMS racinaires (R^2 entre - 0,338 et - 0,670). De même, la BMS aérienne serait négativement affectée par le Mn et le Ca présents en fortes concentrations dans les terres (R^2 respectifs de - 0,322 et - 0,529). Les teneurs en HAP n'auraient que très peu d'effet sur la BMS des deux parties de la plante, les concentrations en HAP totaux ayant des R^2 de - 0,062 et - 0,024 et les HAP dissous (méthode POM) ayant des R^2 de - 0,150 et - 0,193 avec les racines et les parties aériennes respectivement.

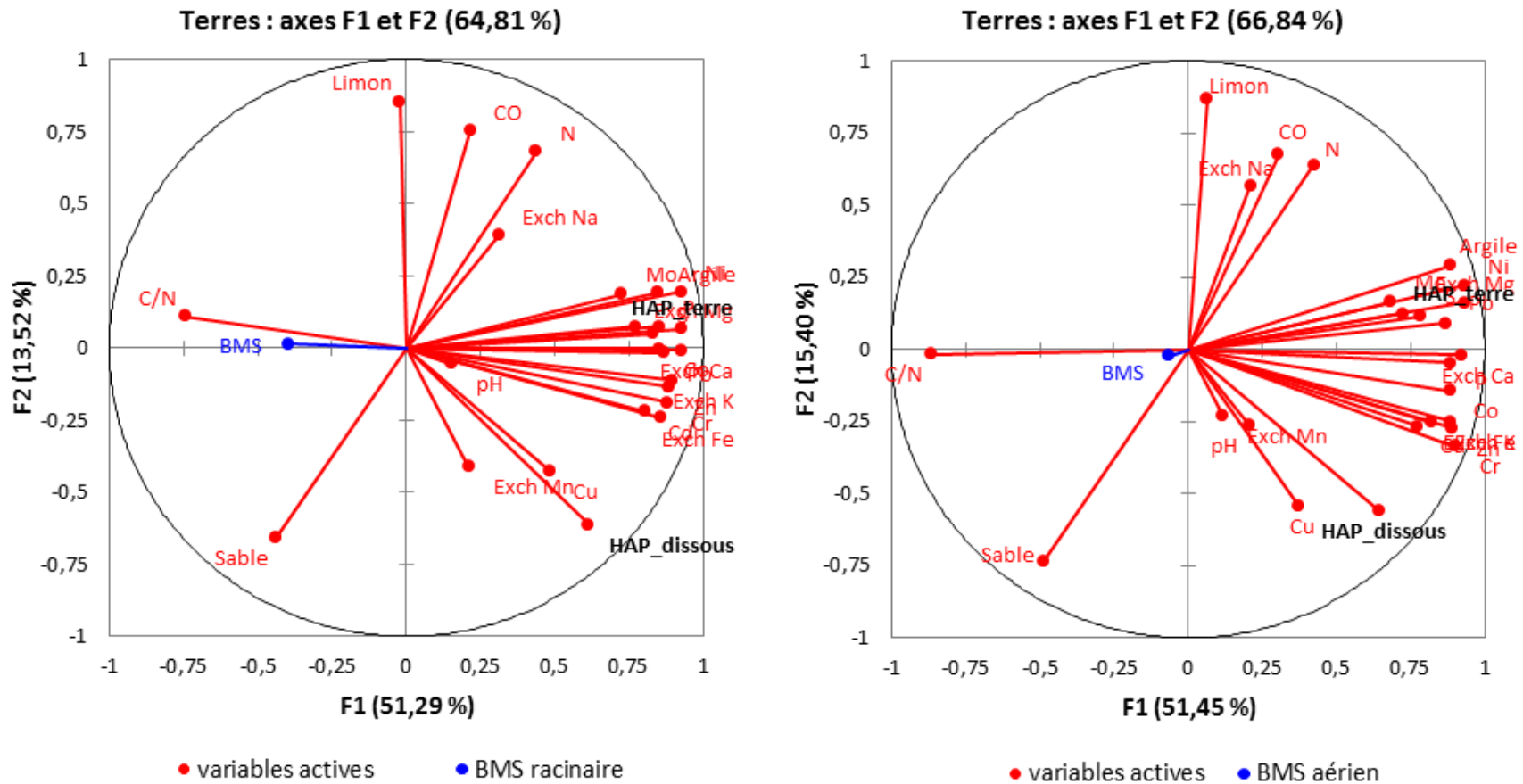


Figure 58 - Représentations des ACP des BMS racinaires (à gauche) et aériennes (à droite) avec les propriétés agronomiques des terres industrielles selon les axes 1 et 2 (C/N : ratio Carbone/Azote; Limon, Argile, Sable : texture ; CO : concentration en carbone organique ; Exch : éléments échangeables ; HAP_dissous : concentrations des 13 HAP dissous dans la solution ; HAP_terre : concentrations des 13 HAP totaux)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

Ainsi, les terres industrielles ont induit des réponses de phytotoxicité chez le maïs. Les individus les plus affectés présentent une forte diminution de la BMSt (Chaineau 1995; Henner *et al.* 1999; Baldyga *et al.* 2005; Merkl *et al.* 2005a; Smith *et al.* 2006), accompagnée de modifications morphologiques du système racinaire, comme cela est souvent rapporté (Wittig *et al.* 2003; Baldyga *et al.* 2005; Alkio *et al.* 2005; Liu *et al.* 2009a; Kummerová *et al.* 2012, 2013). L'allocation de la biomasse et le nombre de feuille indiquent un retard de développement (Lövenstein *et al.* 1995), peut-être dû à une toxicité métallique. En effet, des différences au niveau du statut nutritionnel des plantes sont observées dans les racines et les feuilles. Les maïs cultivés sur les terres industrielles présentent d'importantes teneurs en Ca, K, Mn, Zn et Fe dans les racines mais l'observation la plus remarquable est l'accumulation de K dans les parties aériennes. Toutefois, aucun lien direct avec les concentrations en HAP totaux ou dissous dans l'eau porale n'a pu être établi. Les caractéristiques agronomiques des terres sont très hétérogènes mais la pollution métallique semble être à l'origine des réponses toxiques des maïs et pourrait masquer une action des HAP sur le fonctionnement de la plante. La mise en œuvre d'une culture sur un support neutre limiterait les interactions entre les HAP et le milieu et amplifierait les réponses toxiques pour une meilleure visibilité. De même, les conditions de culture doivent être optimales pour ne pas masquer les effets du polluant sur les paramètres étudiés. Une culture sur sable complétement par une solution nutritive a ainsi été réalisée, intégrant plusieurs niveaux de concentration d'une seule molécule de HAP, le PHE, d'origine artificielle et fait l'objet de la partie suivante du chapitre.

2 Fonctionnement du maïs exposé au PHE

2.1 Devenir du PHE dans le milieu

2.1.1 Observation du PHE au sein du support de culture

Afin de vérifier que le PHE était bien adsorbé sur les grains de sable, ces derniers ont été observés après 10 jours de culture (Expérience I) par microscopie à épifluorescence grâce au filtre UV-1A. Le PHE n'était pas visible dans le sable contrôle (Figure 59, A). Des amas de PHE étaient bien visibles à 50 et 150 mg PHE kg⁻¹, avec une intensité lumineuse plus importante à 150 mg PHE kg⁻¹ (Figure 59, C) qu'à 50 mg PHE kg⁻¹ (Figure 59, B).

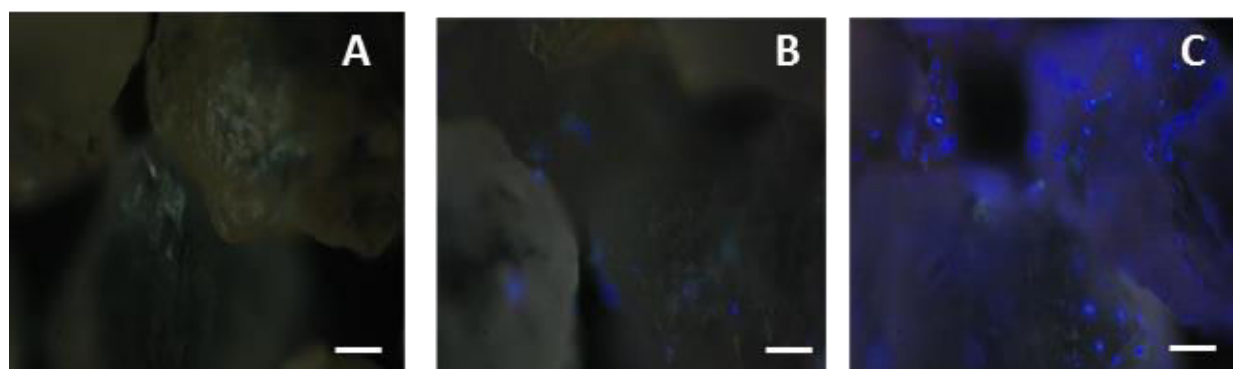


Figure 59 - Photographies couleurs, prises sous UV-1A, des grains de sable 10 jours après contamination à (A) 0, (B) 50 et (C) 150 mg PHE kg⁻¹. Barre blanche = 300µm.

2.1.2 Devenir dans le temps

La quantification du PHE total (Figure 60) à l'issue de la culture (Expérience II) indique une très forte dégradation du polluant avec des effets significatifs de la concentration initiale et de la plante ($p < 0,05$). Les concentrations les plus élevées, 34 et 54 µg kg⁻¹, sont respectivement observées pour la modalité avec plante aux concentrations initiales de 500 et 750 mg kg⁻¹. La

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

plante aurait donc limité la dégradation du PHE. Toutefois, il existe un facteur de plus de 1000 entre les concentrations initiales et finales, que ce soit avec ou sans plante.

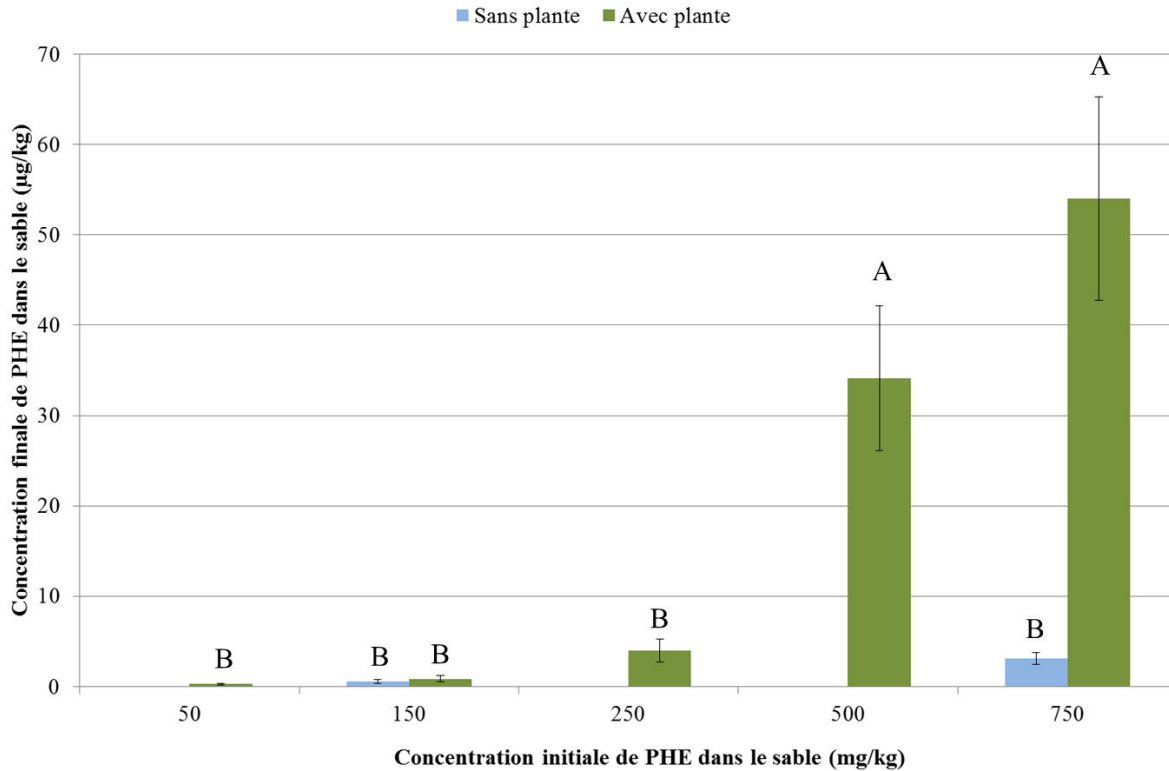


Figure 60 – Concentrations finales de PHE dans le sable à l’issue de l’expérimentation avec et sans plante (n = 6)

La quantification du PHE dissous au cours du temps renseigne sur l’exposition des racines par l’eau porale durant la culture (Figure 61). Une analyse de variance à trois facteurs montre un effet significatif du temps et de la concentration initiale en PHE mais pas d’effet lié à la présence de la plante sur la dégradation du polluant. Les concentrations en PHE dans l’eau porale dépendent de la concentration initiale dans le sable : 22, 55, 50, 78 et 89 $\mu\text{g L}^{-1}$ en moyenne le premier jour pour des concentrations dans le sable de 50, 150, 250, 500 et 750 mg kg^{-1} . Ces concentrations diminuent avec le temps. Au 8^{ème} jour, la concentration en PHE dissous varie entre 3 et 5 $\mu\text{g L}^{-1}$,

quelle que soit la concentration initiale dans le sable, jusqu'à être quasiment nulle dès la troisième semaine pour toutes les niveaux de PHE testés.

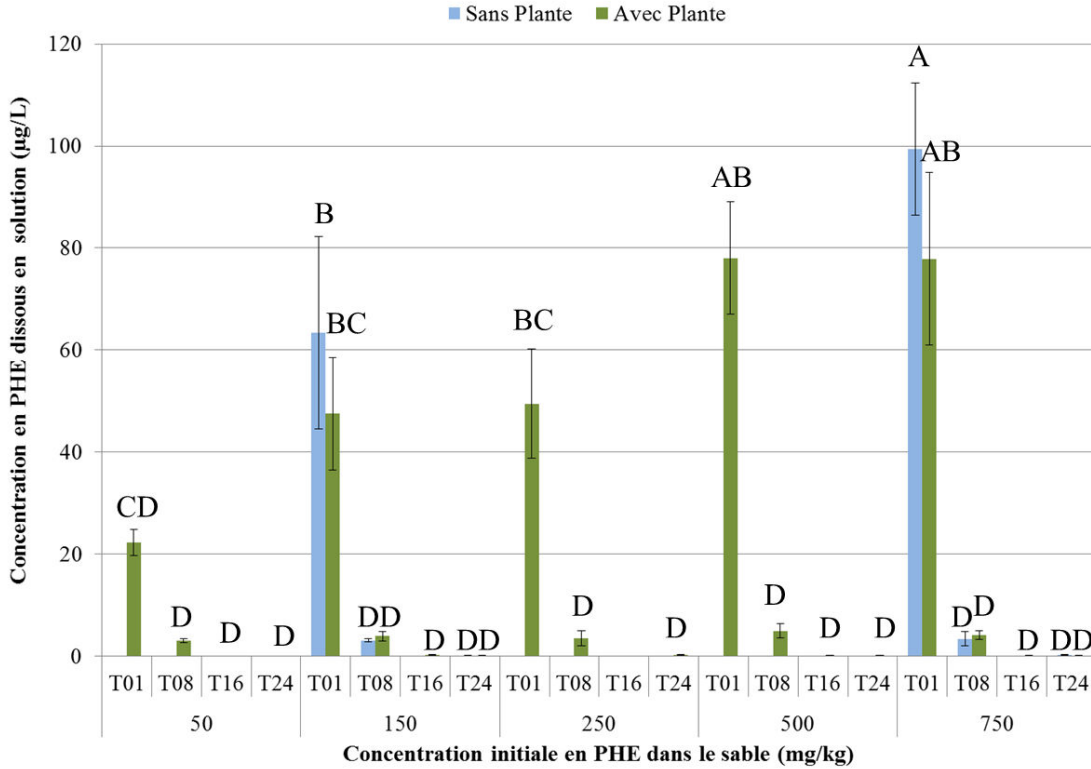


Figure 61 – Évolution temporelle des concentrations en PHE dissous en fonction de la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 3 et 6)

Les pots de culture en verre limitent la sorption du PHE sur les parois, également enveloppés de bâche noire à l'extérieur pour empêcher la photodégradation du polluant dans le milieu. La dégradation du polluant serait donc principalement liée à l'activité microbienne du milieu. Cette activité est confirmée par la diminution dans le temps des nitrates en l'absence de plante (Figure 62). Au début de la culture, les concentrations moyennes en nitrates sont de 810, 765 et 740 mg L⁻¹ dans les milieux avec des concentrations initiales dans le sable de 0, 50 et 150 mg PHE kg⁻¹ respectivement. Ces différences significatives d'assimilation du nitrate peuvent être liées à une augmentation de l'activité microbienne (Ambrosoli *et al.* 2005) du fait de teneurs plus élevées en PHE dans le milieu. Une dégradation peut se produire en présence des ions nitrates qui assurent

le rôle de réducteur dans les biodégradations anaérobies de HAP comme le PHE (McNally *et al.* 1999; Chang *et al.* 2002). Le restant de la culture, les teneurs en nitrates sont similaires entre elles, d'une moyenne de 695 mg L⁻¹.

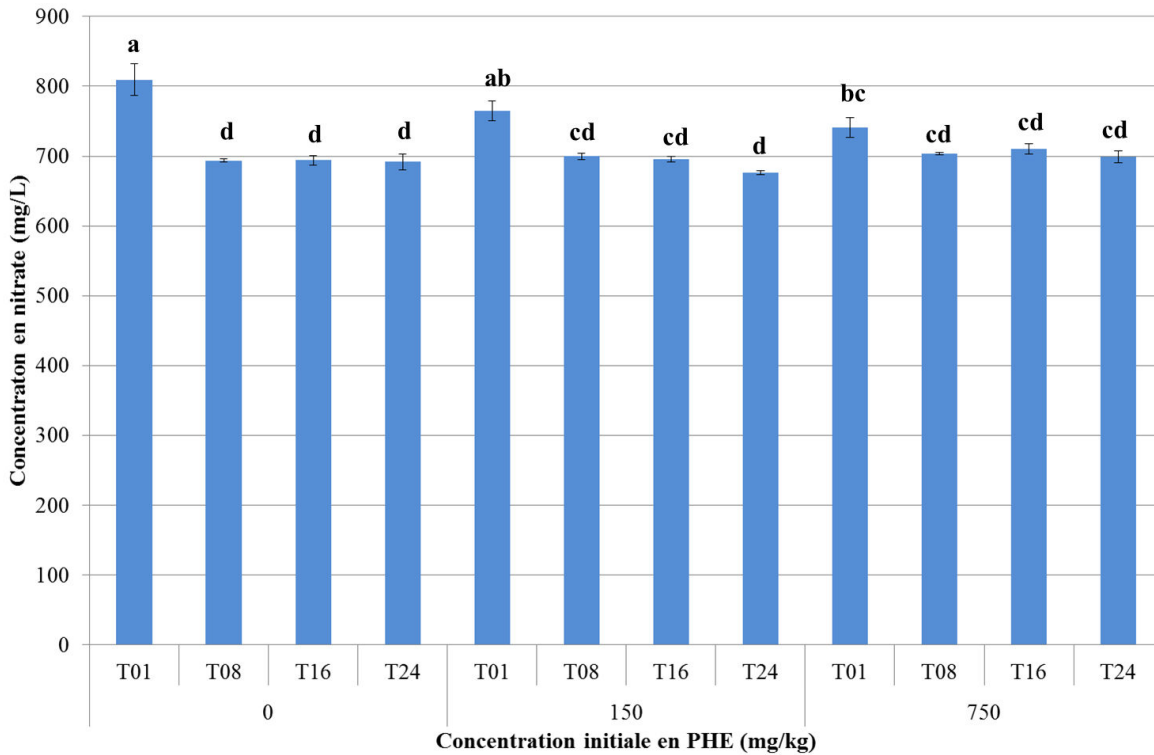


Figure 62 – Concentrations initiales et finales de nitrate en solution en solution lors de l'expérience sans plante (n = 3)

En conclusion, la quantification du PHE total dans le sable à l'issue de la culture de l'expérience II indique une dégradation quasi-totale du polluant dans le milieu et celle-ci est d'autant plus marquée en l'absence de plante. Du PHE est pourtant encore visible après 10 jours de culture lors de l'expérience I. Il semble que l'inoculum bactérien apporté dans les dispositifs de culture lors de l'expérience II ait eu l'effet opposé à celui recherché et aurait accéléré la dégradation du PHE par rapport à l'expérience I. L'exposition des plantes au PHE ne serait donc pas constante, voire nulle à partir d'un certain laps de temps non défini. Les teneurs de PHE en solution à 8 j de

culture confirment la présence du HAP dans le milieu à des concentrations similaires, malgré d'importantes différences de concentrations initiales dans le sable. L'observation d'amas de PHE sur des grains de sable en microscopie du PHE après 10 j de culture sur les grains de sable indique aussi une sorption homogène du polluant dans le substrat. La diminution dans le temps des teneurs en nitrate dans les milieux sans plante démontre une activité microbienne, principal acteur de la dégradation des HAP dans les sols (Ambrosoli *et al.* 2005; Haritash *et al.* 2009). Celle-ci serait plus importante au début aux concentrations en PHE les plus élevés jusqu'à atteindre l'équilibre, observée ici à 8 j avec une concentration de PHE dissous de 3 mg L⁻¹.

2.2 Réponses physiologiques du maïs

2.2.1 Allocation de la biomasse

À l'issue des 28 j de culture (Expérience II), six maïs sur six ont été récoltés pour la modalité témoin. En présence de PHE, quatre maïs sur six ont survécu lors d'exposition à 50, 150, 250 et 500 mg PHE kg⁻¹ contre cinq sur six à 750 mg PHE kg⁻¹.

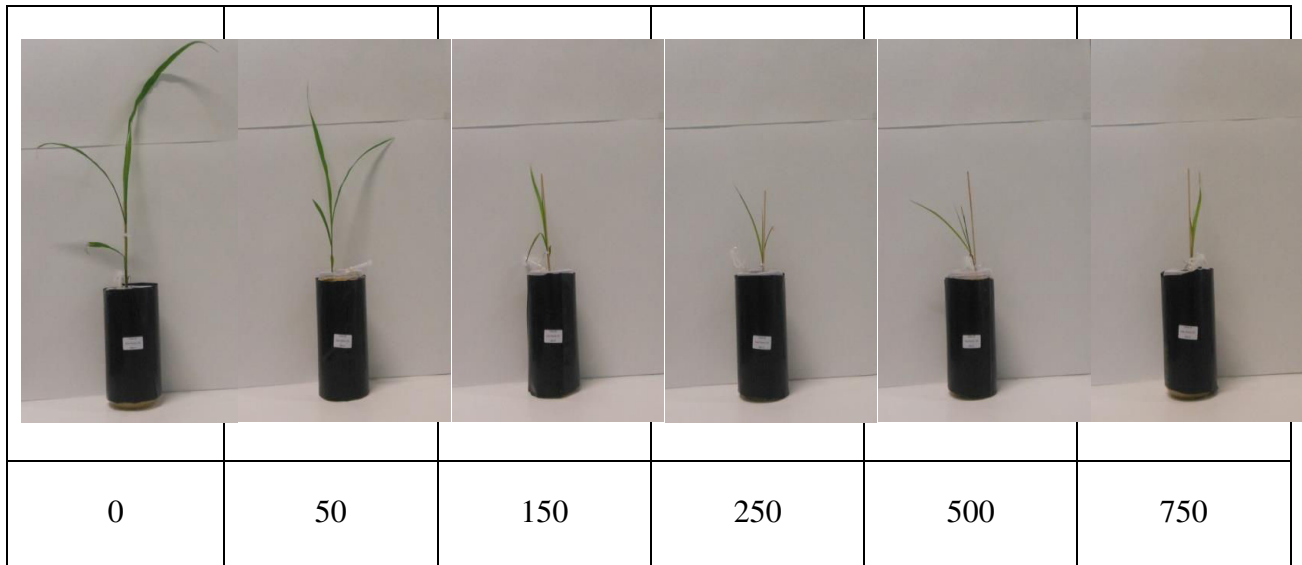


Figure 63 – Photographies illustrant des plants de maïs en pot de culture après 28 j de culture sur sable complétement en solution nutritive et artificiellement contaminé en PHE selon plusieurs niveaux de concentration (mg PHE kg⁻¹)

Malgré un taux de survie élevé, les maïs exposés au PHE présentent des BMSt significativement réduites ($p < 0,05$), variant entre 0,6 et 0,22 g, soit une diminution de 75 % en comparaison avec la modalité de contrôle, ayant une BMSt moyenne de 0,88 g par plante.

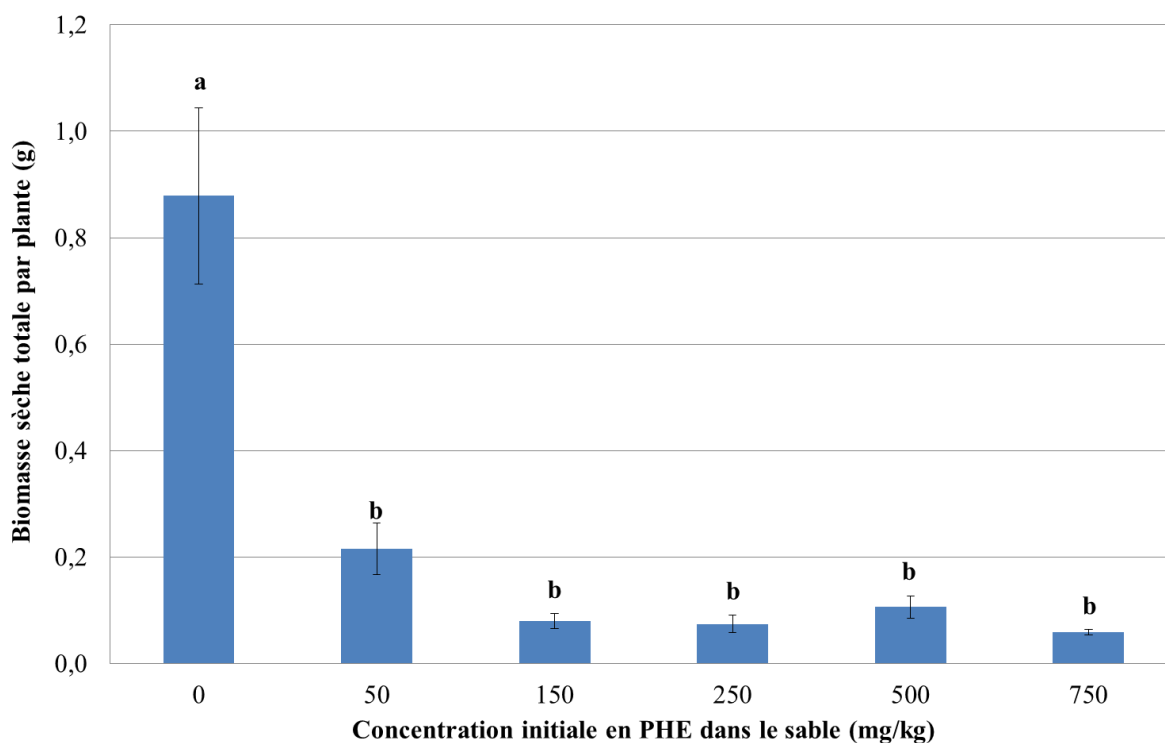


Figure 64 - Biomasses sèches totales par plante (g) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)

Des différences significatives dans l'allocation de biomasse sèches sont également observées ($p < 0,05$). La proportion de racines s'élève en moyenne à 29 % de la BMS_t des maïs exposés au PHE, alors qu'elle n'est que de 20 % pour les plantes cultivées sur sable non contaminé. Toutefois, cette augmentation est indépendante du gradient croissant de concentration en PHE. L'exposition en PHE a également induit une diminution significative de la proportion de la tige. Étant en moyenne de 27 % pour les maïs de contrôle, elle diminue de 21 à 15 % selon des niveaux croissants de 50 à 750 mg PHE kg⁻¹. La proportion du système foliaire n'est pas affectée par l'exposition en PHE et représente approximativement 54 % de la BMS_t toutes concentrations en PHE dans le sable confondues.

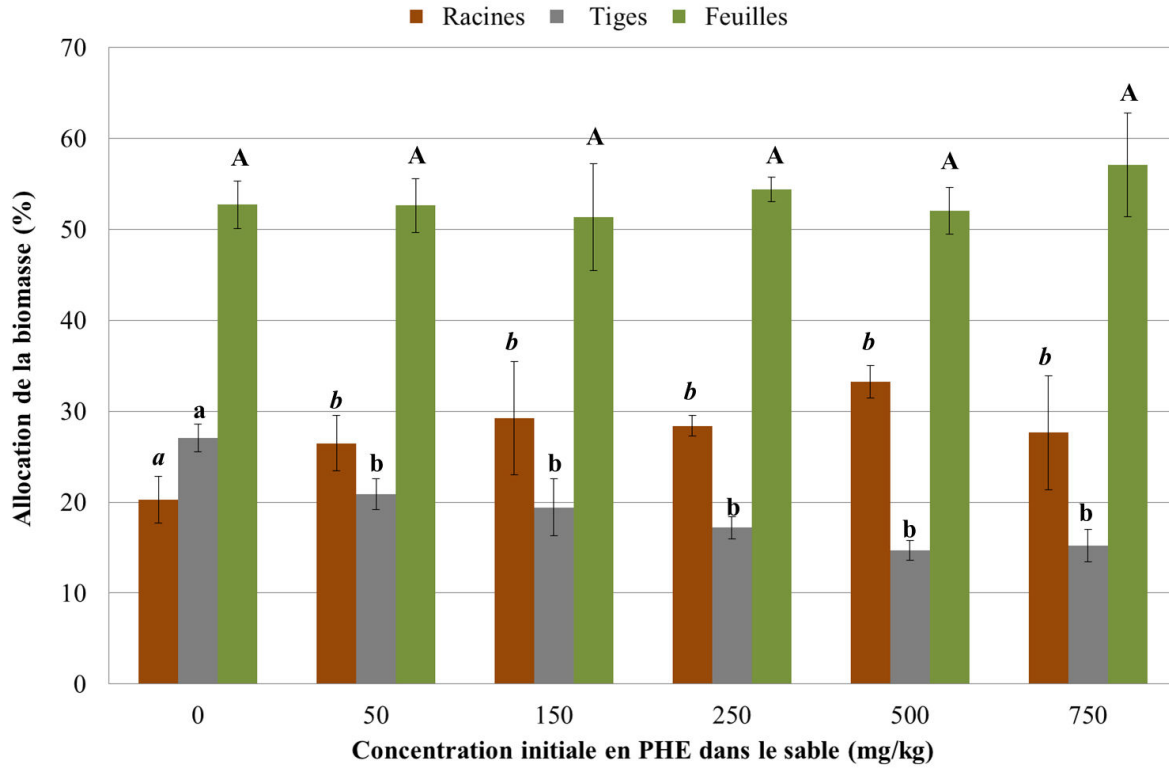


Figure 65 – Allocation de la biomasse (%) du maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)

2.2.2 Géométrie du système foliaire

Le Tableau 9 présente les caractéristiques géométriques du système foliaire mesurées à l'issue de la culture sur sable. Les plantes exposées au PHE possèdent en moyenne quatre feuilles, contre cinq pour la modalité témoin. Toutefois, les feuilles des plantes exposées au PHE présentent des jaunissements à l'extrémité des feuilles, semblables à un début de sénescence. Ces surfaces sénescentes sont très faibles, à peine 2 % de la surface foliaire totale, à 50 mg kg⁻¹ mais augmentent considérablement aux concentrations en PHE supérieures, variant entre 14 et 31 % en moyenne. La détermination de la SLA (équation 11, page 37) montre également une augmentation de 13 à 21 % lors d'exposition au PHE en comparaison avec le contrôle, bien que non significative et sans corrélation avec les différents niveaux de concentration. Au contraire,

l'ELT (équation 13, page 66) est significativement supérieure chez les maïs de contrôle et à 50 mg PHE kg⁻¹. Au-delà de cette concentration, l'ELT diminue de 39 à 49 % en comparaison avec les témoins.

Tableau 9 – Nombre de feuilles, moyennes des surfaces foliaires spécifiques (SLA), proportion de sénescence des feuilles et épaisseurs foliaires du maïs (ELT) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)

[PHE] _{initiale} (mg kg ⁻¹)	Nombre de feuilles	Sénescence (% surface)	SLA (m ² kg ⁻¹)	ELT (µm)
0	5 <i>a</i>	0 ± 0 <i>b</i>	43,1 ± 4,0 <i>a</i>	166 ± 3 <i>a</i>
50	4 <i>b</i>	1,6 ± 1,0 <i>ab</i>	53,5 ± 1,3 <i>a</i>	136 ± 7 <i>ab</i>
150	4 <i>b</i>	31 ± 12,7 <i>a</i>	54,2 ± 3,4 <i>a</i>	101 ± 12 <i>bc</i>
250	4 <i>b</i>	18 ± 3,4 <i>ab</i>	51,4 ± 5,5 <i>a</i>	85 ± 13 <i>c</i>
500	4 <i>b</i>	14 ± 2,1 <i>ab</i>	49,5 ± 5,5 <i>a</i>	102 ± 9 <i>bc</i>
750	4 <i>b</i>	19 ± 4,5 <i>a</i>	53,7 ± 4,8 <i>a</i>	96 ± 6 <i>c</i>

2.2.3 Géométrie du système racinaire

Les longueurs totales moyennes des racines de maïs cultivés sur du sable contaminé selon différents niveaux de concentration en PHE sont présentées dans la Figure 66. Les maïs exposés au PHE présentent des longueurs racinaires totales significativement réduites ($p < 0,05$). Les maïs exposés à 50 mg PHE kg⁻¹ ont une longueur racinaire totale moyenne de 600 cm par individu, équivalent à une inhibition de 50 % par rapport au contrôle (1200 cm par plante). Les maïs exposés aux concentrations comprises entre 150 et 750 mg PHE kg⁻¹ présentent des longueurs racinaires totales similaires entre elles, environ 220 cm par individu, soit une diminution de près de 80 % par rapport au contrôle.

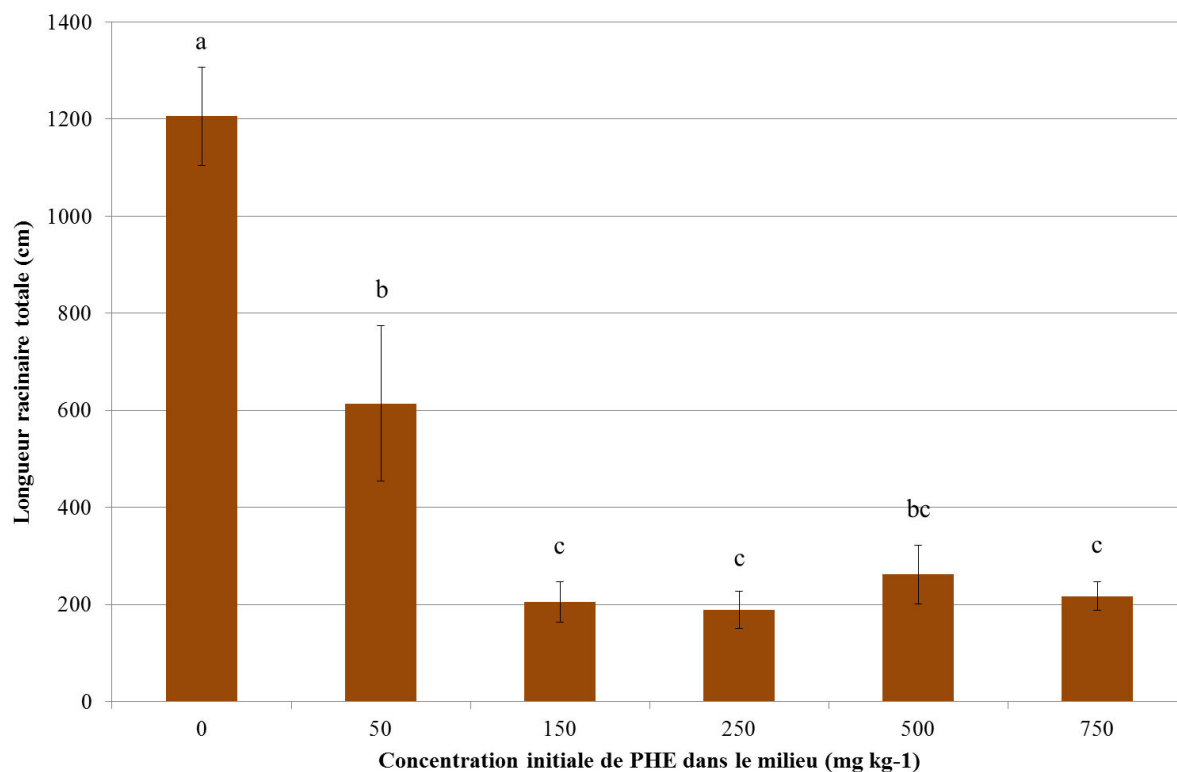


Figure 66 - Longueurs racinaires totales du maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)

La distribution de la longueur racinaire totale selon le diamètre des racines (Figure 67) ne montre pas d'effet significatif de la concentration d'exposition en PHE sur les racines de plus de 0,4 mm de diamètre en comparaison avec la modalité sans PHE. Toutefois, les racines de maïs de moins de 0,2 mm d'épaisseur et supérieures à 1,2 mm tendent à disparaître en faveur de racines plus épaisses en présence de PHE. En effet, les plantes exposées aux deux plus faibles concentrations en PHE présentent en moyenne 42 % de racines aux diamètres inférieurs à 0,2 mm, contre 52 % pour les témoins. Cette proportion diminue significativement aux concentrations supérieures testées, variant entre 23 et 27 %. De même, les racines supérieures à 1,2 mm d'épaisseur constituent en moyenne 3 % de la longueur racinaire totale pour les témoins mais diminue à 1 % en moyenne, tous niveaux de PHE confondus. Au contraire, les racines de diamètre entre 0,2 et

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

0,4 mm, représentant 26 % de la longueur totale des témoins, voient leur proportion augmenter en présence de PHE, jusqu'à 37 % à 250 mg PHE kg⁻¹. De même, les classes de diamètres entre 0,4 et 1,2 mm représentent globalement des proportions légèrement plus importantes, celles-ci étant en moyenne de 19,17, 8 et 3 % pour ces quatre classes de diamètre, contre 11, 8, 5, et 1 % sans PHE dans le milieu.

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

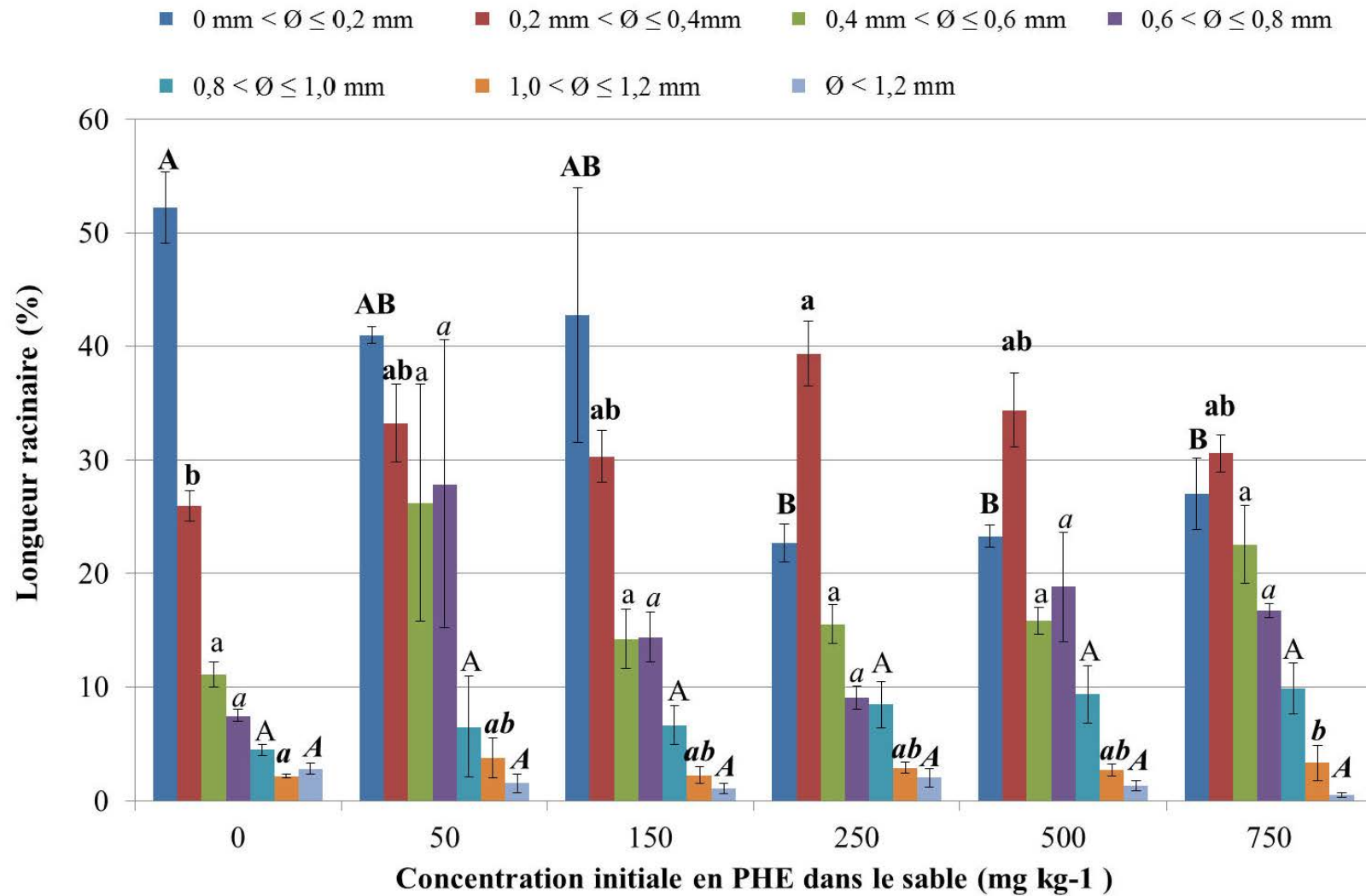


Figure 67 - Distribution du diamètre des racines (mm) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n = 6)

2.2.4 Fonctions physiologiques

Photosynthèse et transpiration

L'étude des échanges gazeux des feuilles de maïs montre une diminution significative de l'absorption en CO₂, atteignant 0,43 μmol m⁻² s⁻¹ à 50 mg PHE kg⁻¹, soit 51 % de l'influx mesuré sur les feuilles de contrôle (0,88 μmol m⁻² s⁻¹), 0,14 μmol m⁻² s⁻¹ à 150 mg kg⁻¹ (soit une diminution de 84 % par rapport au témoin) et 0,03 μmol m⁻² s⁻¹ (inhibition de 98 % par rapport au témoin) pour les concentrations initiales en PHE testées entre 250 et 750 mg kg⁻¹. De même, les plantes exposées aux concentrations supérieures à 50 mg PHE kg⁻¹ présentent des émissions en H₂O plus faibles d'environ 71 % (en moyenne 0,09 mmol m⁻² s⁻¹) par rapport aux plantes de contrôle et à 50 mg PHE kg⁻¹ (0,17 mmol m⁻² s⁻¹).

Tableau 10 – Bilan des échanges gazeux en CO₂ et H₂O sur la deuxième feuille de maïs après 25 j de culture sur sable artificiellement contaminé en PHE selon plusieurs niveaux de concentration

[PHE] _{initial} (mg kg ⁻¹)	Influx de CO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Efflux de H ₂ O (mmol m ⁻² s ⁻¹)
0	0,88 ± 0,10 <i>a</i>	0,17 ± 0,03 a
50	0,43 ± 0,15 <i>ab</i>	0,16 ± 0,03 a
150	0,14 ± 0,01 <i>bc</i>	0,05 ± 0,05 a
250	0,01 ± 0,01 <i>c</i>	0,05 ± 0,02 a
500	0,03 ± 0,01 <i>c</i>	0,08 ± 0,02 a
750	0,04 ± 0,02 <i>c</i>	0,11 ± 0,02 a

Toutefois, les organes des maïs cultivés ne présentent pas de différence significative d'humidité relative pondérale entre eux selon la concentration initiale en PHE dans le sable étant en moyenne autour de 90 % pour les trois organes (Figure 68). Toutefois, la sénescence précoce du bout des

feuilles apparaissant avec le PHE tend à diminuer l'humidité pondérale au-delà de 150 mg PHE kg^{-1} .

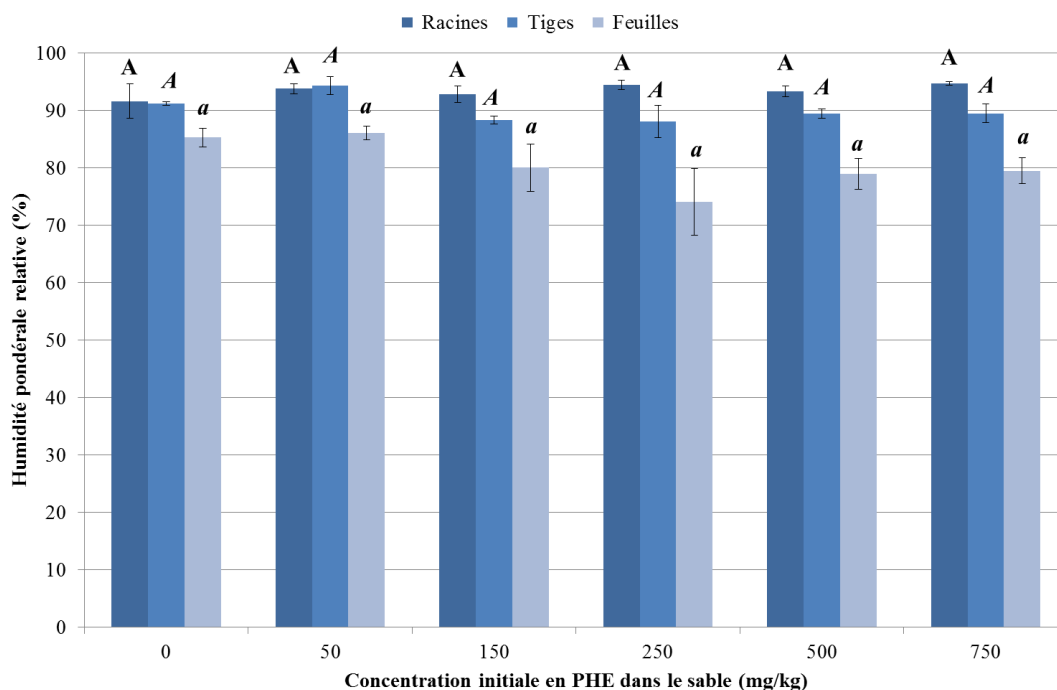


Figure 68 – Humidité pondérale relative des différents organes des maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable ($n = 6$)

Nutrition minérale

Les teneurs en éléments dans les feuilles de maïs exposés au PHE montrent des différences significatives avec les maïs de contrôle. Au-delà de 50 mg PHE kg^{-1} , les feuilles tendent à accumuler d'importantes concentrations en Ca, Mg, P et Zn, respectivement + 48, + 32, + 68, et + 49 % que les maïs de contrôle, et présentent une carence en K, en moyenne 77 % inférieures à celles du contrôle. Les autres éléments nutritifs quantifiés, N, Fe et Mn, ne présentent pas de différences significatives avec le contrôle, à l'exception du Fe à 250 mg PHE kg^{-1} et du Mn à 50 et 750. Les teneurs dans les racines de maïs exposés au PHE ne présentent pas de grandes différences avec les maïs de contrôle. De fortes diminutions en N et K sont observées lors d'une

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

exposition à la concentration en PHE la plus élevée, de 60 et 56 % respectivement. Les racines exposées à des niveaux de PHE entre 150 et 500 mg kg⁻¹ présentent des concentrations plus faibles en Ca et Mn que les témoins et les plantes à 750 mg PHE kg⁻¹.

Tableau 11 – Concentrations molaires en éléments nutritifs (mol g^{-1}) dans les systèmes aériens et racinaires des maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable ($n = 3$ et 6). Les différences statistiques sont étudiées par élément et distinctement entre les systèmes aériens et racinaires.

	[PHE] initiale (mg kg^{-1})	N	K	Ca	Mg	P	Fe	Mn	Zn
Système aérien	0	3283 ± 269 a	413 ± 62 a	152 ± 11 b	83 ± 4 c	70 ± 10 c	2,25 ± 0,2 b	0,57 ± 0,07 b	0,81 ± 0,22 c
	50	4070 ± 242 a	566 ± 86 a	250 ± 28 a	97 ± 6 bc	129 ± 21 bc	3,12 ± 0,5 ab	0,90 ± 0,08 a	1,14 ± 0,06 bc
	150	3598 ± 125 a	188 ± 47 b	243 ± 26 ab	96 ± 11 bc	152 ± 25 bc	3,57 ± 0,4 ab	0,71 ± 0,05 ab	1,72 ± 0,13 a
	250	2737 ± 728 a	100 ± 10 b	306 ± 36 a	108 ± 10 abc	188 ± 20 ab	4,98 ± 1,4 a	0,79 ± 0,04 ab	1,55 ± 0,21 ab
	500	2958 ± 564 a	86 ± 9 b	285 ± 20 a	118 ± 5 ab	184 ± 29 ab	2,86 ± 0,2 ab	0,70 ± 0,02 ab	1,39 ± 0,09 ab
	750	2954 ± 636 a	81 ± 8 b	328 ± 11 a	142 ± 9 a	277 ± 24 a	3,14 ± 0,2 ab	0,91 ± 0,11 a	1,72 ± 0,06 a
Système racinaire	0	2189 ± 142 a	230 ± 25 a	209 ± 11 a	59 ± 2 a	73 ± 5 a	4,24 ± 0,4 a	0,41 ± 0,06 ab	1,57 ± 0,32 a
	50	2573 ± 150 a	253 ± 72 a	161 ± 18 abc	39 ± 4 ab	86 ± 9 a	6,76 ± 0,4 a	0,32 ± 0,02 ab	0,97 ± 0,10 a
	150	2190 ± 202 a	194 ± 30 ab	122 ± 21 c	36 ± 9 ab	85 ± 3 a	10,09 ± 2,2 a	0,28 ± 0,03 b	1,63 ± 0,30 a
	250	2797 ± 164 a	123 ± 16 ab	133 ± 18 bc	37 ± 7 ab	73 ± 9 a	6,21 ± 0,4 a	0,26 ± 0,03 b	1,38 ± 0,05 a
	500	2348 ± 149 a	136 ± 19 ab	110 ± 19 c	24 ± 5 b	63 ± 3 a	8,36 ± 0,5 a	0,27 ± 0,04 b	1,23 ± 0,21 a
	750	957 ± 120 b	106 ± 21 b	200 ± 20 ab	43 ± 7 ab	84 ± 13 a	24,50 ± 14,4 a	0,60 ± 0,10 a	1,43 ± 0,19 a

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

Le PHE semble donc hautement toxique pour le maïs. Toutefois, les réponses toxiques ne sont pas proportionnelles aux concentrations initiales de PHE dans le sable. En effet, des réponses similaires entre elles sont généralement observées lors d'exposition à des teneurs entre 150 et 750 mg PHE kg⁻¹, tandis qu'elles sont moins prononcées à 50 mg PHE kg⁻¹. La croissance des plantes est affectée dès le plus faible niveau de concentration, à 50 mg kg⁻¹ où une faible mortalité apparaît. Les réponses du maïs seraient peut-être plus progressives lors d'expositions au PHE comprises entre 0 et 50 mg kg⁻¹. Par exemple, Alkio et al. (2005) ont observé chez l'arabette des dames, cultivée sur milieu solide, des réponses toxiques croissantes à de faibles concentrations en PHE (entre 0,05 et 0,25 mM) mais des réponses de mêmes amplitudes à des concentrations plus élevées (de 0,25 à 0,75 mM). Le pouvoir inhibiteur du PHE sur la biomasse a déjà été répertorié (Alkio *et al.* 2005; Li *et al.* 2008; Ahammed *et al.* 2012b). Toutefois, la diminution du nombre de feuilles et la proportion plus élevée du système racinaire (Lövenstein *et al.* 1995) témoignent d'un retard de développement en comparaison avec le contrôle. Les mesures d'échanges gazeux foliaires montrent également une forte diminution de la transpiration et de l'absorption de CO₂ lors d'exposition à des concentrations supérieures à 50 mg PHE kg⁻¹. L'humidité pondérale n'étant pas significativement affectée, cette diminution de la perte d'eau confirmerait donc une fermeture plus importante des stomates. Ainsi, la réduction de la fixation de carbone photosynthétique peut être à l'origine de ce ralentissement de croissance chez ces plantes, malgré l'augmentation de la SLA et la diminution de l'épaisseur foliaire qui pourraient témoigner d'une réponse adaptative de la plante pour maximiser l'exposition lumineuse et les échanges gazeux des cellules photosynthétiques. Les racines sont également plus épaisses et plus courtes, mais leur humidité pondérale inchangée laisse supposer un prélèvement d'eau suffisant. Les parties aériennes du maïs présentent d'importantes accumulations en Ca, Mg, P et Zn ainsi qu'une

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

carence en K dues à l'exposition au PHE. Ces éléments ont des rôles majeurs dans la biochimie ou la physiologie de la plante mais peuvent se révéler toxiques lorsqu'ils sont en concentration excessive (Marschner 2012). Certains de ces symptômes sont communs au stress hydrique (Rao *et al.* 1987; Tezara *et al.* 1999; Shao *et al.* 2008), hypothèse évoquée lors d'expositions à des HAP et/ou hydrocarbures (Adam et Duncan 2002; Merkl *et al.* 2005b; Langer *et al.* 2010). Le potassium et le calcium sont notamment impliqués dans le fonctionnement des stomates. L'efflux des ions K^+ par les cellules de garde dans les cellules annexes est possible grâce à la dépolarisation de la membrane, causée par le passage d'ions Ca^{2+} et entraîne la fermeture des stomates (Ward et Schroeder 1994). Le calcium est aussi impliqué dans certaines réponses hormonales et aux facteurs environnementaux (Nabors 2008). Lors d'un stress hydrique, l'accumulation de Mg^{2+} dans les feuilles peut également inhiber la photosynthèse (Rao *et al.* 1987; Lawlor 2002). De plus, il a été démontré que le stress hydrique diminue la capacité de la plante à synthétiser de l'ATP, entraînant une baisse de l'assimilation photosynthétique de CO_2 (Tezara *et al.* 1999). De même, la mobilisation du P, acteur principal du transfert d'énergie (Marschner 2012), pourrait résulter d'une carence en P inorganique du fait de l'altération de l'ATPase. Le mécanisme de défense au stress hydrique peut aussi perturber la défense contre le stress oxydant (Jiang et Zhang 2002). Ce stress oxydatif a été observé lors d'exposition à des HAP (Alkio *et al.* 2005; Pašková *et al.* 2006; Liu *et al.* 2009b), causant des dommages cellulaires et tissulaires, telles que la senescence précoce observée à la pointe des feuilles. Enfin, le Zn est présent dans des enzymes comme les oxydoréductases et est capable d'inhiber la photosynthèse à travers plusieurs mécanismes (Marschner 2012).

La nouvelle question qui en découle est : la perturbation du statut nutritionnel dans les feuilles entraîne-t-elle la fermeture des stomates, réduisant la photosynthèse et diminuant ainsi la

croissance ? Bien que ces symptômes puissent correspondre à ceux d'un stress hydrique, la disponibilité en eau n'était pas limitée et l'humidité pondérale dans les racines n'indique pas de déficit d'eau. Toutefois, plusieurs études ont montré l'existence d'un système de contrôle de l'activation de la fermeture des stomates par les racines (Blackman et Davies 1985; Zhang et Davies 1987). L'étude des racines à l'échelle microscopique pourrait renseigner sur l'impact du PHE au niveau des tissus et des cellules et aider à la compréhension du mécanisme sous-jacent aux perturbations physiologiques observées.

2.3 Subérification des tissus racinaires

Les Figure 69 et Figure 70 présentent les taux de subérification de l'exoderme et de l'endoderme le long de la racine après 10 et 20 j de culture (Expérience I).

À 10 j, la racine du contrôle présente un taux de subérification de l'exoderme et de l'endoderme supérieur à 80 % de la graine jusqu'à 70 et 80 % de distance de l'apex. Aucune subérification n'est observée au-delà de la moitié de la racine dans les tissus. À 50 et 150 mg PHE kg⁻¹, la subérification de l'exoderme s'étend de la graine jusqu'à environ 45 % de l'apex à un taux supérieur à 80 % et disparaît dans les derniers 20 % de la racine. À la plus faible concentration en PHE, l'endoderme présente une subérification supérieure à 80 % de la graine à 50 % de distance à l'apex, tandis qu'elle s'étend jusqu'à 40 % de l'apex lors d'une exposition à 150 mg PHE kg⁻¹. Une augmentation significative de l'intensité de subérification de l'endoderme et de l'exoderme est donc observée aux concentrations initiales 50 et 150 mg PHE kg⁻¹ dans le sable par rapport à la situation contrôle (Annexes, Figure 84).

À 20 j, l'exoderme et l'endoderme de la racine de contrôle présentent une subérification complète jusqu'à 10 % de l'apex. L'exoderme des racines exposées au PHE est subérifié à plus de 80 %

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

jusqu'à environ 40 % de distance à l'apex. À la concentration la plus faible, l'endoderme est également subérifié à plus de 80 % jusqu'à environ 40 % de distance à l'apex mais au plus fort niveau d'exposition en PHE, l'endoderme est subérifié à plus de 80 % jusqu'à 20 %. À 20 j, aucune différence significative de l'intensité de subérification n'est observée pour les deux tissus racinaires par rapport au contrôle (Annexes, Figure 84), bien qu'elle tend à diminuer dans l'exoderme en présence de PHE.

Le PHE affecte donc la subérification de l'endoderme et de l'exoderme de la racine principale mais cette action ne perdure pas dans le temps.

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

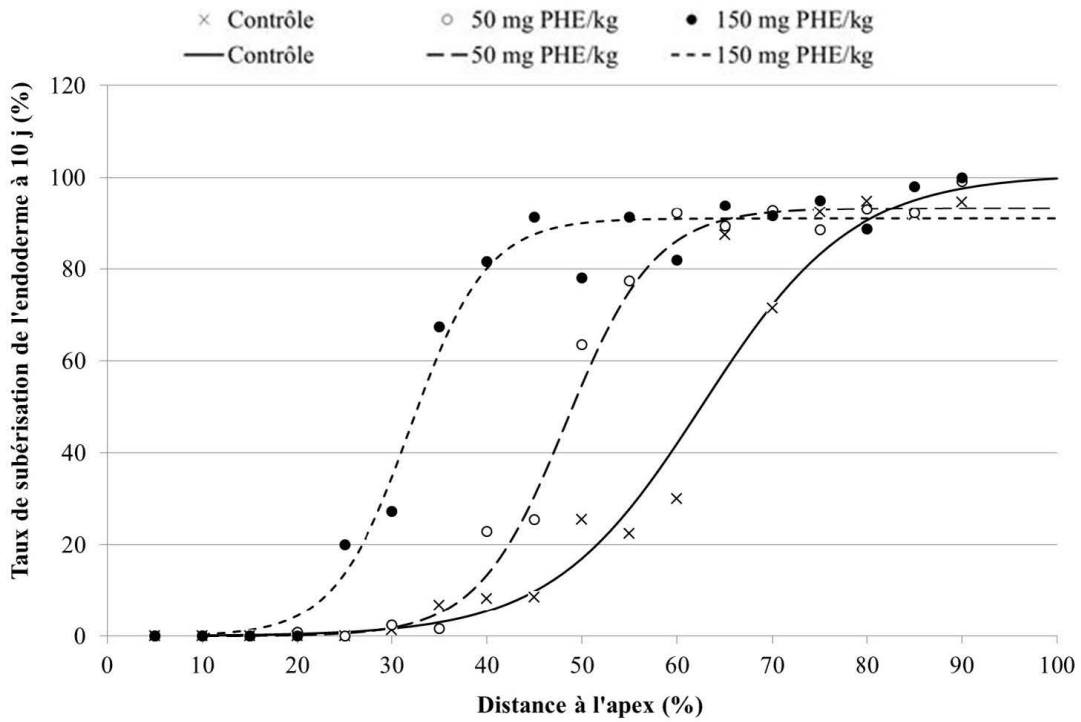
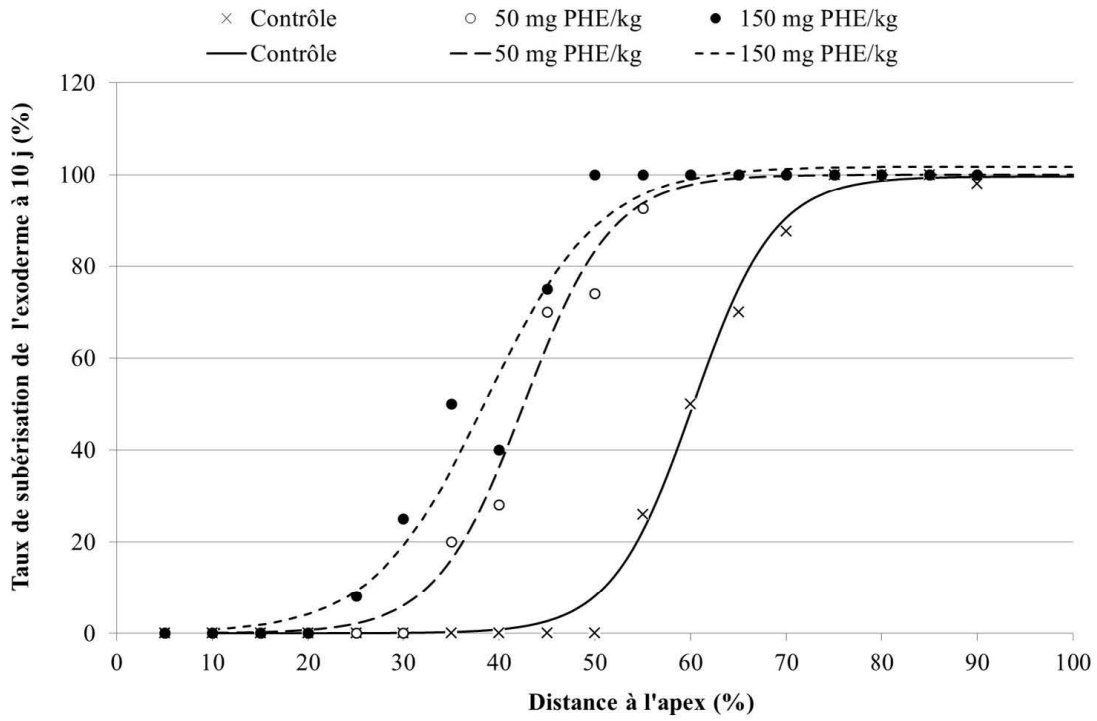


Figure 69 - Évolution du taux de subérification de l'exoderme et l'endoderme de la racine principale selon les trois niveaux d'exposition en PHE à 10 j de culture (n = 5)

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

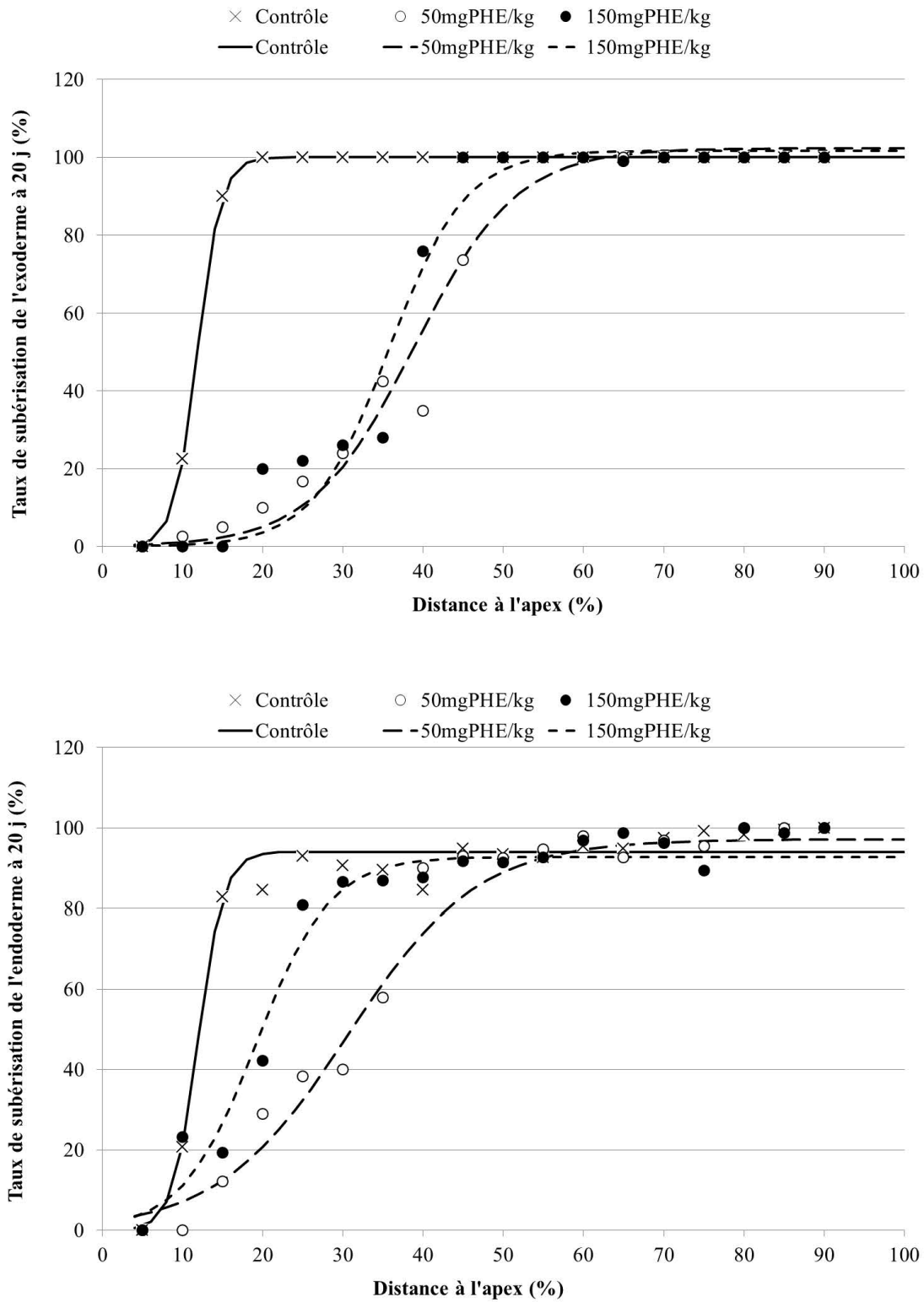


Figure 70 - Évolution du taux de subérisation de l'exoderme et l'endoderme de la racine principale selon les trois niveaux d'exposition en PHE à 20 j de culture (n = 5)

Parfois, une subérification plus intense peut être observée autour de cristaux de PHE, comme illustrée en Figure 71. Soit le PHE s'est accumulé dans une zone plus subérifiée du fait d'une forte affinité pour la matrice (Chen *et al.* 2009), soit la subérine s'est développée autour de l'amas de PHE pour limiter sa diffusion.

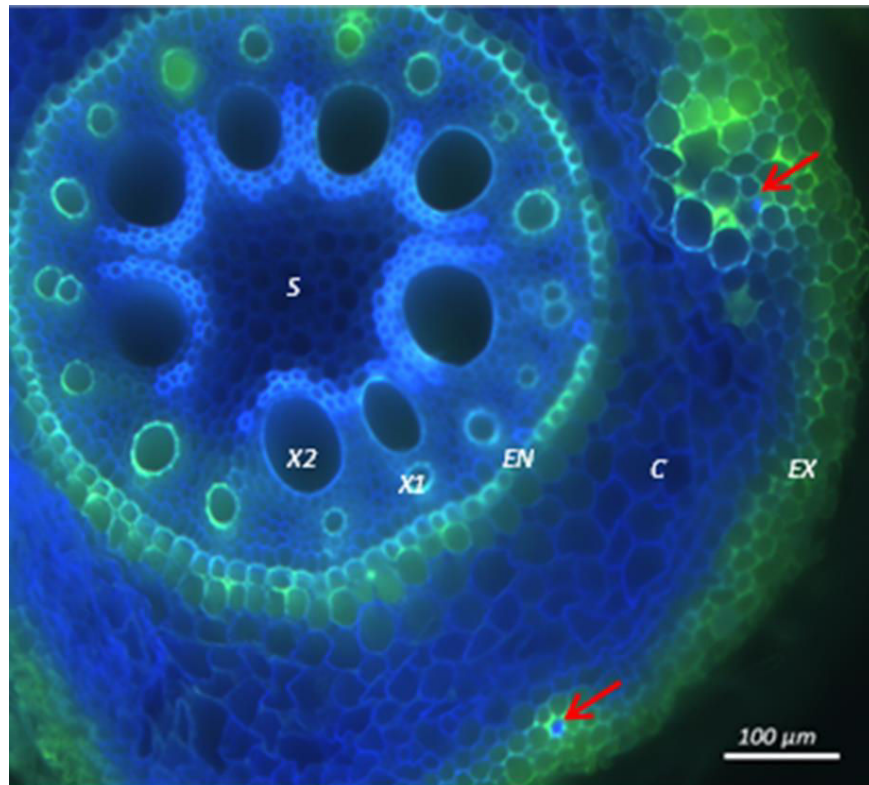


Figure 71 - Photographie d'une coupe (200 µm d'épaisseur) de la racine principale de maïs exposée à 150 mg PHE kg⁻¹, durant 10 jours, située à 50 % de distance à l'apex, colorée au Fluorol yellow 088. L'image est issue de la superposition de photographie prise sous filtre UV-1A (bleue) et filtre FITC (verte). Les flèches rouges montrent des amas de PHE. EX = exoderme ; C = cortex ; EN = endoderme ; X1 = xylème primaire ; X2 = xylème secondaire ; S = stèle.

En conclusion, l'exposition au PHE induit une augmentation précoce de la subérification (Kummerová *et al.* 2013) puis semble se maintenir au cours du temps, alors que les maïs non soumis au PHE subissent une subérification des tissus plus lente, développement normal lié à l'âge (Enstone et Peterson 2005). Après 10 j de culture, dans le cas d'une exposition au PHE

égale ou supérieur à 50 mg kg^{-1} , les mesures indiquent des taux de recouvrement de PHE les plus importants près de la graine, jusqu'à 75 % de distance à l'apex, avec des amas de PHE seulement observés dans l'exoderme (Chapitre 3, §4). D'après les racines de contrôle, cette partie de la racine est également subérifiée à plus de 80 %. Ainsi, l'exoderme subérifié près de la graine constituerait un « puits » pour le PHE mais limiterait également la diffusion radiale du HAP (Chen *et al.* 2009). L'hypothèse est que le PHE absorbé au niveau de l'exoderme est détecté et induit une subérification précoce de l'endoderme et de l'exoderme le long de la racine. À 20 j, la subérification de ces zones est moins avancée que dans les racines de contrôle. Le PHE en solution et dans le sable a probablement disparu (Chapitre 4, §2.1) mais les racines exposées à $150 \text{ mg PHE kg}^{-1}$ ont continué à absorber davantage de PHE, comme l'indique l'augmentation des taux de recouvrement dans les zones subérifiées (Chapitre 3, §4), intensifiant la subérification de l'exoderme le long de la racine. Du fait d'une plus faible concentration initiale dans le sable, le PHE a été dégradé plus rapidement à 50 mg kg^{-1} et n'est plus absorbé par les racines. La subérification de l'endoderme s'arrête et la plante métabolise le polluant, hypothèse déduite de la diminution des taux de recouvrement de PHE près de la racine (Chapitre 3, §4). Au contraire, à $150 \text{ mg PHE kg}^{-1}$, il est possible que cette capacité de métabolisation soit dépassée, le PHE dans le milieu continue à s'accumuler et les amas de PHE accumulés dans les tissus forment un réservoir limité par la subérine mais non entièrement confiné.

3 Conclusion

La phytotoxicité de certaines terres industrielles a été démontrée mais la variété d'amplitude des réponses et la pluralité des propriétés agronomiques des terres ne permettent pas d'affirmer une relation directe avec les HAP (Chaineau 1995). Les symptômes toxiques observés seraient d'origine multifactorielle et pourraient masquer les effets des HAP. Toutefois, les plants de maïs

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

cultivés sur ces terres présentent en général une inhibition de la croissance, un épaissement et raccourcissement racinaire mais également un statut nutritionnel perturbé, avec l'accumulation de certains éléments dans les parties aériennes (Ca, Mg, P, Mn et Zn). L'expérimentation de culture du maïs sur un système simplifié, du sable artificiellement contaminé avec une molécule de HAP, a permis de s'affranchir de nombreux facteurs limitants : disponibilité du polluant (MO, vieillissement), de l'eau (CRE) et des nutriments (solution nutritive adaptée). Ainsi, il a été possible d'étudier le comportement du PHE dans le milieu et lors de son contact avec les racines, et d'amplifier les réponses toxiques du maïs en présence du PHE.

Une biodégradation rapide et quasi-totale du PHE est observée dans le milieu de culture. De ce fait, les réponses observées chez le maïs seraient causées par une exposition intense (disponibilité totale du polluant) et très courte (moins de 16 j). L'accumulation de PHE dans les parois apoplasmiques des tissus racinaires ne permet pas de limiter complètement la diffusion et ces amas de PHE pourraient constituer des réservoirs pour la racine malgré la disparition du polluant dans le milieu. De plus, il ne faut pas écarter la production possible de métabolites potentiellement toxiques, par biodégradation (Haritash *et al.* 2009). Ces métabolites, aux masses molaires plus faibles, pourraient diffuser plus facilement dans la plante.

Le taux de subérification des tissus et de recouvrement du PHE de la racine principale des maïs montrent des réponses différentes selon le degré d'exposition ainsi qu'une évolution différente dans le temps. Des modifications de la subérification de la racine principale ont déjà été constatées par d'autres auteurs. Redjala *et al.* 2011 et Meyer *et al.* (2009) montrent que la subérification de la racine principale de maïs est accrue lors d'une culture sur sol par rapport à une culture en hydroponie. Notre hypothèse de fonctionnement est que le PHE en contact avec l'exoderme va accélérer la subérification de ce tissu et de l'endoderme lors des premiers jours de

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

croissance, dès le plus faible niveau de concentration en PHE dans le milieu. Au-delà d'un certain temps, un équilibre entre dégradation interne et réponse de toxicité s'établirait, provoquant l'arrêt de la subérification chez les maïs exposés au 50 mg PHE kg⁻¹. À 150 mg PHE kg⁻¹, la capacité de métabolisation serait dépassée, la subérification des individus exposés au contaminant est limitée et le PHE continue à s'accumuler. La subérification des tissus pourrait limiter la diffusion du PHE dans la racine, par une stratégie de confinement du polluant grâce à la forte affinité des HAP pour la subérine (Chen *et al.* 2009). Toutefois, ce polymère a pour fonction première de limiter la perte d'eau de la racine. Son développement précoce pourrait donc être le symptôme d'un déficit hydrique (Enstone *et al.* 2005) lié à la présence du PHE.

Des différences de subérification sont observées aux deux concentrations en PHE testées, 50 et 150 mg kg⁻¹. Toutefois, à l'échelle macroscopique, les réponses sont d'amplitude similaire entre 150 et 750 mg PHE kg⁻¹, tandis qu'elles sont moins prononcées à 50 mg PHE kg⁻¹. Il est possible que les réponses toxiques soient plus graduelles lors d'exposition inférieures à 50 mg PHE kg⁻¹. Les différences de BMSt et de longueurs racinaires totales seraient dues à un retard de développement de la plante dont l'origine pourrait s'expliquer par la subérification précoce de la racine principale et un dysfonctionnement racinaire. Cependant, malgré une géométrie racinaire modifiée, le statut nutritionnel et l'humidité pondérale du système racinaire laissent supposer un bon fonctionnement de ce dernier. Toutefois, le système foliaire des plantes exposées au PHE présente de nombreux symptômes communs au stress hydrique : sénescence précoce, SLA diminuée, inhibition de la photosynthèse et de la transpiration, accumulation d'éléments tels que le Ca et Mg, carence en K.... Pourtant, la disponibilité en eau durant la culture n'était pas limitée et l'humidité pondérale de la plante n'indique pas de déficit d'eau (Wittig *et al.* 2003). La perturbation du statut nutritionnel dans les feuilles entraîne-t-elle la fermeture des stomates,

Chapitre 4 : Fonctionnement du maïs exposé aux HAP

réduisant ainsi la photosynthèse et ralentissant la croissance ? Le système racinaire est le siège du système de surveillance de la plante et plusieurs études ont montré l'existence d'un système de contrôle de l'activation de la fermeture des stomates par les racines (Blackman *et al.* 1985; Zhang *et al.* 1987). Les messagers de cette voie de signalisation sont les phytohormones. Des relations entre HAP et phytohormone ont déjà été établies. Par exemple, l'effet stimulateur de HAP à faible dose sur la croissance d'une plante a déjà été rapporté dans certains cas (Wild *et al.* 1992a; Váňová *et al.* 2009; Kummerová *et al.* 2010). Il est ainsi possible que le PHE ou des métabolites induisent la production d'une phytohormone telle que l'ABA (Váňová *et al.* 2009) ou interagissent avec ses récepteurs, entraînant des réponses de stress hydrique chez le maïs. En effet, l'ABA joue un rôle essentiel dans cette voie de signalisation (Pospíšilová 2003). Weisman *et al.* (2010) ont noté de faibles corrélations entre la concentration en PHE dans le milieu et l'expression du gène de l'ABA chez l'arabette des dames mais ils ont démontré l'implication d'autres phytohormones. Le HAP pourrait induire l'accumulation d'éléments à des niveaux toxiques et entraîner une fermeture prolongée des stomates (Osakabe *et al.* 2014), limitant la croissance par réduction de l'assimilation photosynthétique de carbone.

Le mécanisme de toxicité du PHE trouverait donc son origine dans les racines mais le fonctionnement du système foliaire serait le plus touché. L'application externe de phytohormone pourrait aider à lever ces stress. Par exemple, la vaporisation d'une brassinostéroïde (24-épibrassinolide) sur des feuilles de plants de tomate a permis d'améliorer l'assimilation de CO₂, de prévenir la dégradation de pigments photosynthétiques, de stimuler l'activité antioxydante du système et ainsi, d'augmenter la production de biomasse malgré une exposition à des HAP (Ahammed *et al.* 2012b). Les études devraient alors s'orienter davantage sur une possible perturbation hormonale des HAP.

CONCLUSION

GÉNÉRALE ET

PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Une meilleure compréhension des interactions HAP-plante est nécessaire pour aider à la revégétalisation des sols de friches industrielles, que ce soit dans un cadre de rhizodégradation ou de restauration paysagère, mais également améliorer l'évaluation des risques pour une meilleure gestion des sites contaminés. Ainsi, les principaux objectifs de cette thèse étaient : i) d'améliorer les modèles existant pour l'évaluation de la fraction de HAP absorbable par la plante depuis la fraction disponible dans le sol, ii) de mieux comprendre les facteurs contrôlant le transfert des HAP à la plante et iii) d'évaluer l'impact des HAP sur le fonctionnement des végétaux. Pour ce faire, ces travaux de thèse ont été menés sur des systèmes de complexité décroissante, de terres de friches industrielles multicontaminées à du substrat simplifié et artificiellement contaminé en un seul HAP à, et cela à différentes échelles du maïs, allant de l'individu entier à la cellule. Une série d'hypothèses sur les mécanismes de prélèvement, de translocation et de phytotoxicité des HAP ont pu être formulées et qui permet de proposer un modèle de ces interactions HAP-plante **(Erreur ! Source du renvoi introuvable.)**.

Conclusion générale et perspectives

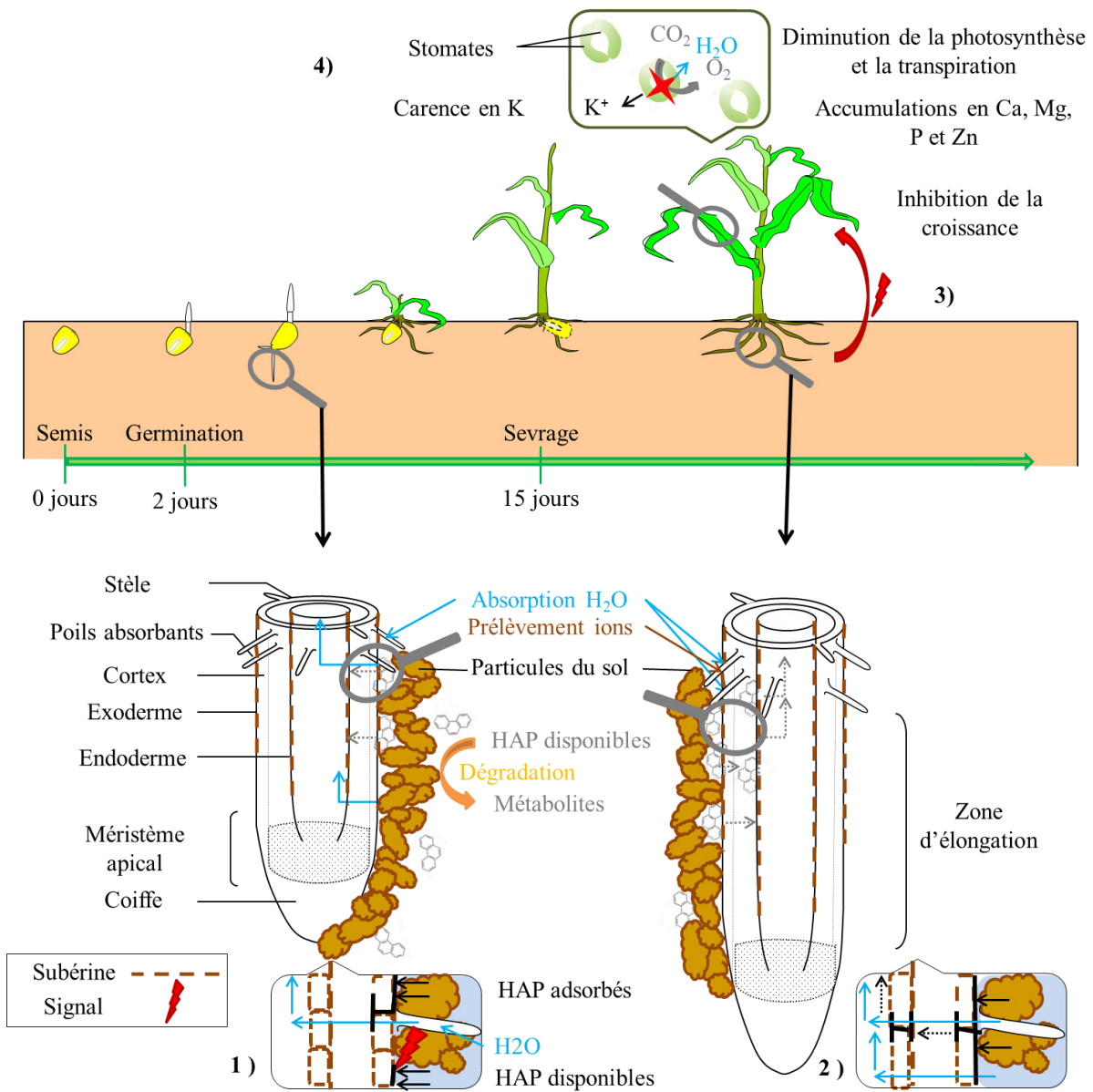


Figure 72 – Représentation des interactions entre les HAP et le maïs dans un sol contaminé

1) La sorption physique des HAP par contact direct comme voie principale de transfert

Dans le cas d'un transport des HAP vers les racines *via* l'eau du sol, l'intensité de prélèvement racinaire d'un HAP devrait être inversement proportionnelle à son poids moléculaire (Kipopoulou *et al.* 1999). Pourtant, la distribution moléculaire dans les racines est similaire à celle dans les terres et des extraits par résine Tenax®. D'autres arguments sont en faveur de cette hypothèse, telles que les mauvaises corrélations entre les concentrations en HAP dissous et les racines, la surestimation des concentrations prédites par des modèles d'absorption de molécules organiques dans la solution du sol, ainsi que la localisation du PHE en amas dans l'exoderme des racines.

Cette hypothèse de fonctionnement remet en question la théorie selon laquelle la solution du sol serait le vecteur principal du passage des HAP dans la racine (Ryan *et al.* 1988) et de ce fait, les modèles couramment utilisés pour la prédiction de la bioaccumulation des HAP dans les plantes supérieures (Briggs *et al.* 1982, 1983; Zhang *et al.* 2009). Dans le cas du modèle développé par Zhang *et al.* (2009), la contribution attribuée à la fraction lipidique de la plante serait trop importante par rapport à la fraction organique non lipidique. Il faudrait en effet plutôt considérer que toute la matière carbonée (cellulose, hémicellulose, pectines, subérine...) des racines, et en particulier celles des parois cellulaires, constituerait un puits responsable de la sorption des HAP. De plus, ces modèles font abstraction de l'effet rhizosphérique induit par la présence de racines. En effet, la surface de sol autour des racines est enrichie en différents types de rhizodépôts : cellules desquamées de la coiffe racinaire, sécrétions de mucilage, exsudats racinaires et débris cellulaires épidermiques (Nguyen 2003). Ces exsudats racinaires favorisent l'augmentation de densité des bactéries du sol et leur activité, caractéristiques propices à la rhizodégradation

(Sterckeman *et al.* 2012; Ouvrard *et al.* 2014) et pouvant modifier localement la réactivité des HAP.

À partir de ces hypothèses, un nouveau modèle est proposé. Ce modèle se base sur les HAP extractibles par résine Tenax® comme le pool de HAP facilement désorbable et susceptible de pénétrer dans la racine, et sur leur répartition entre deux fractions organiques, celle des terres et celle du système racinaire. Les prédictions réalisées présentent des meilleures estimations des teneurs en HAP bioaccumulés dans les racines de maïs cultivés sur 13 terres différentes que les modèles couramment utilisés de Briggs *et al.* (1982) et Zhang *et al.* (2009).

2) Le transport des HAP dans les racines par diffusion apoplasmique

Les amas de PHE observés aux intersections cellulaires confirmerait un transport du HAP par voie apoplasmique (Wild *et al.* 2005). Les amas sous forme de bâtonnets parallèle à l'axe de la racine seraient liés à l'élongation des cellules épidermales et non à une diffusion longitudinale intercellulaire. La bande de Caspari pourrait former une barrière physique hydrophobe pour les HAP transportés par voie apoplasmique via le flux d'eau et constituer une zone d'accumulation dans l'endoderme du fait d'une forte affinité pour la subérine (Chen *et al.* 2009). Cette rétention des HAP dans les racines limiterait le passage aux parties aériennes. À faible concentration, un mécanisme permettrait de limiter le transfert des HAP dans les racines et la dégradation des molécules. Autrement, des réservoirs de HAP se formeraient dans les tissus racinaires et pourraient diffuser progressivement dans la plante (Wild *et al.* 2006). Ainsi, malgré la dissipation du polluant dans le milieu, un stock de HAP absorbés générerait un effet sur la plante. La formation de métabolites (Haritash *et al.* 2009) pourrait également induire des réponses

phytotoxiques. Ces métabolites, aux masses molaires plus faibles, pourraient diffuser plus facilement dans la plante.

3) *Signalisation de la pénétration des HAP dans les racines*

Notre hypothèse de fonctionnement est que le PHE en contact avec l'exoderme va accélérer la subérification de ce tissu et de l'endoderme lors des premiers jours de croissance, dès le plus faible niveau de concentration en PHE dans le milieu. La subérification des tissus pourrait limiter la diffusion du PHE dans la racine, par une stratégie de confinement du polluant grâce à la forte affinité des HAP pour la subérine (Chen *et al.* 2009). L'augmentation de la subérification de la racine principale ne perturberaient pas le prélèvement racinaire de nutriments (Meyer *et al.* 2009; Redjala *et al.* 2011), comme l'indiquent les teneurs en éléments dans les racines lors de la culture sur sable contaminé en PHE.

4) *Perturbation du fonctionnement du système foliaire*

Une première hypothèse serait que la pénétration du PHE dans les racines induirait une réponse signalétique d'origine hormonale (Wild *et al.* 1992a; Váňová *et al.* 2009; Kummerová *et al.* 2010), entraînant une subérification précoce des tissus racinaires. Toutefois, le fonctionnement du système foliaire est plus affecté que le système racinaire. Une étude récente laisse supposer que le transport du K faciliterait le passage du PHE de l'apoplasme au symplasme dans les racines (Zhan *et al.* 2013a). Cela pourrait causer une perturbation de la translocation du cation jusqu'aux parties aériennes et la plante pourrait compenser par l'allocation d'autres éléments tels que le Ca. L'accumulation d'éléments tels que le Ca et le Mg à des niveaux toxiques pourrait entraîner une fermeture prolongée des stomates (Osakabe *et al.* 2014), limiter la croissance par réduction de l'assimilation photosynthétique de carbone, voire causer la mort de la plante.

Ces résultats soulignent la complexité des interactions HAP-plantes et de nombreuses questions relevées mériteraient d'être poursuivies. Il serait envisageable de coupler des techniques de marquage isotopique du carbone à des outils de microscopie pour tracer avec plus de précision les HAP selon leur masse moléculaire, depuis le milieu à la plante. Des recherches complémentaires sur la translocation aérienne des HAP sont également nécessaires. Un protocole similaire à l'étude des racines pourrait être appliqué, couplé à l'étude de conduction hydraulique et la composition de la sève xylémienne. L'étude de la formation des métabolites et de leur interaction avec la plante serait également facilitée et permettrait de distinguer leur effet à celui des molécules mères. La capacité de résilience de la plante pourrait être étudiée en exposant brièvement un jeune plant à des HAP avant de l'implanter dans un milieu de culture optimale. De plus, les friches industrielles présentent généralement des contaminations d'origine métallique et organique. Il serait intéressant d'investiguer les effets des métaux des terres sur les interactions HAP-plante. Les métaux peuvent-ils interférer sur le prélèvement des HAP ? Y a-t-il un effet combiné métaux/HAP sur le fonctionnement de la plante ? Il serait possible de conduire des cultures sur un substrat simplifié, intégrant différentes molécules de HAP, sélectionnées selon le nombre de cycle par exemple, et un gradient de concentrations connues pour un ou plusieurs éléments métalliques. L'existence naturelle d'analogues structuraux de métabolites de HAP, telle que la phytohormone acide naphthalèneacétique, peut laisser supposer à une perturbation du fonctionnement moléculaire de la plante. Il s'agirait d'une part de déterminer la voie de signalisation activée lors de la détection des HAP et les signaux de régulation de fonctionnement de la plante perturbés. Pour ce faire, l'application externe de phytohormones, la quantification dans la plante de phytohormones ciblées ou encore, l'étude d'activation de gènes promoteurs pourraient être utilisées. D'autre part, la connaissance des mécanismes de métabolisation des HAP par la plante semble primordiale afin de mieux comprendre dans quelles mesures les HAP

peuvent affecter le fonctionnement de la plante. Toutefois, la multiplicité des voies de dégradation selon les HAP considérés s'illustre à travers une très grande variété des métabolites intermédiaires (Haritash *et al.* 2009), rendant la tâche difficile. Enfin, le rôle de l'espèce végétale ne doit pas être négligé et devrait être étudié en fonction de critères spécifiques (*i.e.* besoin nutritionnel, mono ou dicotylédone, métabolisme C3 ou C4, système racinaire pivotant ou fasciculé).

Bibliographie

- Adam, G. et Duncan, H. (2002) Influence of diesel fuel on seed germination. *Environmental pollution*, **120**, 363-370.
- Admon, S., Green, M. et Avnimelech, Y. (2001) Biodegradation kinetics of hydrocarbons in soil during land treatment of oily sludge. *Biorremediation Journal*, **5**, 193–209.
- Ahammed, G.J., Wang, M.-M., Zhou, Y.-H., Xia, X.-J., Mao, W.-H., Shi, K. et Yu, J.-Q. (2012a) The growth, photosynthesis and antioxidant defense responses of five vegetable crops to phenanthrene stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **80**, 132-139.
- Ahammed, G.J., Yuan, H.-L., Ogweno, J.O., Zhou, Y.-H., Xia, X.-J., Mao, W.-H., Shi, K. et Yu, J.-Q. (2012b) Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato. *Chemosphere*, **86**, 546-555.
- Alexander, M. (2000) Aging, Bioavailability, and Overestimation of Risk from Environmental Pollutants. *Environmental Science & Technology*, **34**, 4259-4265.
- Alkio, M., Tabuchi, T.M., Wang, X. et Colón-Carmona, A. (2005) Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in Arabidopsis include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. *Journal of Experimental Botany*, **56**, 2983 -2994.
- Aloni, R., Aloni, E., Langhans, M. et Ullrich, C.I. (2006) Role of Cytokinin and Auxin in Shaping Root Architecture: Regulating Vascular Differentiation, Lateral Root Initiation, Root Apical Dominance and Root Gravitropism. *Annals of Botany*, **97**, 883 -893.
- Ambrosoli, R., Petruzzelli, L., Luis Minati, J. et Ajmone Marsan, F. (2005) Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions. *Chemosphere*, **60**, 1231–1236.
- Babula, P., Vodicka, O., Adam, V., Kummerova, M., Havel, L., Hosek, J., Provaznik, I., Skutkova, H., Beklova, M. et Kizek, R. (2012) Effect of fluoranthene on plant cell model: Tobacco BY-2 suspension culture. *Environmental and Experimental Botany*, **78**, 117-126.
- Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N. et Perry, R. (1991) A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior. *Water, Air, and Soil Pollution*, **60**, 279-300.
- Bakker, M.I., Casado, B., Koerselman, J.W., Tolls, J. et Kollöffel, C. (2000) Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and plant samples from the vicinity of an oil refinery. *Science of The Total Environment*, **263**, 91-100.
- Baldyga, B., Wieczorek, J., Smoczynski, S., Wieczorek, Z. et Smoczynska, K. (2005) Pea plant response to anthracene present in soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, **14**, 397-401.

Bibliographie

- Barnier, C., Ouvrard, S., Robin, C. et Morel, J.L. (2014) Desorption kinetics of PAHs from aged industrial soils for availability assessment. *Science of The Total Environment*, **470–471**, 639-645.
- Benková, E., Michniewicz, M., Sauer, M., Teichmann, T., Seifertová, D., Jürgens, G. et Friml, J. (2003) Local, Efflux-Dependent Auxin Gradients as a Common Module for Plant Organ Formation. *Cell*, **115**, 591-602.
- Bergknut, M., Sehlin, E., Lundstedt, S., Andersson, P.L., Haglund, P. et Tysklind, M. (2007) Comparison of techniques for estimating PAH bioavailability: Uptake in *Eisenia fetida*, passive samplers and leaching using various solvents and additives. *Environmental Pollution*, **145**, 154-160.
- Binet, P., Portal, J. et Leyval, C. (2000) Dissipation of 3–6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**, 2011-2017.
- Binet, P., Portal, J.M. et Leyval, C. (2001) Application of GC–MS to the study of anthracene disappearance in the rhizosphere of ryegrass. *Organic Geochemistry*, **32**, 217–222.
- Blackman, P.G. et Davies, W.J. (1985) Root to Shoot Communication in Maize Plants of the Effects of Soil Drying. *Journal of Experimental Botany*, **36**, 39-48.
- Blilou, I., Xu, J., Wildwater, M., Willemsen, V., Paponov, I., Friml, J., Heidstra, R., Aida, M., Palme, K. et Scheres, B. (2005) The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature*, **433**, 39-44.
- Brennan, A., Moreno Jiménez, E., Albuquerque, J.A., Knapp, C.W. et Switzer, C. (2014) Effects of biochar and activated carbon amendment on maize growth and the uptake and measured availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and potentially toxic elements (PTEs). *Environmental Pollution*, **193**, 79–87.
- Briggs, G.G., Bromilow, R.H. et Evans, A.A. (1982) Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. *Pesticide Science*, **13**, 495-504.
- Briggs, G.G., Bromilow, R.H., Evans, A.A. et Williams, M. (1983) Relationships between lipophilicity and the distribution of non-ionised chemicals in barley shoots following uptake by the roots. *Pesticide Science*, **14**, 492-500.
- Chaineau, C.-H. (1995) *Devenir et effets des hydrocarbures dans le cas de l'épandage extensif de déblais de forage en agrosystème*. Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- Chaineau, C.H., Morel, J.L. et Oudot, J. (2000) Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Journal of environmental quality*, **29**, 569-578.

Bibliographie

- Chang, B.V., Shiung, L.C. et Yuan, S.Y. (2002) Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. *Chemosphere*, **48**, 717-724.
- Chen, B. et Schnoor, J.L. (2009) Role of suberin, suberan, and hemicellulose in phenanthrene sorption by root tissue fractions of switchgrass (*Panicum virgatum*) seedlings. *Environmental science & technology*, **43**, 4130-4136.
- Chiapusio, G., Pujol, S., Toussaint, M.L., Badot, P.M. et Binet, P. (2007) Phenanthrene toxicity and dissipation in rhizosphere of grassland plants (*Lolium perenne* L. and *Trifolium pratense* L.) in three spiked soils. *Plant and Soil*, **294**, 103-112.
- Chiou, C.T., Sheng, G. et Manes, M. (2001) A Partition-Limited Model for the Plant Uptake of Organic Contaminants from Soil and Water. *Environmental Science & Technology*, **35**, 1437-1444.
- Cofield, N., Banks, M.K. et Schwab, A.P. (2008) Lability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Chemosphere*, **70**, 1644-1652.
- Collins, C.D. et Finnegan, E. (2010) Modeling the Plant Uptake of Organic Chemicals, Including the Soil-Air-Plant Pathway. *Environmental Science & Technology*, **44**, 998-1003.
- Collins, C., Fryer, M. et Grosso, A. (2005) Plant Uptake of Non-Ionic Organic Chemicals. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 45-52.
- Cornelissen, G., van Noort, P.C.M. et Govers, H.A.J. (1997) Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: Sediment extraction with Tenax® and effects of contact time and solute hydrophobicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**, 1351-1357.
- Cornelissen, G., Rigterink, H., Ferdinandy, M.M. et van Noort, P.C. (1998) Rapidly desorbing fractions of PAHs in contaminated sediments as a predictor of the extent of bioremediation. *Environmental Science & Technology*, **32**, 966-970.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R. et Huang, J.W. (1995) Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, **13**, 393-397.
- Cuypers, C., Pancras, T., Grotenhuis, T. et Rulkens, W. (2002) The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques. *Chemosphere*, **46**, 1235-1245.
- Debiane, D., Garçon, G., Verdin, A., Fontaine, J., Durand, R., Grandmougin-Ferjani, A., Shirali, P. et Sahraoui, A.L.-H. (2008) In vitro evaluation of the oxidative stress and genotoxic potentials of anthracene on mycorrhizal chicory roots. *Environmental and Experimental Botany*, **64**, 120-127.

Bibliographie

- Desalme, D., Binet, P., Epron, D., Bernard, N., Gilbert, D., Toussaint, M.-L., Plain, C. et Chiapusio, G. (2011) Atmospheric phenanthrene pollution modulates carbon allocation in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Environmental Pollution*, **159**, 2759-2765.
- Doumergue, Y. (1962) La cokéfaction du charbon lorrain. *L'information géographique*, **26**, 20-22.
- Dupuy, J., Ouvrard, S., Leglize, P. et Sterckeman, T. (2015) Morphological and physiological responses of maize (*Zea mays*) exposed to sand contaminated by phenanthrene. *Chemosphere*, **124**, 110-115.
- Endo, S., Hale, S.E., Goss, K.-U. et Arp, H.P.H. (2011) Equilibrium Partition Coefficients of Diverse Polar and Nonpolar Organic Compounds to Polyoxymethylene (POM) Passive Sampling Devices. *Environmental Science & Technology*, **45**, 10124-10132.
- Enstone, D.E. et Peterson, C.A. (2005) Suberin lamella development in maize seedling roots grown in aerated and stagnant conditions. *Plant, Cell & Environment*, **28**, 444-455.
- Fan, S., Li, P., Gong, Z., Ren, W. et He, N. (2008) Promotion of pyrene degradation in rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Chemosphere*, **71**, 1593-1598.
- Fismes, J., Perrin-Ganier, C., Empereur-Bissonnet, P. et Morel, J.L. (2002) Soil-to-Root Transfer and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Vegetables Grown on Industrial Contaminated Soils. *Journal of Environment Quality*, **31**, 1649.
- Földes-Papp, Z., Demel, U. et Tilz, G.P. (2003) Laser scanning confocal fluorescence microscopy: an overview. *International Immunopharmacology*, **3**, 1715-1729.
- Forêt, R. (2006) *Dico de Bio*. De Boeck Supérieur.
- Gan, S., Lau, E.V. et Ng, H.K. (2009) Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*, **172**, 532-549.
- Gao, Y., Cheng, Z., Ling, W. et Huang, J. (2010) Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae contribute to the uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by plant roots. *Bioresource technology*, **101**, 6895-6901.
- Gao, Y. et Collins, C.. (2009) Uptake Pathways of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in White Clover. *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 6190-6195.
- Gao, Y. et Zhu, L. (2004) Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere*, **55**, 1169-1178.
- Gomez-Eyles, J.L., Jonker, M.T.O., Hodson, M.E. et Collins, C.D. (2012) Passive Samplers Provide a Better Prediction of PAH Bioaccumulation in Earthworms and Plant Roots than Exhaustive, Mild Solvent, and Cyclodextrin Extractions. *Environmental Science & Technology*, **46**, 962-969.

Bibliographie

- Haritash, A.K. et Kaushik, C.P. (2009) Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of hazardous materials*, **169**, 1–15.
- Hatzinger, P. et Alexander, M. (1995) Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability. *Environmental Science & Technology*, **29**, 537–545.
- Hawthorne, S.B., Jonker, M.T., van der Heijden, S.A., Grabanski, C.B., Azzolina, N.A. et Miller, D.J. (2011) Measuring picogram per liter concentrations of freely dissolved parent and alkyl PAHs (PAH-34), using passive sampling with polyoxymethylene. *Analytical chemistry*, **83**, 6754–6761.
- Hawthorne, S.B., Miller, D.J. et Grabanski, C.B. (2009) Measuring Low Picogram Per Liter Concentrations of Freely Dissolved Polychlorinated Biphenyls in Sediment Pore Water Using Passive Sampling with Polyoxymethylene. *Analytical Chemistry*, **81**, 9472–9480.
- Heijden, S.A. van der et Jonker, M.T.O. (2009) PAH Bioavailability in Field Sediments: Comparing Different Methods for Predicting in Situ Bioaccumulation. *Environmental Science & Technology*, **43**, 3757–3763.
- Henner, P. (2000) *Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques*. Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.
- Henner, P., Schiavon, M., Druelle, V. et Lichtfouse, E. (1999) Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. *Organic Geochemistry*, **30**, 963–969.
- Hodge, A. (2009) Root decisions. *Plant, cell & environment*, **32**, 628–640.
- Honeyman, B.D. et Santschi, P.H. (1988) Metals in aquatic systems. *Environmental Science & Technology*, **22**, 862–871.
- Ten Hulscher, T.E., Postma, J., den Besten, P.J., Stroomborg, G.J., Belfroid, A., Wegener, J.W., Faber, J.H., van der Pol, J.J., Hendriks, A.J. et van Noort, P. (2003) Tenax extraction mimics benthic and terrestrial bioavailability of organic compounds. *Environmental toxicology and chemistry*, **22**, 2258–2265.
- Jiang, M. et Zhang, J. (2002) Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of Experimental Botany*, **53**, 2401–2410.
- Jiao, X.C., Xu, F.L., Dawson, R., Chen, S.H. et Tao, S. (2007) Adsorption and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to rice roots. *Environmental Pollution*, **148**, 230–235.
- Jones, D.L., Hodge, A. et Kuzyakov, Y. (2004) Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, **163**, 459–480.

Bibliographie

- Kang, F., Chen, D., Gao, Y. et Zhang, Y. (2010) Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcellular root tissues of ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *BMC Plant Biology*, **10**, 210.
- Kaplan, C.W. et Kitts, C.L. (2004) Bacterial succession in a petroleum land treatment unit. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 1777–1786.
- Karickhoff, S.W. (1981) Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*, **10**, 833-846.
- Kelsey, J.W., Kottler, B.D. et Alexander, M. (1996) Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environmental science & technology*, **31**, 214–217.
- Kipopoulou, A.M., Manoli, E. et Samara, C. (1999) Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environmental Pollution*, **106**, 369-380.
- Kummerová, M. et Kmentová, E. (2004) Photoinduced toxicity of fluoranthene on germination and early development of plant seedling. *Chemosphere*, **56**, 387-393.
- Kummerová, M., Krulová, J., Zezulka, Š. et Tříška, J. (2006) Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. *Chemosphere*, **65**, 489-496.
- Kummerová, M., Váňová, L., Fišerová, H., Klemš, M., Zezulka, Š. et Krulová, J. (2010) Understanding the effect of organic pollutant fluoranthene on pea in vitro using cytokinins, ethylene, ethane and carbon dioxide as indicators. *Plant Growth Regulation*, **61**, 161-174.
- Kummerová, M., Zezulka, Š., Babula, P. et Váňová, L. (2013) Root response in *Pisum sativum* and *Zea mays* under fluoranthene stress: Morphological and anatomical traits. *Chemosphere*, **90**, 665-673.
- Kummerová, M., Zezulka, Š., Váňová, L. et Fišerová, H. (2012) Effect of organic pollutant treatment on the growth of pea and maize seedlings. *Central European Journal of Biology*, **7**, 159-166.
- Langer, I., Syafruddin, S., Steinkellner, S., Puschenreiter, M. et Wenzel, W.W. (2010) Plant growth and root morphology of *Phaseolus vulgaris* L. grown in a split-root system is affected by heterogeneity of crude oil pollution and mycorrhizal colonization. *Plant and Soil*, **332**, 339-355.
- Laplaze, L., Benkova, E., Casimiro, I., Maes, L., Vanneste, S., Swarup, R., Weijers, D., Calvo, V., Parizot, B., Herrera-Rodriguez, M.B., Offringa, R., Graham, N., Dumas, P., Friml, J., Bogusz, D., Beeckman, T. et Bennett, M. (2007) Cytokinins Act Directly on Lateral Root Founder Cells to Inhibit Root Initiation. *The Plant Cell Online*, **19**, 3889 -3900.

Bibliographie

- Lawlor, D.W. (2002) Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. *Annals of Botany*, **89**, 871-885.
- Leyser, O. (2006) Dynamic Integration of Auxin Transport and Signalling. *Current Biology*, **16**, R424-R433.
- Leyval, C. et Binet, P. (1998) Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Environmental Quality*, **27**, 402-407.
- Li, X., Feng, Y. et Sawatsky, N. (1997) Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediated soils. *Plant and Soil*, **192**, 219-226.
- Li, J.H., Gao, Y., Wu, S.C., Cheung, K.C., Wang, X.R. et Wong, M.H. (2008) Physiological and Biochemical Responses of Rice (*Oryza Sativa* L.) to Phenanthrene and Pyrene. *International Journal of Phytoremediation*, **10**, 106-118.
- Ling, W., Dang, H. et Liu, J. (2013) In situ gradient distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated rhizosphere soil: a field study. *Journal of Soils and Sediments*, **13**, 677-685.
- Li, H., Sheng, G., Chiou, C.T. et Xu, O. (2005) Relation of Organic Contaminant Equilibrium Sorption and Kinetic Uptake in Plants. *Environmental Science & Technology*, **39**, 4864-4870.
- Liste, H.-H. et Alexander, M. (2002) Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil. *Chemosphere*, **46**, 1011-1017.
- Liu, H., Weisman, D., Ye, Y., Cui, B., Huang, Y., Colón-Carmona, A. et Wang, Z. (2009a) An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, **176**, 375-382.
- Liu, H., Weisman, D., Ye, Y., Cui, B., Huang, Y., Colón-Carmona, A. et Wang, Z. (2009b) An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, **176**, 375-382.
- Lövenstein, H., Lantinga, E., Rabbinge, R. et Van Keulen, H. (1995) *Potential Crop Production. Principles of Production Ecology*. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- Lux, A., Morita, S., Abe, J.U.N. et Ito, K. (2005) An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples. *Annals of Botany*, **96**, 989-996.
- Mackay, D., Shiu, W.-Y., Ma, K.-C. et Lee, S.C. (2006) *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Second Edition*. CRC Press.

Bibliographie

- MacRae, J.D. et Hall, K.J. (1998) Comparison of methods used to determine the availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment. *Environmental science & technology*, **32**, 3809–3815.
- Marschner, P. (2012) *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press.
- McKone, T.E. et Maddalena, R.L. (2007) Plant uptake of organic pollutants from soil: Bioconcentration estimates based on models and experiments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **26**, 2494-2504.
- McNally, D.L., Mihelcic, J.R. et Lueking, D.R. (1999) Biodegradation of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and nitrate-reducing conditions. *Chemosphere*, **38**, 1313–1321.
- Menzie, C.A., Potocki, B.B. et Santodonato, J. (1992) Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental Science & Technology*, **26**, 1278-1284.
- Merkl, N., Schultze-Kraft, R. et Infante, C. (2005a) Assessment Of Tropical Grasses And Legumes For Phytoremediation Of Petroleum-Contaminated Soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, **165**, 195-209.
- Merkl, N., Schultze-Kraft, R. et Infante, C. (2005b) Phytoremediation in the tropics – influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids. *Environmental Pollution*, **138**, 86-91.
- Meudec, A., Dussauze, J., Deslandes, E. et Poupart, N. (2006) Evidence for bioaccumulation of PAHs within internal shoot tissues by a halophytic plant artificially exposed to petroleum-polluted sediments. *Chemosphere*, **65**, 474-481.
- Meyer, C.J., Seago, J.L. et Peterson, C.A. (2009) Environmental effects on the maturation of the endodermis and multiseriate exodermis of *Iris germanica* roots. *Annals of Botany*, **103**, 687–702.
- Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie. BASOL. URL <http://basol.developpement-durable.gouv.fr/tableaux/home.htm> [accessed 3 juin 2014]
- Murphy, E.M., Zachara, J.M. et Smith, S.C. (1990) Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. *Environmental Science & Technology*, **24**, 1507-1516.
- Nabors, M. (2008) *Biologie végétale - Structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies*. Pearson Education France, Paris.
- Nguyen, C. (2003) Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie*, **23**, 375–396.
- Nguyen, T.H., Goss, K.-U. et Ball, W.P. (2005) Polyparameter Linear Free Energy Relationships for Estimating the Equilibrium Partition of Organic Compounds between Water and the

Bibliographie

- Natural Organic Matter in Soils and Sediments. *Environmental Science & Technology*, **39**, 913-924.
- Van Noort, P., Cornelissen, G., ten Hulscher, T.E., Vrind, B.A., Rigterink, H. et Belfroid, A. (2003) Slow and very slow desorption of organic compounds from sediment: influence of sorbate planarity. *Water research*, **37**, 2317–2322.
- Notions essentielles de botanique générale: la racine. URL <http://floronet.pagesperso-orange.fr/gene/botagen/gen2.htm> [accessed 1 octobre 2014]
- Oguntimehin, I., Eissa, F. et Sakugawa, H. (2010) Negative effects of fluoranthene on the ecophysiology of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill): Fluoranthene mists negatively affected tomato plants. *Chemosphere*, **78**, 877-884.
- Oleszczuk, P. (2008) Tenax-TA extraction as predictor for free available content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in composted sewage sludges. *Journal of environmental monitoring: JEM*, **10**, 883-888.
- Oleszczuk, P. (2009) Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting. *Bioresource Technology*, **100**, 413-420.
- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. et Tran, L.-S.P. (2014) ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytologist*, **202**, 35–49.
- Ouvrard, S., Barnier, C., Bauda, P., Beguiristain, T., Biache, C., Bonnard, M., Caupert, C., Cébron, A., Cortet, J., Cotelle, S., Dazy, M., Faure, P., Masfaraud, J.F., Nahmani, J., Palais, F., Poupin, P., Raoult, N., Vasseur, P., Morel, J.L. et Leyval, C. (2011) In Situ Assessment of Phytotechnologies for Multicontaminated Soil Management. *International Journal of Phytoremediation*, **13**, 245-263.
- Ouvrard, S., Leglize, P. et Morel, J.L. (2014) PAH Phytoremediation: Rhizodegradation or Rhizoattenuation? *International Journal of Phytoremediation*, **16**, 46-61.
- Parrish, Z.D., Banks, M.K. et Schwab, A.P. (2005) Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. *Environmental Pollution*, **137**, 187-197.
- Pašková, V., Hilscherová, K., Feldmannová, M. et Bláha, L. (2006) Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their N-heterocyclic derivatives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **25**, 3238–3245.
- Paterson, S., Mackay, D., Tam, D. et Shiu, W.Y. (1990) Uptake of organic chemicals by plants: A review of processes, correlations and models. *Chemosphere*, **21**, 297-331.

Bibliographie

- Peng, R.-H., Xiong, A.-S., Xue, Y., Fu, X.-Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.-S. et Yao, Q.-H. (2008) Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, **32**, 927-955.
- Pignatello, J.J. et Xing, B.S. (1996) Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environmental Science & Technology*, **30**, 1-11.
- Pospíšilová, J. (2003) Participation of Phytohormones in the Stomatal Regulation of Gas Exchange During Water Stress. *Biologia Plantarum*, **46**, 491-506.
- Qiu, X., Leland, T.W., Shah, S.I., Sorensen, D.L. et Kendall, E.W. (1997) Field study: grass remediation for clay soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons.
- Rao, I.M., Sharp, R.E. et Boyer, J.S. (1987) Leaf Magnesium Alters Photosynthetic Response to Low Water Potentials in Sunflower. *Plant Physiology*, **84**, 1214-1219.
- 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**, 241-248.
- Reeves, W.R., McDonald, T.J., Cizmas, L. et Donnelly, K.C. (2004) Partitioning and desorption behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons from disparate sources. *Science of the total environment*, **332**, 183-192.
- Reid, B.J., Jones, K.C. et Semple, K.T. (2000) Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments—a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution*, **108**, 103-112.
- Rezek, J., in der Wiesche, C., Mackova, M., Zadrazil, F. et Macek, T. (2008) The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. *Chemosphere*, **70**, 1603-1608.
- Ryan, J.A., Bell, R.M., Davidson, J.M. et O'connor, G.A. (1988) Plant uptake of non-ionic organic chemicals from soils. *Chemosphere*, **17**, 2299-2323.
- Samsøe-Petersen, L., Larsen, E.H., Larsen, P.B. et Bruun, P. (2002) Uptake of Trace Elements and PAHs by Fruit and Vegetables from Contaminated Soils. *Environmental Science & Technology*, **36**, 3057-3063.
- Schwab, A.P., Al-Assi, A.A. et Banks, M.K. (1998) Adsorption of Naphthalene onto Plant Roots. *Journal of Environment Quality*, **27**, 220.
- Schwab, K. et Brack, W. (2007) Large volume TENAX® extraction of the bioaccessible fraction of sediment-associated organic compounds for a subsequent effect-directed analysis. *Journal of Soils and Sediments*, **7**, 178-186.

Bibliographie

- Semple, K.T., Morriss, A.W.J. et Paton, G.I. (2003) Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, **54**, 809–818.
- Shann, J.R. (1995) The role of plants and plant/microbial systems in the reduction of exposure. *Environmental Health Perspectives*, **103**, 13-15.
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C.A. et Zhao, C.-X. (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, **331**, 215-225.
- Smith, M.J., Flowers, T.H., Duncan, H.J. et Alder, J. (2006) Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues. *Environmental Pollution*, **141**, 519-525.
- Smith, G.S., Johnston, C.M. et Cornforth, I.S. (1983) Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytologist*, **94**, 537–548.
- Soil contamination widespread in Europe — European Environment Agency (EEA). Highlight. URL <http://www.eea.europa.eu/highlights/soil-contamination-widespread-in-europe> [accessed 5 juin 2014]
- Sterckeman, T., Ouvrard, S. et Leglize, P. (2012) Phytoremédiation des sols. Les techniques de l'ingénieur, BIO5300.
- Stokes, J.D., Wilkinson, A., Reid, B.J., Jones, K.C. et Semple, K.T. (2005) Prediction of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in contaminated soils using an aqueous hydroxypropyl- β -cyclodextrin extraction technique. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 1325-1330.
- Swindell, A.L. et Reid, B.J. (2006) Comparison of selected non-exhaustive extraction techniques to assess PAH availability in dissimilar soils. *Chemosphere*, **62**, 1126-1134.
- Tao, S., Cui, Y.H., Xu, F.L., Li, B.G., Cao, J., Liu, W.X., Schmitt, G., Wang, X.J., Shen, W.R., Qing, B.P. et Sun, R. (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin. *Science of The Total Environment*, **320**, 11-24.
- Tezara, W., Mitchell, V.J., Driscoll, S.D. et Lawlor, D.W. (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, **401**, 914-917.
- Thomma, B.P., Eggermont, K., Penninckx, I.A., Mauch-Mani, B., Vogelsang, R., Cammue, B.P. et Broekaert, W.F. (1998) Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**, 15107–15111.

Bibliographie

- Váňová, L., Kummerová, M., Klemš, M. et Zezulka, Š. (2009) Fluoranthene influences endogenous abscisic acid level and primary photosynthetic processes in pea (*Pisum sativum* L.) plants in vitro. *Plant Growth Regulation*, **57**, 39-47.
- Vile, D., Garnier, É., Shipley, B., Laurent, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Lavorel, S., Díaz, S., Hodgson, J.G., Lloret, F., Midgley, G.F., Poorter, H., Rutherford, M.C., Wilson, P.J. et Wright, I.J. (2005) Specific Leaf Area and Dry Matter Content Estimate Thickness in Laminar Leaves. *Annals of Botany*, **96**, 1129-1136.
- Ward, J.M. et Schroeder, J.I. (1994) Calcium-Activated K⁺ Channels and Calcium-Induced Calcium Release by Slow Vacuolar Ion Channels in Guard Cell Vacuoles Implicated in the Control of Stomatal Closure. *The Plant Cell Online*, **6**, 669-683.
- Weisman, D., Alkio, M. et Colón-Carmona, A. (2010) Transcriptional responses to polycyclic aromatic hydrocarbon-induced stress in *Arabidopsis thaliana* reveal the involvement of hormone and defense signaling pathways. *BMC Plant Biology*, **10**, 59.
- Wenzel, W.W. (2009) Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil*, **321**, 385-408.
- Wilcke, W. (2000) SYNOPSIS Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soil — a Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **163**, 229-248.
- Wild, S.R., Berrow, M.L., McGrath, S.P. et Jones, K.C. (1992a) Polynuclear aromatic hydrocarbons in crops from long-term field experiments amended with sewage sludge. *Environmental Pollution*, **76**, 25-32.
- Wild, E., Dent, J., Barber, J.L., Thomas, G.O. et Jones, K.C. (2004) A Novel Analytical Approach for Visualizing and Tracking Organic Chemicals in Plants. *Environmental Science & Technology*, **38**, 4195-4199.
- Wild, E., Dent, J., Thomas, G.O. et Jones, K.C. (2005a) Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots. *Environmental science & technology*, **39**, 3695-3702.
- Wild, E., Dent, J., Thomas, G.O. et Jones, K.C. (2005b) Direct Observation of Organic Contaminant Uptake, Storage, and Metabolism within Plant Roots. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 3695-3702.
- Wild, E., Dent, J., Thomas, G.O. et Jones, K.C. (2006) Visualizing the Air-To-Leaf Transfer and Within-Leaf Movement and Distribution of Phenanthrene: Further Studies Utilizing Two-Photon Excitation Microscopy. *Environmental Science & Technology*, **40**, 907-916.
- Wild, S.R. et Jones, K.C. (1992b) Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sludges: screening for their potential to transfer to crop plants and livestock. *Science of The Total Environment*, **119**, 85-119.

Bibliographie

- Wilson, S.C. et Jones, K.C. (1993) Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Environmental Pollution*, **81**, 229-249.
- Wittig, R., Ballach, H.-J. et Kuhn, A. (2003) Exposure of the Roots of *Populus nigra* L. cv. Loenen to PAHs and its Effect on growth and water balance. *Environmental Science and Pollution Research*, **10**, 235-244.
- Xu, S., Chen, Y., Lin, Q., Wu, W., Xue, S. et Shen, C. (2005) Uptake and accumulation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by Ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Environmental Sciences (China)*, **17**, 817-822.
- You, J., Landrum, P.F. et Lydy, M.J. (2006) Comparison of chemical approaches for assessing bioavailability of sediment-associated contaminants. *Environmental science & technology*, **40**, 6348-6353.
- Zhang, J. et Davies, W.J. (1987) Increased Synthesis of ABA in Partially Dehydrated Root Tips and ABA Transport from Roots to Leaves. *Journal of Experimental Botany*, **38**, 2015-2023.
- Zhang, M. et Zhu, L. (2009) Sorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Carbohydrates and Lipids of Ryegrass Root and Implications for a Sorption Prediction Model. *Environmental Science & Technology*, **43**, 2740-2745.
- Zhan, X., Liang, X., Jiang, T. et Xu, G. (2013a) Interaction of phenanthrene and potassium uptake by wheat roots: a mechanistic model. *BMC Plant Biology*, **13**, 168.
- Zhan, X., Liang, X., Xu, G. et Zhou, L. (2013b) Influence of plant root morphology and tissue composition on phenanthrene uptake: Stepwise multiple linear regression analysis. *Environmental Pollution*, **179**, 294-300.
- Zhan, X., Ma, H., Zhou, L., Liang, J., Jiang, T. et Xu, G. (2010) Accumulation of phenanthrene by roots of intact wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings: passive or active uptake? *BMC Plant Biology*, **10**, 52.
- Zhan, X., Zhang, X., Yin, X., Ma, H., Liang, J., Zhou, L., Jiang, T. et Xu, G. (2012) H⁺/phenanthrene Symporter and Aquaglyceroporin Are Implicated in Phenanthrene Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.) Roots. *Journal of environmental quality*, **41**, 188-196.

TABLE DES

ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1 – Représentations des 16 HAP prioritaires retenus par l’US-EPA avec leurs abréviations et leurs masses moléculaires (d’après Mackay et al. 2006).....	9
Figure 2 – Mécanismes d’interaction des contaminants organiques avec le sol (d’après Semple et al. 2003).....	11
Figure 3 – Schéma général définissant la disponibilité.....	13
Figure 4 – Principaux mécanismes de phytoremédiation (Sterckeman et al. 2012)	17
Figure 5 – Fonctionnement schématique de la physiologie d’une plante supérieure (d’après Nabors 2008).....	21
Figure 6 – Architectures racinaires de type pivotant et fasciculé (d’après « Notions essentielles de botanique générale : la racine »).....	22
Figure 7 - Structure type d’une racine (Nabors 2008).....	24
Figure 8 - Voie d’absorption et de transports de l’eau et des sels minéraux dans les racines (Nabors 2008).....	26
Figure 9 - Illustration des voies de transfert des polluants organiques, depuis les phases solide et liquide d’un sol aux différents organes (racines, tige, feuilles et fruits) de la plante. K_d = coefficient de partition du polluant entre les phases solide et liquide du sol; RCF = facteur de concentration racinaire; TSCF = facteur de concentration dans le flux de transpiration; SCF = facteur de concentration dans la tige; BCF = facteur de bioconcentration sur masse sèche ou fraîche (d’après McKone et al. 2007).	33
Figure 10 – Représentation de la structure du squelette de l’acide naphthalèneacétique	40
Figure 11 - Schéma conceptuel des interactions entre les acteurs majeurs de la rhizodégradation	42

Figure 12 – Plan des traitements physiques, chimiques et techniques analytiques utilisés lors des expérimentations menées sur les terres anciennement contaminées. CRE = capacité de rétention en eau ; DCM = dichlorométhane ; ACN = acétonitrile ; MOE = matière organique extractible .	57
Figure 13- Schéma du remplissage des cellules de l'ASE.....	60
Figure 14 – Schéma de synthèse des interactions entre les molécules de HAP originaires de terre contaminée avec l'eau et la membrane POM.....	63
Figure 15 – Chambre de mesure des échanges gazeux d'un Li-Cor 6200.....	65
Figure 16 – Photographie du scanner adapté à l'utilisation du logiciel d'analyse d'image WinRhizo® Reg et image d'un système racinaire de maïs de 28 jours cultivé sur du sable non contaminé.	68
Figure 17 – Schéma de la découpe régulière de la racine principale et la réalisation des coupes histologiques par vibratome	69
Figure 18 - Photographies de coupes de racines de maïs colorées au Fluorol Yellow 088 et observées au filtre FITC en microscopie à épifluorescence : A) endoderme subérifié à 89 % (objectif x10) ; B) exoderme subérifié à 100 %(objectif x2). Barre blanche : 200 µm.	70
Figure 19 – Chromatogramme de 15 HAP (0,54 mg L ⁻¹) séparés sur la colonne Pursuit 3 PAH, détectés en fluorescence	75
Figure 20 – Distribution en fonction du nombre de cycles des HAP totaux (%)	85
Figure 21 – Teneurs totales en HAP (mg kg ⁻¹ BMF) quantifiées dans les racines de maïs cultivés sur les terres industrielles	87
Figure 22 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP absorbés dans le système racinaire des maïs cultivés sur terres industrielles	88
Figure 23 - Teneurs totales en HAP (mg kg ⁻¹ BMF) quantifiées dans les parties aériennes de maïs cultivés sur les terres industrielles.....	90

Figure 24 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP quantifiés dans les systèmes aériens de maïs cultivés sur terres industrielles	91
Figure 25 - Teneurs totales en HAP (mg kg^{-1}) quantifiées d'après les extractions par résine Tenax® sur les terres industrielles	94
Figure 26 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des HAP extraits par résine Tenax® dans les terres industrielles.....	95
Figure 27 - Teneurs totales en HAP dissous ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dans les terres industrielles	97
Figure 28 - Distribution en fonction du nombre de cycles (%) des 13 HAP dissous dans l'eau porale des terres industrielles	98
Figure 29 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale.....	102
Figure 30 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax	103
Figure 31 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP totaux	104
Figure 32 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale.....	107
Figure 33 - Relation entre les concentrations individuelles des 14 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax	108

Figure 34 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) à partir des concentrations en HAP totaux	109
Figure 35 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle proposé à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax	112
Figure 36 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle proposé à partir des concentrations en HAP totaux....	113
Figure 37 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP dissous dans l'eau porale.....	115
Figure 38 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP extraits par résine Tenax	116
Figure 39 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) à partir des concentrations en HAP totaux.....	117
Figure 40 - Visualisation d'un amas de PHE, dans la racine principale de maïs, exposé à 150 mg PHE kg ⁻¹ , sous microscope à épifluorescence, en filtre UV-1A, localisé dans l'exoderme après 10 j de culture (à gauche) ou dans l'endoderme après 20 j de culture (à droite), sur une coupe transversale (200 µm d'épaisseur) à environ 80 % de distance à l'apex. La flèche rouge désigne l'amas de PHE. EX=exoderme ; C=cortex ; EN=endoderme ; X1=xylème primaire ; X2=xylème secondaire ; S=stèle.....	119

Figure 41 - Taux de recouvrement (%) des amas de PHE en fonction de la distance à l'apex de la racine principale de maïs exposé à 50 et 150 mg PHE kg ⁻¹ (n=5)	121
Figure 42 - Observations au microscope à épifluorescence des amas de PHE dans la racine principale de maïs exposés à 50 (A) et 150 (B) mg PHE kg ⁻¹ pendant 10 j, à environ 60 % de distance de l'apex (images issues de la superposition de deux photographies prises sous filtre UV-1A (rouge) et filtre FITC (verte)).	123
Figure 43 - Visualisation des amas de PHE sous microscope confocale. (A) et (B) Amas de PHE accumulé dans l'exoderme (vue en x-y) (C) Deux amas localisés dans l'épaisseur de l'exoderme (vue en x-z). Les cristaux de PHE sont visibles en rouge et l'autofluorescence des composés constituant la racine en jaune-vert.	123
Figure 44 – Représentation hypothétique du transfert des HAP du sol à la racine	125
Figure 45 – Moyennes des biomasses sèches totales par plante (g) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4).....	131
Figure 46 – Allocation de la biomasse (%) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4).....	132
Figure 47 – Nombre de feuilles moyen par plante selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)	133
Figure 48 – Longueurs racinaires totales des maïs selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)	134
Figure 49 – Distribution du diamètre des racines (mm) selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n=4)	137
Figure 50 – Humidité pondérale relative (%) des systèmes racinaires et aériens des maïs cultivés sur les terres industrielles contaminées (n=4)	139

Figure 51 – Concentrations molaires en éléments majeurs dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)	141
Figure 52 - Concentrations molaires en Cu, Mn et Zn dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 3 et 4)	144
Figure 53 – Concentrations molaires en Fe dans le système racinaire selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)	145
Figure 54 – Représentations des ACP des paramètres morphologiques racinaires avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\sum 13$ HAP dans les racines selon deux axes (F2 à gauche et F3 à droite) (BMS : biomasse sèche ; % _{0,2-0,4} : proportion des racines de diamètre compris entre 0,2 et 0,4 mm ; % _{HMP} : humidité pondérale ; % BM : allocation de la biomasse du système racinaire dans la plante entière ; HAP : concentrations en 13 HAP dans le système racinaire ; Zn, Fe, Mn, Mg, Ca, K : concentrations en éléments nutritifs dans le système racinaire)	146
Figure 55 - Concentrations molaires en éléments majeurs dans le système aérien selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)	149
Figure 56 - Concentrations molaires en éléments traces métalliques dans le système aérien selon la terre industrielle utilisée comme support de culture (n entre 1 et 4)	150
Figure 57 - Représentations des ACP de paramètres morphologiques du système aérien avec les teneurs en éléments nutritifs et en $\sum 13$ HAP dans les parties aériennes selon deux axes (F2 à gauche et F3 à droite) (BMS : biomasse sèche ; Nbre_Feuilles : nombre de feuilles par plante ; % _{HMP} : humidité pondérale ; % BM : allocation de la biomasse du système aérien dans la plante entière ; HAP : concentrations en 13 HAP dans le système aérien ; Zn, Cu, K, P, Fe, Ca, Mg, Mn : concentrations en éléments nutritifs dans le système racinaire)	152
Figure 58 - Représentations des ACP des BMS racinaires (à gauche) et aériennes (à droite) avec les propriétés agronomiques des terres industrielles selon les axes 1 et 2 (C/N : ratio	

Carbone/Azote; Limon, Argile, Sable : texture ; CO : concentration en carbone organique ; Exch : éléments échangeables ; HAP_dissous : concentrations des 13 HAP dissous dans la solution ; HAP_terre : concentrations des 13 HAP totaux)	154
Figure 59 - Photographies couleurs, prises sous UV-1A, des grains de sable 10 jours après contamination à (A) 0, (B) 50 et (C) 150 mg PHE kg ⁻¹ . Barre blanche = 300µm.	156
Figure 60 – Concentrations finales de PHE dans le sable à l’issue de l’expérimentation avec et sans plante (n = 6)	157
Figure 61 – Évolution temporelle des concentrations en PHE dissous en fonction de la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 3 et 6).....	158
Figure 62 – Concentrations initiales et finales de nitrate en solution en solution lors de l’expérimentation sans plante (n = 3).....	159
Figure 63 – Photographies illustrant des plants de maïs en pot de culture après 28 j de culture sur sable complétement en solution nutritive et artificiellement contaminé en PHE selon plusieurs niveaux de concentration (mg PHE kg ⁻¹)	161
Figure 64 - Biomasses sèches totales par plante (g) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)	162
Figure 65 – Allocation de la biomasse (%) du maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)	163
Figure 66 - Longueurs racinaires totales du maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)	165
Figure 67 - Distribution du diamètre des racines (mm) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n = 6).....	167
Figure 68 – Humidité pondérale relative des différents organes des maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n = 6)	169

Figure 69 - Évolution du taux de subérification de l'exoderme et l'endoderme de la racine principale selon les trois niveaux d'exposition en PHE à 10 j de culture (n = 5)	176
Figure 70 - Évolution du taux de subérification de l'exoderme et l'endoderme de la racine principale selon les trois niveaux d'exposition en PHE à 20 j de culture (n = 5)	177
Figure 71 - Photographie d'une coupe (200 μm d'épaisseur) de la racine principale de maïs exposée à 150 mg PHE kg^{-1} , durant 10 jours, située à 50 % de distance à l'apex, colorée au Fluorol yellow 088. L'image est issue de la superposition de photographie prise sous filtre UV-1A (bleue) et filtre FITC (verte). Les flèches rouges montrent des amas de PHE. EX = exoderme ; C = cortex ; EN = endoderme; X1 = xylème primaire ; X2 = xylème secondaire ; S = stèle.	178
Figure 72 – Représentation des interactions entre les HAP et le maïs dans un sol contaminé ..	186
Figure 73 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale.....	225
Figure 74 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax	226
Figure 75 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP totaux	227
Figure 76 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) d'après les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale.....	228

Figure 77 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle de (Cofield et al. 2008) d’après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax	229
Figure 78 - Relation en échelle logarithmique entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) d’après les concentrations en HAP totaux	230
Figure 79 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle proposé d’après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax	231
Figure 80 - Relation en échelle logarithmique entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg ⁻¹ BMS) et prédites par le modèle proposé d’après les concentrations en HAP totaux.....	232
Figure 81 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d’après les concentrations en HAP dissous dans l’eau porale.....	233
Figure 82 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d’après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax	234
Figure 83 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg ⁻¹ BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d’après les concentrations en HAP totaux.....	235
Figure 84 – Intensité moyenne de subérification de l’endoderme et de l’exoderme de la racine principale de maïs exposé à 0, 50 ou 150 mg PHE kg ⁻¹ durant 10 ou 20 jours (n=5).....	236

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 – Caractéristiques chimiques des 16 HAP prioritaires retenus par l’US-EPA (Mackay et al. 2006).....	10
Tableau 2 – Estimations des coûts de procédés de remédiations physico-chimiques et de phytoremédiation de sols en France et aux États-Unis (d’après Sterckeman et al. 2012).....	19
Tableau 3 – Exemples d’études sur la rhizodégradation d’HAP ou d’hydrocarbures de sols contaminés.....	29
Tableau 4 – Propriétés agronomiques des terres de friches étudiées. (1) NF X 31-10711263, (2) NF ISO 10694, (3) NF ISO 13878, (4) NF ISO 10390, (5) NF ISO 10693, (6) NF ISO 11263, (7) NF X 31-130, (8) méthode ICP-Ms INRA, (9) NF X 31-147, NF ISO 22036 et NF EN ISO 17294-2.....	51
Tableau 5 – Gradient d’élution ACN/Eau pour la séparation de HAP en HPLC sur la colonne Pursuit 3 PAH, détectés en fluorescence.....	73
Tableau 6 – Temps de rétention et longueurs d’onde en fluorescence utilisés pour l’analyse de 15 HAP extraits depuis la biomasse aérienne de maïs	74
Tableau 7 – Quantités de MOE (n = 3) et concentrations des HAP quantifiées depuis les extraits de terres par solvant (HAP totaux, n = 1).....	84
Tableau 8 – Coefficients de détermination (R^2) des corrélations linéaires entre les concentrations de HAP totaux, extraits par résine Tenax® et dissous dans l’eau porale avec les teneurs en HAP dans les racines et les feuilles de la plante (sur biomasse sèche) en fonction du nombre de cycles et la somme des 13 HAP	100
Tableau 9 – Nombre de feuilles, moyennes des surfaces foliaires spécifiques (SLA), proportion de sénescence des feuilles et épaisseurs foliaires du maïs (ELT) selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n entre 4 et 6)	164

Tableau 10 – Bilan des échanges gazeux en CO ₂ et H ₂ O sur la deuxième feuille de maïs après 25 j de culture sur sable artificiellement contaminé en PHE selon plusieurs niveaux de concentration	168
Tableau 11 – Concentrations molaires en éléments nutritifs (mol g ⁻¹) dans les systèmes aériens et racinaires des maïs selon la concentration initiale en PHE dans le sable (n = 3 et 6). Les différences statistiques sont étudiées par élément et distinctement entre les systèmes aériens et racinaires.	171
Tableau 12 –Concentrations (mg kg ⁻¹) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits de terres industrielles, dits « HAP totaux » (n =1).....	220
Tableau 13 - Moyennes des humidités pondérales, des concentrations (mg kg ⁻¹ BMS) individuelles des 16 HAP réglementaires et de leurs sommes quantifiés dans les racines de maïs cultivés sur sable et les terres industrielles. n = nombre d'individu	221
Tableau 14 - Humidité pondérale et concentrations (mg kg ⁻¹ BMS) individuelles de 15 HAP réglementaires et de leurs sommes quantifiés dans les systèmes aériens des maïs cultivés sur terres industrielles (n =1).....	222
Tableau 15 - Moyennes des concentrations (mg kg ⁻¹) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits réalisés avec la résine Tenax® sur les terres industrielles.....	223
Tableau 16 - Moyennes des concentrations (µg mL ⁻¹) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits avec la membrane POM sur les terres industrielles.....	224

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABA : acide abscissique	MOE : matière organique extractible
ABM : allocation de biomasse	NAPH : naphtalène
ACY : acénaphtylène	PHE : phénanthrène
ACE : acénaphtène	POM : polyoxyméthylène
ACN : acétonitrile	PYR : pyrène
ACP : analyse en composantes principales	RCF : facteur de concentration racinaire
AEE : Agence Européenne de l'Environnement	SCF : facteur de concentration dans la tige
AMF : champignons mycorhiziens à arbuscules	SF : surface foliaire
ANT : anthracène	SLA : surface foliaire spécifique
AS : acide salicylique	TR _{PHE} : Taux de recouvrement en PHE
BaA :benz[a]anthracène	TSCF : facteur de concentration dans le flux de transpiration
BaP :benzo[a]pyrène	US-EPA : Agence américaine de protection de l'Environnement
BbF :benzo[b]fluoranthène	UE : Union Européenne
BCF : facteur de bioconcentration sur masse sèche ou fraîche	
BghiP :benzo[g,h,j]pérylène	
BkF :benzo[k]fluoranthène	
BMF : biomasse fraîche (en g)	
BMS : biomasse sèche	
CEC : capacité d'échange cationique effective	
CHY : chrysène	
GC-MS : chromatographie en phase gazeuse, couplée à un spectromètre de masse	
C _{pw} : concentration des HAP dissous à l'équilibre dans l'eau interstitielle	
CRE : capacité de rétention d'eau	
dBahA :dibenz[a]anthracène	
DCM : dichlorométhane	
ELT : épaisseur foliaire estimée	
ERO : espèces réactives de l'oxygène	
FLA : fluoranthène	
FLU : fluorène	
HAP : hydrocarbure aromatique polycyclique	
HMP : humidité pondérale	
HPCD : hydroxypropyl-β-cyclodextrine	
IcdP : indène[1,2,3 cd]pyrène	
K _{ow} : coefficient de partage octanol/eau	
K _d : coefficient de partage sol/eau	
LB : de milieu de culture Luria Broth	
LDMC : teneur foliaire en matière sèche	
MO : matière organique	

ANNEXES

Annexes

Tableau 12 – Concentrations (mg kg^{-1}) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits de terres industrielles, dits « HAP totaux » ($n = 1$)

	NAPH	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLA	PYR	BaA	CHY	BbF	BkF	BaP	IcdP	dBahA	BghiP	$\Sigma 16$ HAP
FR01	28,1	60,6	15,9	26,3	109,1	96,2	248,4	200,1	204,7	151,6	194,7	111,2	166,0	128,6	52,8	108,4	1902,8
FR02	9,6	84,8	138,9	91,9	153,5	75,5	137,7	100,4	77,0	56,2	95,5	36,1	61,6	52,3	17,2	41,4	1229,6
FR03	2,1	1,8	0,0	0,0	4,6	1,1	8,2	6,8	6,6	6,1	5,2	2,2	6,6	5,4	0,5	6,0	63,0
FR04	28,4	22,7	27,0	19,4	71,7	12,4	134,4	104,1	83,5	67,1	85,4	49,8	83,7	83,0	27,3	73,5	973,4
FR05	5,4	7,9	3,5	3,3	19,9	4,0	30,6	25,1	19,4	14,1	22,0	9,1	19,9	16,7	3,4	15,5	219,8
FR06	20,6	15,9	8,9	7,3	44,5	23,2	103,6	77,0	61,8	45,5	41,6	29,2	56,1	49,9	15,0	40,6	640,7
FR07	0,0	1,6	0,0	0,0	6,6	1,3	17,2	17,2	9,2	7,5	5,0	3,1	8,9	7,0	0,9	7,8	93,3
BE01	1,9	2,6	0,0	0,0	9,5	2,8	30,7	28,4	12,4	10,2	11,2	5,0	9,7	8,9	1,3	10,3	145,1
SW01	0,1	3,5	0,0	0,0	5,5	1,6	21,2	16,0	14,4	12,5	12,3	5,5	13,7	8,5	2,6	8,4	125,8
SW02	0,0	1,3	0,0	0,0	3,9	1,7	11,3	8,4	5,6	5,7	2,4	1,5	4,0	4,4	0,6	3,5	54,3
SW03	0,0	0,5	0,0	0,0	2,7	0,5	2,6	1,7	1,6	3,5	1,2	0,0	0,6	0,2	0,0	1,0	16,1
SW04	0,0	0,5	0,0	0,0	1,7	0,4	1,7	1,0	0,5	1,4	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	8,4
SW05	6,9	3,3	0,0	2,3	26,7	5,2	24,0	23,9	13,4	15,6	13,0	4,1	7,4	7,0	1,7	8,1	162,4

Annexes

Tableau 13 - Moyennes des humidités pondérales, des concentrations (mg kg^{-1} BMS) individuelles des 16 HAP réglementaires et de leurs sommes quantifiés dans les racines de maïs cultivés sur sable et les terres industrielles. $n =$ nombre d'individu

	n	Humidité (g/g)	NAPH	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLA	PYR	BaA	CHY	BbF	BkF	BaP	IcdP	dBahA	BghiP	$\Sigma 16$ HAP
Sable	4	6,7 ± 3,4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	53,5 ± 26,8	0 ± 0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	53,8 ± 26,9
FR01	3	3,1 ± 1,8	2 ± 1,2	6,9 ± 4	0,7 ± 0,4	0,9 ± 0,5	86,2 ± 49,8	4,9 ± 2,8	16,2 ± 9,4	14 ± 8,1	14,5 ± 8,4	14,1 ± 8,1	17,8 ± 10,3	4,4 ± 2,5	10,1 ± 5,8	6,3 ± 3,6	0,5 ± 0,3	7 ± 4	206,5 ± 119,2
FR02	4	6,2 ± 3,1	0,3 ± 0,2	6,6 ± 3,3	4,5 ± 2,3	2,5 ± 1,3	120,9 ± 60,5	4 ± 2	4,3 ± 2,2	3,4 ± 1,7	2,7 ± 1,4	2,8 ± 1,4	3 ± 1,5	0,8 ± 0,4	1,6 ± 0,8	1,1 ± 0,6	0 ± 0	1,2 ± 0,6	159,7 ± 79,9
FR03	4	13,8 ± 6,9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5,4 ± 2,7	0 ± 0	0 ± 0	0,1 ± 0,1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,1 ± 0,1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5,7 ± 2,9
FR04	4	10 ± 5	2,5 ± 1,3	6 ± 3	2,6 ± 1,3	1,7 ± 0,9	22,8 ± 11,4	2,3 ± 1,2	8,2 ± 4,1	7,5 ± 3,8	7 ± 3,5	6,4 ± 3,2	8,4 ± 4,2	5,6 ± 2,8	7,4 ± 3,7	6,7 ± 3,4	2 ± 1	5,4 ± 2,7	102,6 ± 51,3
FR05	1	10,6 ± 10,6	1,8 ± 1,8	3,5 ± 3,5	0,8 ± 0,8	0,8 ± 0,8	72,6 ± 72,6	2,4 ± 2,4	5 ± 5	4,3 ± 4,3	3,9 ± 3,9	4 ± 4	4,7 ± 4,7	1,3 ± 1,3	2,7 ± 2,7	1,7 ± 1,7	0,1 ± 0,1	1,8 ± 1,8	111,5 ± 111,5
FR06	3	12,1 ± 7	0,1 ± 0,1	0,9 ± 0,5	0 ± 0	0,2 ± 0,1	8,2 ± 4,7	0,5 ± 0,3	2,3 ± 1,3	1,8 ± 1	1,9 ± 1,1	1,1 ± 0,6	1,8 ± 1	1 ± 0,6	1,9 ± 1,1	1,3 ± 0,8	0,2 ± 0,1	0,9 ± 0,5	24,2 ± 14
FR07	1	6,9 ± 6,9	1,6 ± 1,6	2,7 ± 2,7	0,8 ± 0,8	0,6 ± 0,6	9,6 ± 9,6	2,3 ± 2,3	3,5 ± 3,5	3 ± 3	2,9 ± 2,9	2,2 ± 2,2	3 ± 3	1,9 ± 1,9	2,8 ± 2,8	2,1 ± 2,1	0,7 ± 0,7	1,7 ± 1,7	41,1 ± 41,1
BE01	1	0,9 ± 0,9	0,5 ± 0,5	1,7 ± 1,7	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	47,5 ± 47,5	0,7 ± 0,7	3,3 ± 3,3	5,7 ± 5,7	2,5 ± 2,5	3,5 ± 3,5	3,6 ± 3,6	0,8 ± 0,8	1,7 ± 1,7	1,3 ± 1,3	0 ± 0	1,6 ± 1,6	74,7 ± 74,7
SW01	4	4,1 ± 2,1	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,3	0 ± 0	0,1 ± 0,1	68,8 ± 34,4	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	1,2 ± 0,6	1,3 ± 0,7	1,6 ± 0,8	0,4 ± 0,2	0,8 ± 0,4	0,5 ± 0,3	0 ± 0	0,7 ± 0,4	78,9 ± 39,5
SW02	4	5 ± 2,5	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,3	0 ± 0	0,2 ± 0,1	35,5 ± 17,8	0,9 ± 0,5	1,5 ± 0,8	1,7 ± 0,9	2 ± 1	2,1 ± 1,1	2,2 ± 1,1	0,5 ± 0,3	1 ± 0,5	0,6 ± 0,3	0 ± 0	0,7 ± 0,4	49,5 ± 24,8
SW03	3	3,6 ± 2,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0,1	54,9 ± 31,7	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,2 ± 0,1	59 ± 34,1
SW04	3	3,5 ± 2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0,1	15,6 ± 9	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0 ± 0	0,2 ± 0,1	19,1 ± 11
SW05	3	2,3 ± 1,3	0,9 ± 0,5	0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,3	86,6 ± 50	2 ± 1,2	2,4 ± 1,4	2 ± 1,2	2 ± 1,2	2,7 ± 1,6	2 ± 1,2	0,5 ± 0,3	0,8 ± 0,5	0,4 ± 0,2	0 ± 0	0,7 ± 0,4	103,9 ± 60

Annexes

Tableau 14 - Humidité pondérale et concentrations (mg kg^{-1} BMS) individuelles de 15 HAP réglementaires et de leurs sommes quantifiés dans les systèmes aériens des maïs cultivés sur terres industrielles ($n = 1$)

	Humidité (g/g)	NAPH	ACE	FLU	PHE	ANT	FLA	PYR	BaA	CHY	BbF	BkF	BaP	IcdP	dBahA	BghiP	$\Sigma 15$ HAP
FR01	11,33	0,03	0,00	0,02	39,26	0,04	0,17	0,17	0,06	0,07	0,08	0,04	0,08	0,04	0,01	0,08	40,14
FR02	7,58	2,46	0,00	0,05	44,82	1,60	0,06	0,67	1,28	0,00	0,06	0,06	0,10	0,00	0,00	0,00	51,15
FR03	8,10	0,17	0,00	0,01	4,89	0,01	0,04	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,23
FR04	6,49	0,02	0,00	0,01	3,79	0,01	0,06	0,09	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	4,00
FR05	6,44	3,36	0,00	0,11	0,00	1,78	0,79	0,78	1,85	0,00	0,77	0,38	0,65	0,27	0,12	0,65	11,51
FR06	5,60	0,02	0,00	0,01	11,39	0,01	0,08	0,12	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	11,66
FR07	5,12	0,07	0,00	0,01	5,01	0,01	0,07	0,14	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	5,35
SW01	10,44	0,03	0,00	0,03	29,11	0,02	0,08	0,21	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	29,54
SW02	12,01	0,01	0,00	0,01	24,00	0,01	0,03	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	24,11
SW03	10,77	0,01	0,00	0,01	30,34	0,02	0,04	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,50
SW04	8,55	0,00	0,00	0,01	18,82	0,01	0,03	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	18,95
SW05	9,34	0,05	0,00	0,02	28,87	0,02	0,10	0,17	0,02	0,04	0,04	0,02	0,05	0,03	0,01	0,05	29,48

Annexes

Tableau 15 - Moyennes des concentrations (mg kg^{-1}) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits réalisés avec la résine Tenax® sur les terres industrielles

	NAPH	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLA	PYR	BaA	CHY	BbF	BkF	BaP	IcdP	dBahA	BghiP	$\Sigma 16$ HAP
FR01	0,6 ± 0,3	0,8 ± 0,5	0,4 ± 0,2	0,8 ± 0,5	6,1 ± 3,5	1,8 ± 1,1	2,3 ± 1,3	2,3 ± 1,4	1,8 ± 1,1	2,2 ± 1,2	2 ± 1,1	1,4 ± 0,8	0,9 ± 0,5	1,1 ± 0,7	0,6 ± 0,3	0,9 ± 0,5	26,2 ± 15,1
FR02	0,4 ± 0,2	1 ± 0,6	1 ± 0,6	0,8 ± 0,5	5,1 ± 2,9	1 ± 0,6	1 ± 0,6	1 ± 0,6	0,7 ± 0,4	0,7 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,3	15,8 ± 9,1
FR03	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	1,2 ± 0,7	0 ± 0	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0	0,1 ± 0	0 ± 0	0,1 ± 0	3,4 ± 2
FR04	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,4	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	1,8 ± 1	1,1 ± 0,6	2 ± 1,1	2 ± 1,1	1,3 ± 0,8	1,3 ± 0,8	1,5 ± 0,9	1 ± 0,6	0,9 ± 0,5	1 ± 0,6	0,4 ± 0,2	0,9 ± 0,5	18,1 ± 10,4
FR05	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0	0,2 ± 0,1	1,2 ± 0,7	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0	0,2 ± 0,1	5,2 ± 3
FR06	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2	6,7 ± 3,9
FR07	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,4	0,7 ± 0,4	1 ± 0,6	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,4	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,3	10 ± 5,8
BE01	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,9 ± 0,5	1,2 ± 0,7	2,2 ± 1,3	1,2 ± 0,7	2,1 ± 1,2	2,3 ± 1,3	1,4 ± 0,8	1,4 ± 0,8	1,4 ± 0,8	1 ± 0,6	1,1 ± 0,6	0,9 ± 0,5	0,3 ± 0,2	0,8 ± 0,4	19,3 ± 11,1
SW01	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0	0,5 ± 0,3	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0	0,2 ± 0,1	4,6 ± 2,7
SW02	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0,1	1,1 ± 0,8	0,1 ± 0,1	0,6 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,4	0,6 ± 0,4	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	6 ± 4,2
SW03	0,3 ± 0,2	0 ± 0	0 ± 0	0,1 ± 0	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,2 ± 0,1	3 ± 1,7
SW04	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,1 ± 0,1	2,5 ± 1,4
SW05	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2,1 ± 1,2

Annexes

Tableau 16 - Moyennes des concentrations ($\mu\text{g mL}^{-1}$) individuelles des 16 HAP réglementaires quantifiés depuis les extraits avec la membrane POM sur les terres industrielles.

	NAPH	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLA	PYR	BaA	CHY	BbF	BkF	BaP	IcdP	dBahA	BghiP	$\Sigma 16$ HAP
Blanc	8,83.10 ⁻⁴ ± 5,10.10 ⁻⁴	0 ± 0	2,27.10 ⁻⁶ ± 1,31.10 ⁻⁶	1,36.10 ⁻⁵ ± 7,88.10 ⁻⁶	2,55.10 ⁻⁵ ± 1,47.10 ⁻⁵	0 ± 0	0 ± 0	2,97.10 ⁻⁸ ± 1,72.10 ⁻⁸	2,27.10 ⁻⁹ ± 1,31.10 ⁻⁹	0 ± 0	1,23.10 ⁻⁷ ± 7,08.10 ⁻⁸	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5,33.10 ⁻⁸ ± 3,08.10 ⁻⁸	0 ± 0	9,25.10 ⁻⁴ ± 5,34.10 ⁻⁴
FR01	9,48.10 ⁻⁴ ± 5,47.10 ⁻⁴	2,00.10 ⁻⁴ ± 1,16.10 ⁻⁴	2,36.10 ⁻⁴ ± 1,36.10 ⁻⁴	1,04.10 ⁻⁴ ± 5,99.10 ⁻⁵	1,17.10 ⁻⁴ ± 6,74.10 ⁻⁵	1,61.10 ⁻⁴ ± 9,28.10 ⁻⁵	1,68.10 ⁻⁴ ± 9,68.10 ⁻⁵	8,79.10 ⁻⁵ ± 5,08.10 ⁻⁵	7,08.10 ⁻⁵ ± 4,09.10 ⁻⁵	7,34.10 ⁻⁵ ± 4,24.10 ⁻⁵	1,91.10 ⁻⁵ ± 1,10.10 ⁻⁵	7,24.10 ⁻⁶ ± 4,18.10 ⁻⁶	1,44.10 ⁻⁵ ± 8,30.10 ⁻⁶	2,20.10 ⁻⁶ ± 1,27.10 ⁻⁶	5,18.10 ⁻⁷ ± 2,99.10 ⁻⁷	2,44.10 ⁻⁶ ± 1,41.10 ⁻⁶	2,21.10 ⁻³ ± 1,28.10 ⁻³
FR02	1,15.10 ⁻³ ± 6,63.10 ⁻⁴	2,39.10 ⁻⁴ ± 1,38.10 ⁻⁴	2,52.10 ⁻³ ± 1,46.10 ⁻³	6,54.10 ⁻⁴ ± 3,77.10 ⁻⁴	3,74.10 ⁻⁴ ± 2,16.10 ⁻⁴	1,34.10 ⁻⁴ ± 7,75.10 ⁻⁵	2,69.10 ⁻⁴ ± 1,55.10 ⁻⁴	1,56.10 ⁻⁴ ± 9,02.10 ⁻⁵	7,23.10 ⁻⁶ ± 4,17.10 ⁻⁶	6,67.10 ⁻⁶ ± 3,85.10 ⁻⁶	5,72.10 ⁻⁶ ± 3,30.10 ⁻⁶	1,74.10 ⁻⁶ ± 1,00.10 ⁻⁶	2,32.10 ⁻⁶ ± 1,34.10 ⁻⁶	2,06.10 ⁻⁷ ± 1,19.10 ⁻⁷	4,16.10 ⁻⁷ ± 2,40.10 ⁻⁷	3,91.10 ⁻⁷ ± 2,26.10 ⁻⁷	5,52.10 ⁻³ ± 3,19.10 ⁻³
FR03	1,09.10 ⁻³ ± 6,32.10 ⁻⁴	5,56.10 ⁻⁶ ± 3,21.10 ⁻⁶	2,57.10 ⁻⁵ ± 1,48.10 ⁻⁵	2,04.10 ⁻⁵ ± 1,18.10 ⁻⁵	8,04.10 ⁻⁵ ± 4,64.10 ⁻⁵	1,27.10 ⁻⁶ ± 7,35.10 ⁻⁷	5,36.10 ⁻⁶ ± 3,09.10 ⁻⁶	3,33.10 ⁻⁶ ± 1,92.10 ⁻⁶	1,97.10 ⁻⁷ ± 1,14.10 ⁻⁷	5,18.10 ⁻⁸ ± 2,99.10 ⁻⁸	3,85.10 ⁻⁷ ± 2,22.10 ⁻⁷	3,52.10 ⁻⁸ ± 2,03.10 ⁻⁸	6,43.10 ⁻⁸ ± 3,71.10 ⁻⁸	1,46.10 ⁻⁸ ± 8,43.10 ⁻⁹	4,62.10 ⁻⁸ ± 2,66.10 ⁻⁸	2,80.10 ⁻⁸ ± 1,62.10 ⁻⁸	1,24.10 ⁻³ ± 7,14.10 ⁻⁴
FR04	6,81.10 ⁻³ ± 3,93.10 ⁻³	2,52.10 ⁻⁴ ± 1,46.10 ⁻⁴	3,88.10 ⁻³ ± 2,24.10 ⁻³	1,37.10 ⁻³ ± 7,90.10 ⁻⁴	3,13.10 ⁻³ ± 1,81.10 ⁻³	7,06.10 ⁻⁴ ± 4,08.10 ⁻⁴	2,50.10 ⁻³ ± 1,44.10 ⁻³	1,33.10 ⁻³ ± 7,66.10 ⁻⁴	1,27.10 ⁻⁴ ± 7,35.10 ⁻⁵	1,38.10 ⁻⁴ ± 7,97.10 ⁻⁵	3,87.10 ⁻⁵ ± 2,23.10 ⁻⁵	2,17.10 ⁻⁶ ± 1,25.10 ⁻⁶	2,30.10 ⁻⁵ ± 1,33.10 ⁻⁵	6,58.10 ⁻⁶ ± 3,80.10 ⁻⁶	1,00.10 ⁻⁶ ± 5,78.10 ⁻⁷	5,98.10 ⁻⁶ ± 3,45.10 ⁻⁶	2,03.10 ⁻² ± 1,17.10 ⁻²
FR05	1,21.10 ⁻³ ± 7,01.10 ⁻⁴	5,11.10 ⁻⁵ ± 2,95.10 ⁻⁵	4,95.10 ⁻⁵ ± 2,86.10 ⁻⁵	2,78.10 ⁻⁵ ± 1,61.10 ⁻⁵	5,75.10 ⁻⁵ ± 3,32.10 ⁻⁵	2,11.10 ⁻⁵ ± 1,22.10 ⁻⁵	3,28.10 ⁻⁵ ± 1,89.10 ⁻⁵	2,30.10 ⁻⁵ ± 1,33.10 ⁻⁵	9,59.10 ⁻⁷ ± 5,53.10 ⁻⁷	1,02.10 ⁻⁶ ± 5,87.10 ⁻⁷	1,31.10 ⁻⁶ ± 7,55.10 ⁻⁷	2,35.10 ⁻⁸ ± 1,36.10 ⁻⁸	1,19.10 ⁻⁷ ± 6,86.10 ⁻⁸	5,76.10 ⁻⁹ ± 3,33.10 ⁻⁹	1,04.10 ⁻⁷ ± 6,00.10 ⁻⁸	1,95.10 ⁻⁸ ± 1,13.10 ⁻⁸	1,48.10 ⁻³ ± 8,54.10 ⁻⁴
FR06	9,70.10 ⁻⁴ ± 6,86.10 ⁻⁴	1,29.10 ⁻⁴ ± 9,15.10 ⁻⁵	1,24.10 ⁻⁴ ± 8,75.10 ⁻⁵	1,98.10 ⁻⁴ ± 1,40.10 ⁻⁴	6,18.10 ⁻⁴ ± 4,37.10 ⁻⁴	1,09.10 ⁻⁴ ± 7,68.10 ⁻⁵	5,44.10 ⁻⁴ ± 3,85.10 ⁻⁴	5,16.10 ⁻⁴ ± 3,65.10 ⁻⁴	5,05.10 ⁻⁵ ± 3,57.10 ⁻⁵	5,13.10 ⁻⁵ ± 3,63.10 ⁻⁵	1,89.10 ⁻⁵ ± 1,34.10 ⁻⁵	6,63.10 ⁻⁶ ± 4,69.10 ⁻⁶	9,45.10 ⁻⁶ ± 6,68.10 ⁻⁶	3,79.10 ⁻⁶ ± 2,68.10 ⁻⁶	7,00.10 ⁻⁷ ± 4,95.10 ⁻⁷	2,14.10 ⁻⁶ ± 1,51.10 ⁻⁶	3,35.10 ⁻³ ± 2,37.10 ⁻³
FR07	9,25.10 ⁻⁴ ± 5,34.10 ⁻⁴	3,94.10 ⁻⁴ ± 2,27.10 ⁻⁴	6,15.10 ⁻⁴ ± 3,55.10 ⁻⁴	2,05.10 ⁻⁴ ± 1,18.10 ⁻⁴	4,98.10 ⁻⁴ ± 2,88.10 ⁻⁴	1,79.10 ⁻⁴ ± 1,03.10 ⁻⁴	2,90.10 ⁻⁴ ± 1,68.10 ⁻⁴	1,72.10 ⁻⁴ ± 9,93.10 ⁻⁵	3,46.10 ⁻⁵ ± 2,00.10 ⁻⁵	3,72.10 ⁻⁵ ± 2,15.10 ⁻⁵	1,52.10 ⁻⁵ ± 8,76.10 ⁻⁶	7,55.10 ⁻⁶ ± 4,36.10 ⁻⁶	8,90.10 ⁻⁶ ± 5,14.10 ⁻⁶	3,11.10 ⁻⁶ ± 1,80.10 ⁻⁶	6,80.10 ⁻⁷ ± 3,93.10 ⁻⁷	3,16.10 ⁻⁶ ± 1,82.10 ⁻⁶	3,39.10 ⁻³ ± 1,96.10 ⁻³
BE01	1,00.10 ⁻³ ± 5,78.10 ⁻⁴	1,70.10 ⁻³ ± 9,79.10 ⁻⁴	1,12.10 ⁻² ± 6,49.10 ⁻³	7,62.10 ⁻³ ± 4,40.10 ⁻³	1,35.10 ⁻² ± 7,81.10 ⁻³	1,91.10 ⁻³ ± 1,10.10 ⁻³	5,08.10 ⁻³ ± 2,93.10 ⁻³	3,28.10 ⁻³ ± 1,89.10 ⁻³	1,68.10 ⁻⁴ ± 9,72.10 ⁻⁵	1,81.10 ⁻⁴ ± 1,05.10 ⁻⁴	2,78.10 ⁻⁵ ± 1,60.10 ⁻⁵	1,04.10 ⁻⁶ ± 6,03.10 ⁻⁶	1,90.10 ⁻⁵ ± 1,10.10 ⁻⁵	2,58.10 ⁻⁶ ± 1,49.10 ⁻⁶	5,27.10 ⁻⁷ ± 3,04.10 ⁻⁷	2,47.10 ⁻⁶ ± 1,43.10 ⁻⁶	4,58.10 ⁻² ± 2,64.10 ⁻²
SW01	9,55.10 ⁻⁴ ± 5,51.10 ⁻⁴	3,44.10 ⁻⁵ ± 1,98.10 ⁻⁵	2,12.10 ⁻⁵ ± 1,22.10 ⁻⁵	2,73.10 ⁻⁵ ± 1,58.10 ⁻⁵	9,72.10 ⁻⁵ ± 5,61.10 ⁻⁵	1,56.10 ⁻⁵ ± 8,98.10 ⁻⁶	1,16.10 ⁻⁴ ± 6,72.10 ⁻⁵	7,34.10 ⁻⁵ ± 4,24.10 ⁻⁵	5,04.10 ⁻⁶ ± 2,91.10 ⁻⁶	0 ± 0	6,45.10 ⁻⁶ ± 3,72.10 ⁻⁶	7,23.10 ⁻⁷ ± 4,18.10 ⁻⁷	1,06.10 ⁻⁶ ± 6,13.10 ⁻⁷	5,31.10 ⁻⁸ ± 3,06.10 ⁻⁸	4,77.10 ⁻⁸ ± 2,75.10 ⁻⁸	6,65.10 ⁻⁸ ± 3,84.10 ⁻⁸	1,35.10 ⁻³ ± 7,82.10 ⁻⁴
SW02	9,24.10 ⁻⁴ ± 5,33.10 ⁻⁴	6,36.10 ⁻⁵ ± 3,67.10 ⁻⁵	3,19.10 ⁻⁵ ± 1,84.10 ⁻⁵	1,23.10 ⁻⁴ ± 7,11.10 ⁻⁵	2,95.10 ⁻⁴ ± 1,70.10 ⁻⁴	8,01.10 ⁻⁵ ± 4,63.10 ⁻⁵	4,61.10 ⁻⁴ ± 2,66.10 ⁻⁴	2,49.10 ⁻⁴ ± 1,44.10 ⁻⁴	2,26.10 ⁻⁵ ± 1,30.10 ⁻⁵	1,87.10 ⁻⁵ ± 1,08.10 ⁻⁵	8,57.10 ⁻⁶ ± 4,95.10 ⁻⁶	1,04.10 ⁻⁶ ± 6,03.10 ⁻⁷	3,74.10 ⁻⁶ ± 2,16.10 ⁻⁶	3,91.10 ⁻⁷ ± 2,26.10 ⁻⁷	1,78.10 ⁻⁸ ± 1,03.10 ⁻⁸	4,89.10 ⁻⁷ ± 2,82.10 ⁻⁷	2,28.10 ⁻³ ± 1,32.10 ⁻³
SW03	7,07.10 ⁻⁴ ± 7,07.10 ⁻⁴	1,50.10 ⁻⁶ ± 1,50.10 ⁻⁶	4,58.10 ⁻⁵ ± 4,58.10 ⁻⁵	6,28.10 ⁻⁵ ± 6,28.10 ⁻⁵	1,10.10 ⁻⁴ ± 1,10.10 ⁻⁴	1,97.10 ⁻⁶ ± 1,97.10 ⁻⁶	1,51.10 ⁻⁵ ± 1,51.10 ⁻⁵	8,36.10 ⁻⁶ ± 8,36.10 ⁻⁶	9,74.10 ⁻⁸ ± 9,74.10 ⁻⁸	5,01.10 ⁻⁷ ± 5,01.10 ⁻⁷	2,84.10 ⁻⁷ ± 2,84.10 ⁻⁷	0 ± 0	9,59.10 ⁻⁶ ± 9,59.10 ⁻⁶	3,57.10 ⁻⁸ ± 3,57.10 ⁻⁸	1,00.10 ⁻⁶ ± 1,00.10 ⁻⁶	3,64.10 ⁻⁸ ± 3,64.10 ⁻⁸	9,65.10 ⁻⁴ ± 9,65.10 ⁻⁴
SW04	1,34.10 ⁻³ ± 9,51.10 ⁻⁴	4,61.10 ⁻⁶ ± 3,26.10 ⁻⁶	2,04.10 ⁻⁴ ± 1,44.10 ⁻⁴	1,19.10 ⁻⁴ ± 8,38.10 ⁻⁵	1,76.10 ⁻⁴ ± 1,25.10 ⁻⁴	2,09.10 ⁻⁶ ± 1,48.10 ⁻⁶	4,17.10 ⁻⁵ ± 2,95.10 ⁻⁵	2,46.10 ⁻⁵ ± 1,74.10 ⁻⁵	1,27.10 ⁻⁶ ± 8,97.10 ⁻⁷	1,97.10 ⁻⁶ ± 1,39.10 ⁻⁶	7,23.10 ⁻⁷ ± 5,11.10 ⁻⁷	0 ± 0	3,84.10 ⁻⁸ ± 2,72.10 ⁻⁸	5,31.10 ⁻⁸ ± 3,76.10 ⁻⁸	1,51.10 ⁻⁶ ± 1,07.10 ⁻⁶	7,74.10 ⁻⁸ ± 5,47.10 ⁻⁸	1,92.10 ⁻³ ± 1,36.10 ⁻³
SW05	7,34.10 ⁻⁴ ± 7,34.10 ⁻⁴	0 ± 0	9,83.10 ⁻⁶ ± 9,83.10 ⁻⁶	9,55.10 ⁻⁶ ± 9,55.10 ⁻⁶	2,42.10 ⁻⁵ ± 2,42.10 ⁻⁵	4,56.10 ⁻⁷ ± 4,56.10 ⁻⁷	2,16.10 ⁻⁶ ± 2,16.10 ⁻⁶	1,91.10 ⁻⁶ ± 1,91.10 ⁻⁶	0 ± 0	0 ± 0	1,52.10 ⁻⁷ ± 1,52.10 ⁻⁷	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3,36.10 ⁻⁸ ± 3,36.10 ⁻⁸	0 ± 0	7,83.10 ⁻⁴ ± 7,83.10 ⁻⁴

Annexes

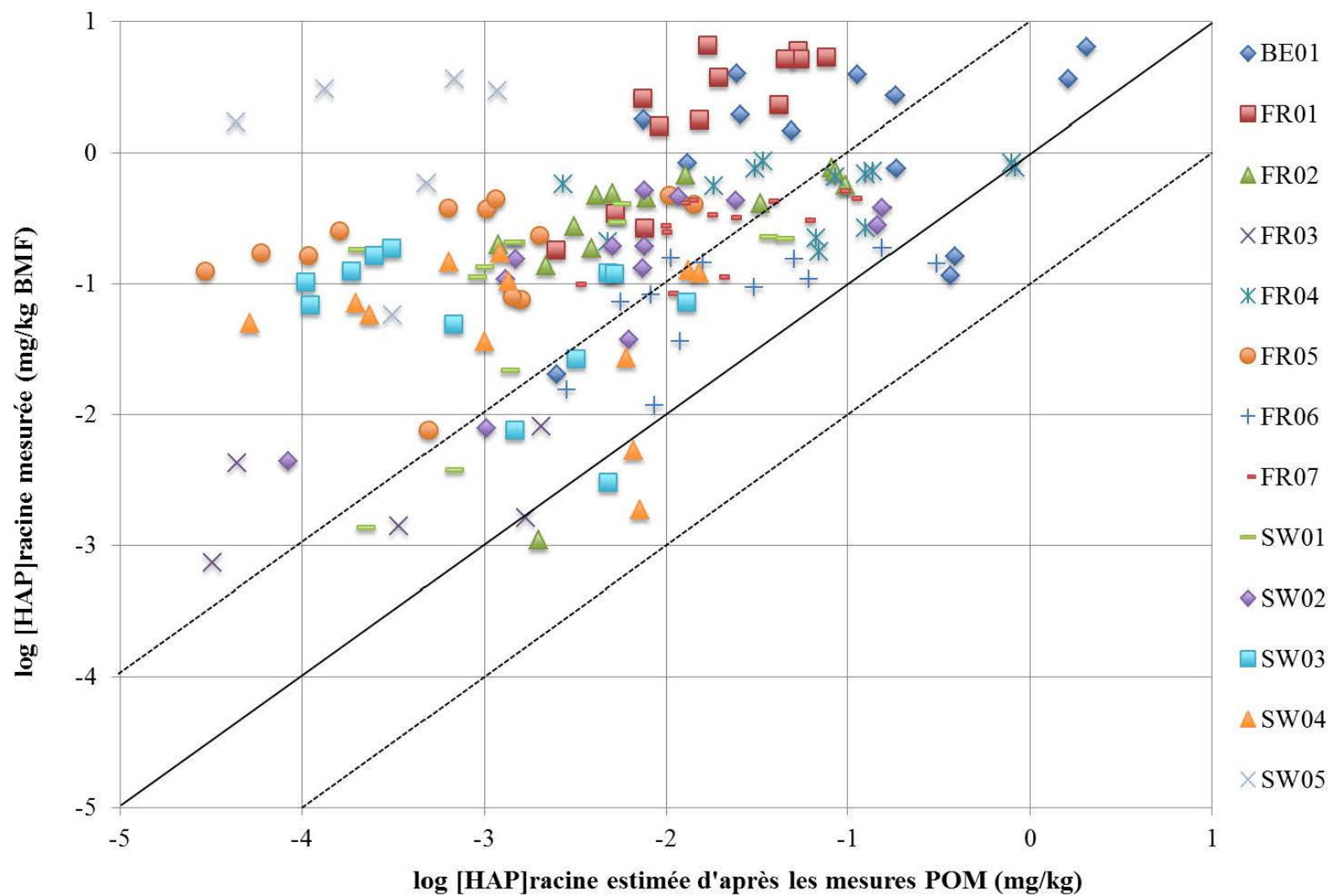


Figure 73 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale

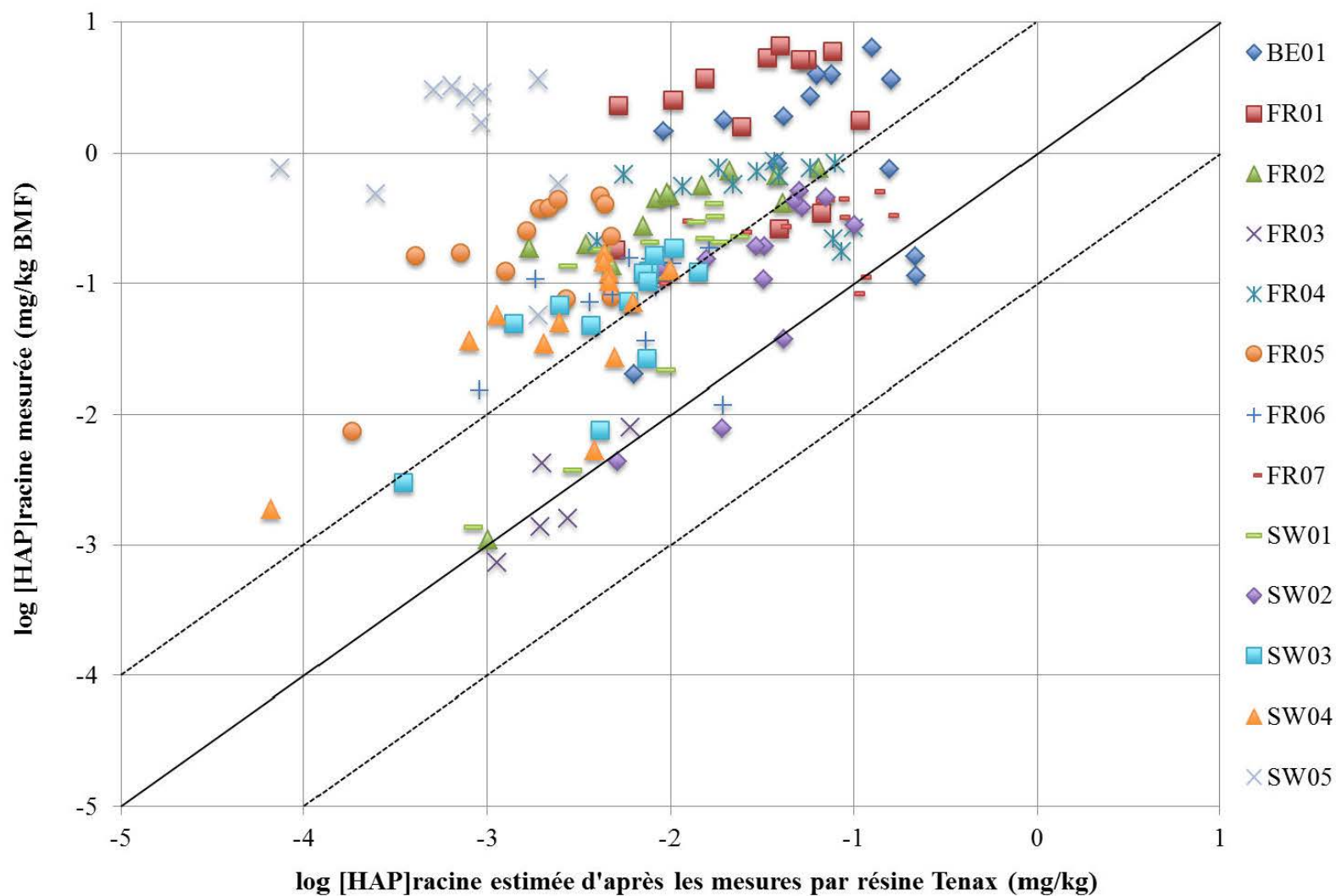


Figure 74 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax

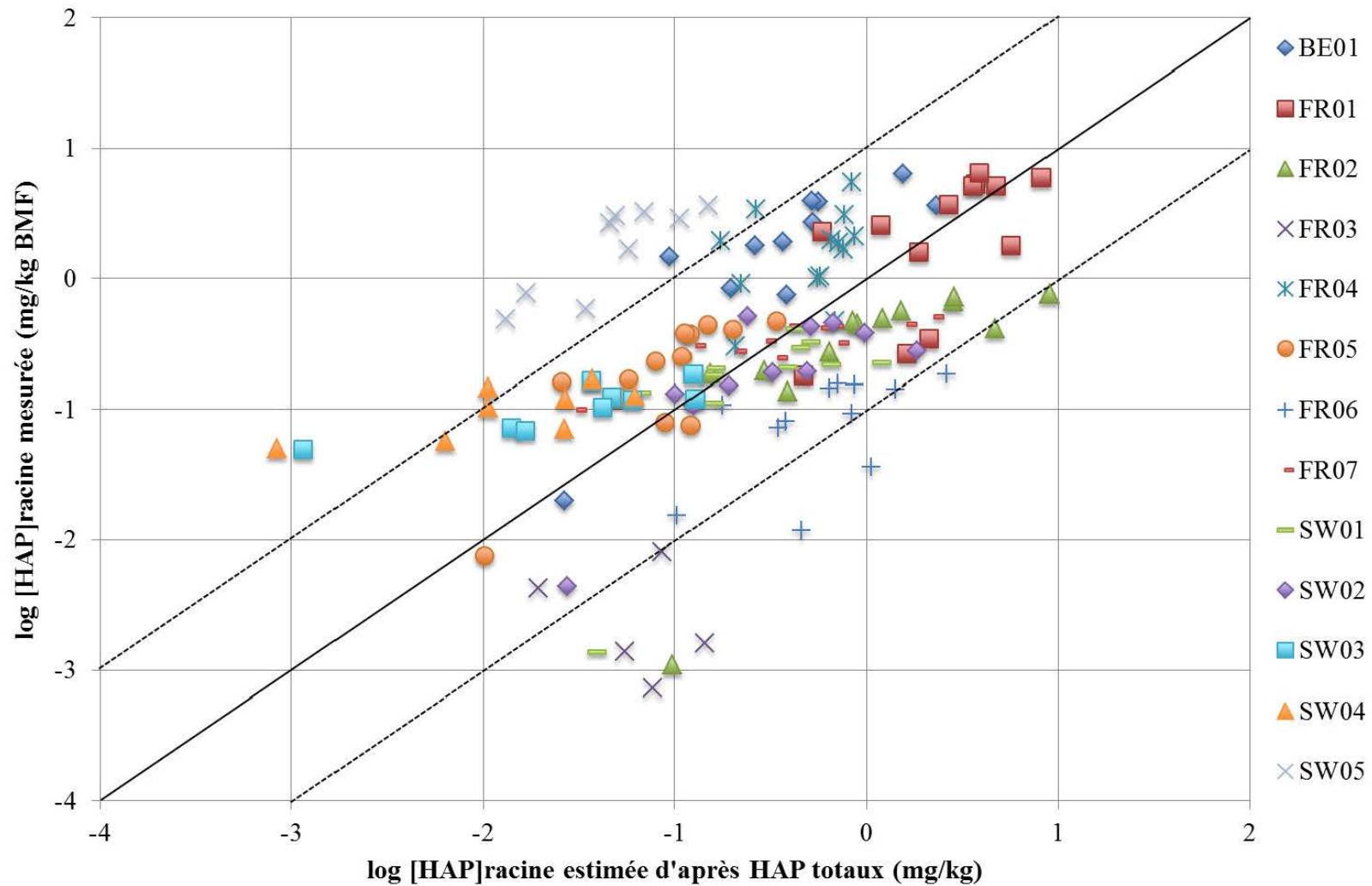


Figure 75 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1982) d'après les concentrations en HAP totaux

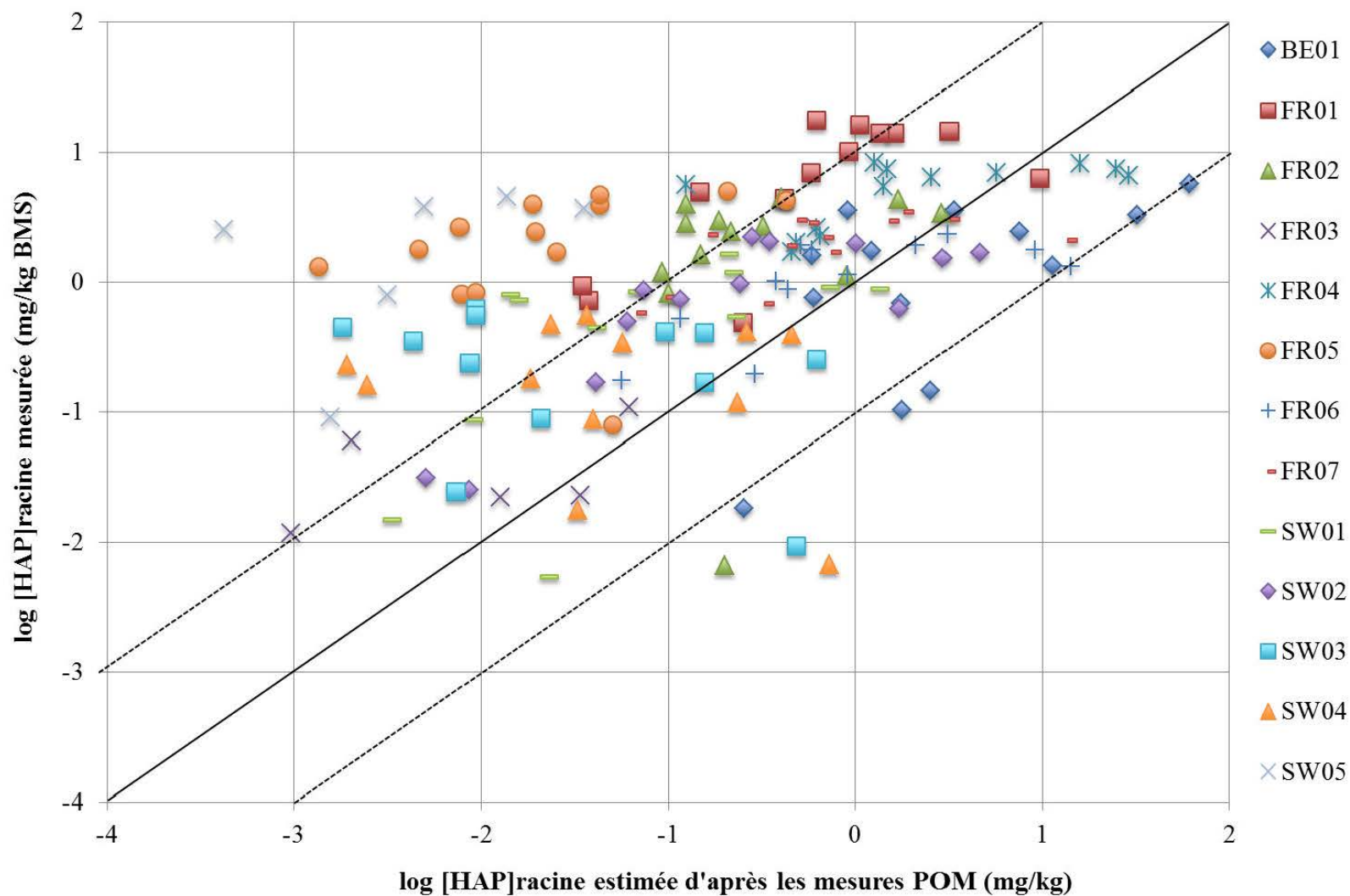


Figure 76 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) d'après les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale

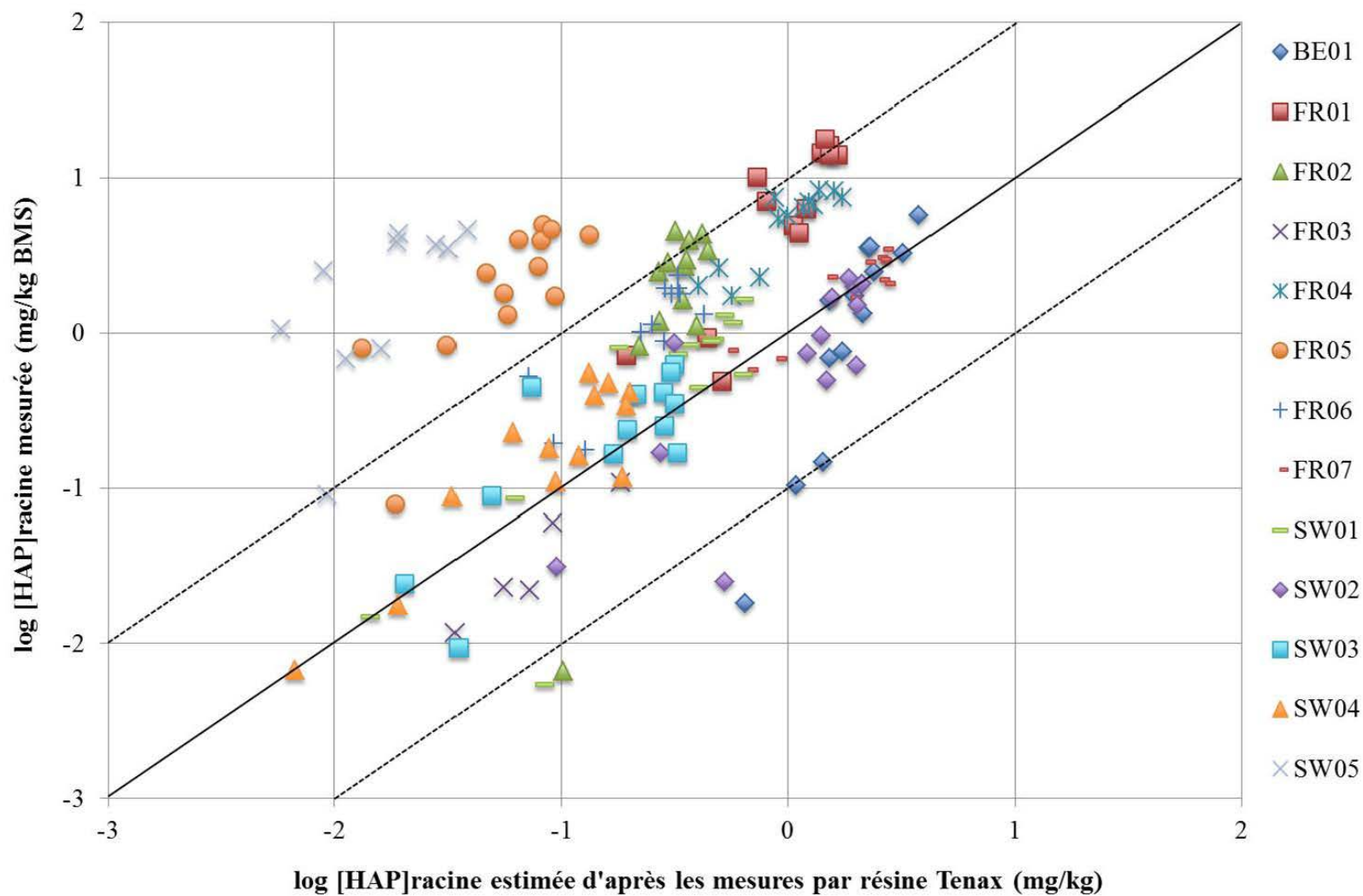


Figure 77 – Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de (Cofield et al. 2008) d'après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax

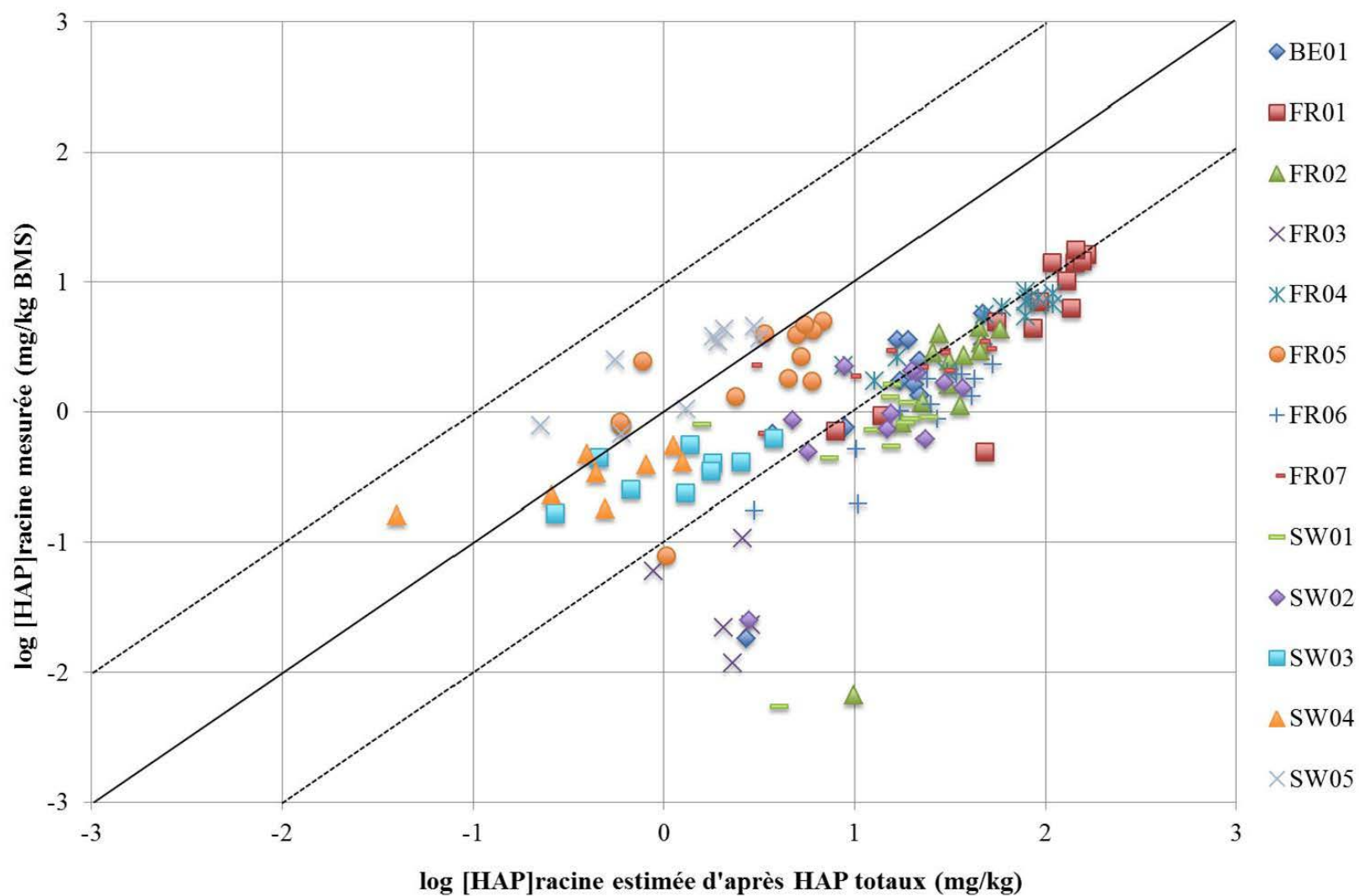


Figure 78 - Relation en échelle logarithmique entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle de Zhang et al. (2009) d'après les concentrations en HAP totaux

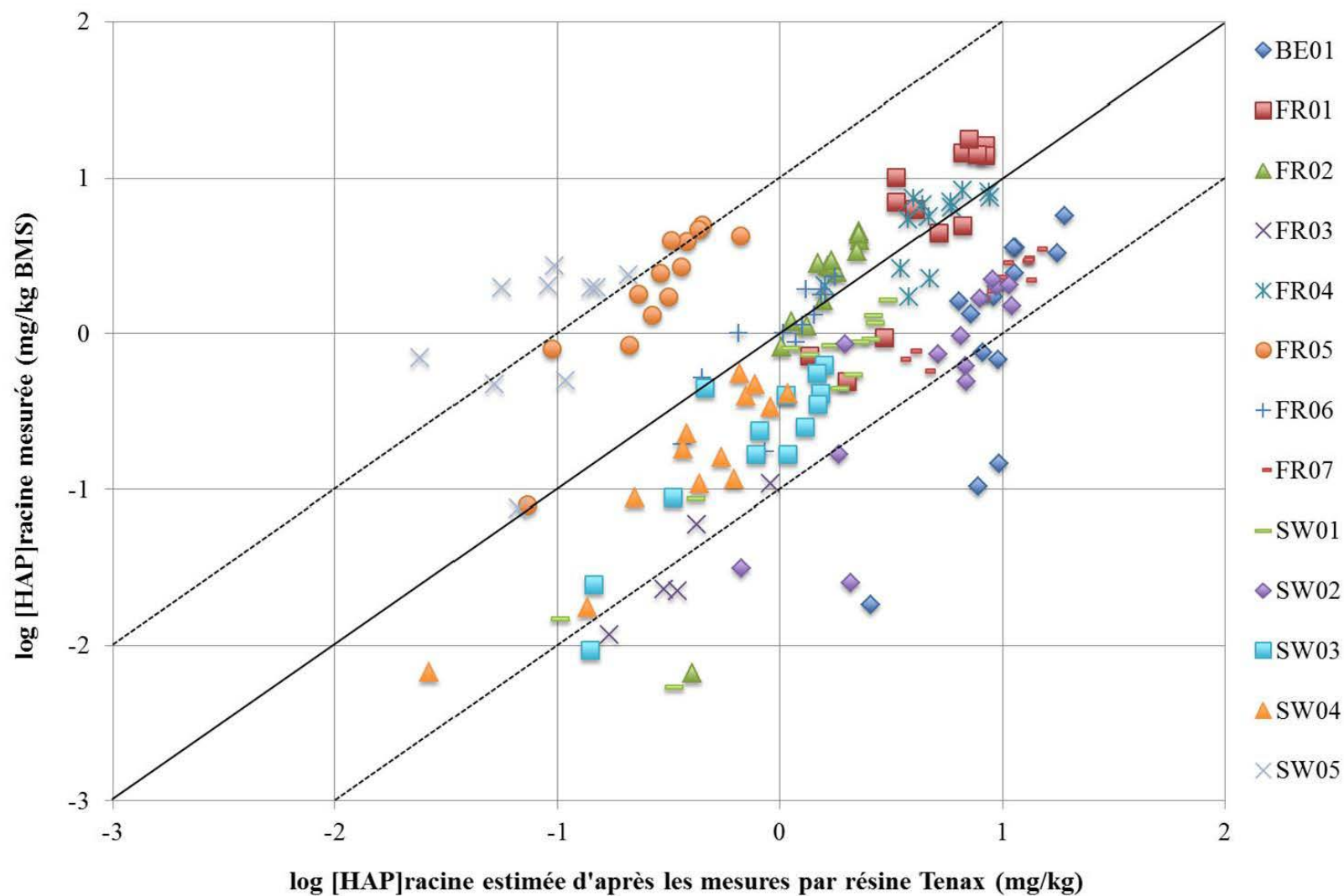


Figure 79 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle proposé d'après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax

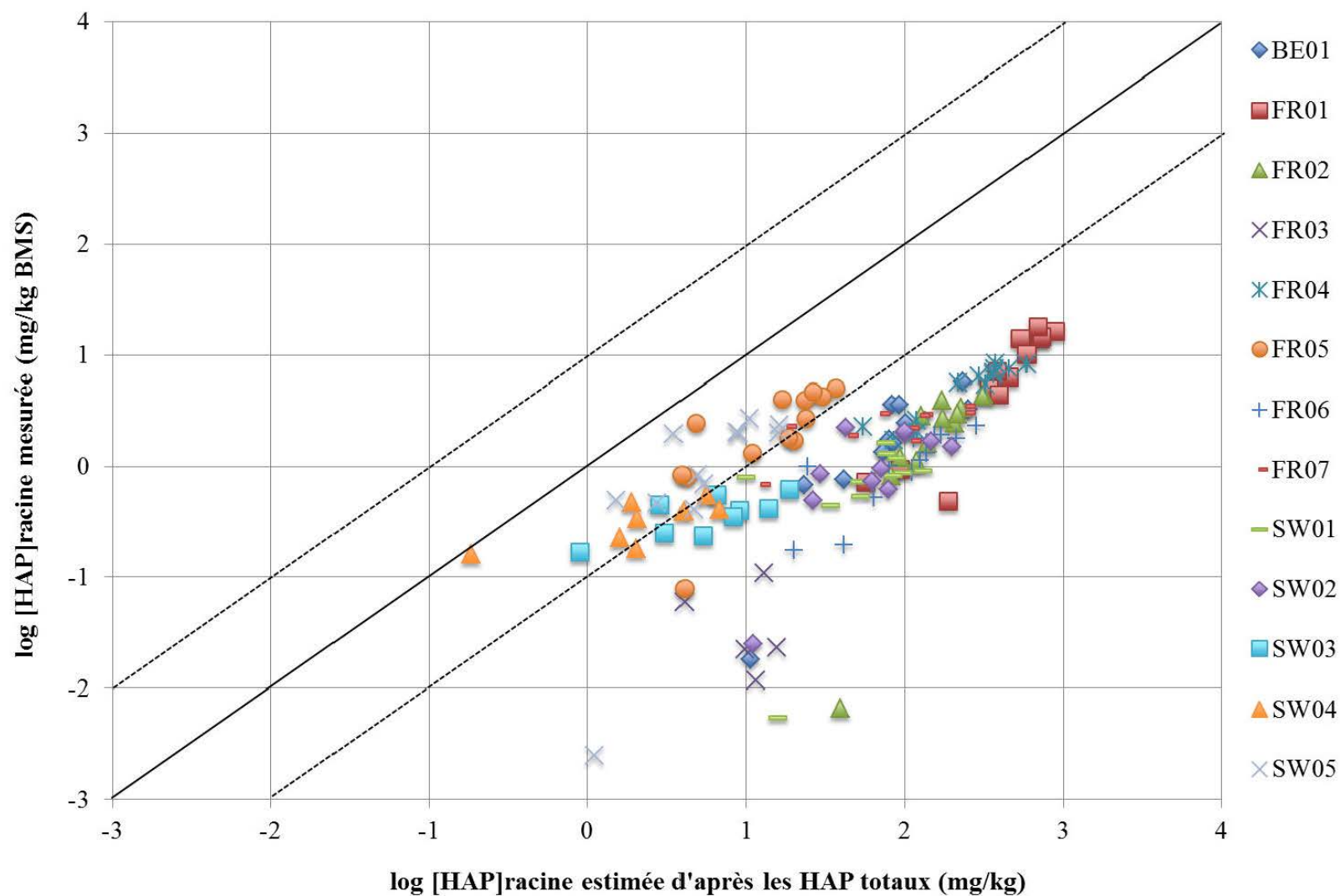


Figure 80 - Relation en échelle logarithmique entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les racines (mg kg^{-1} BMS) et prédites par le modèle proposé d'après les concentrations en HAP totaux

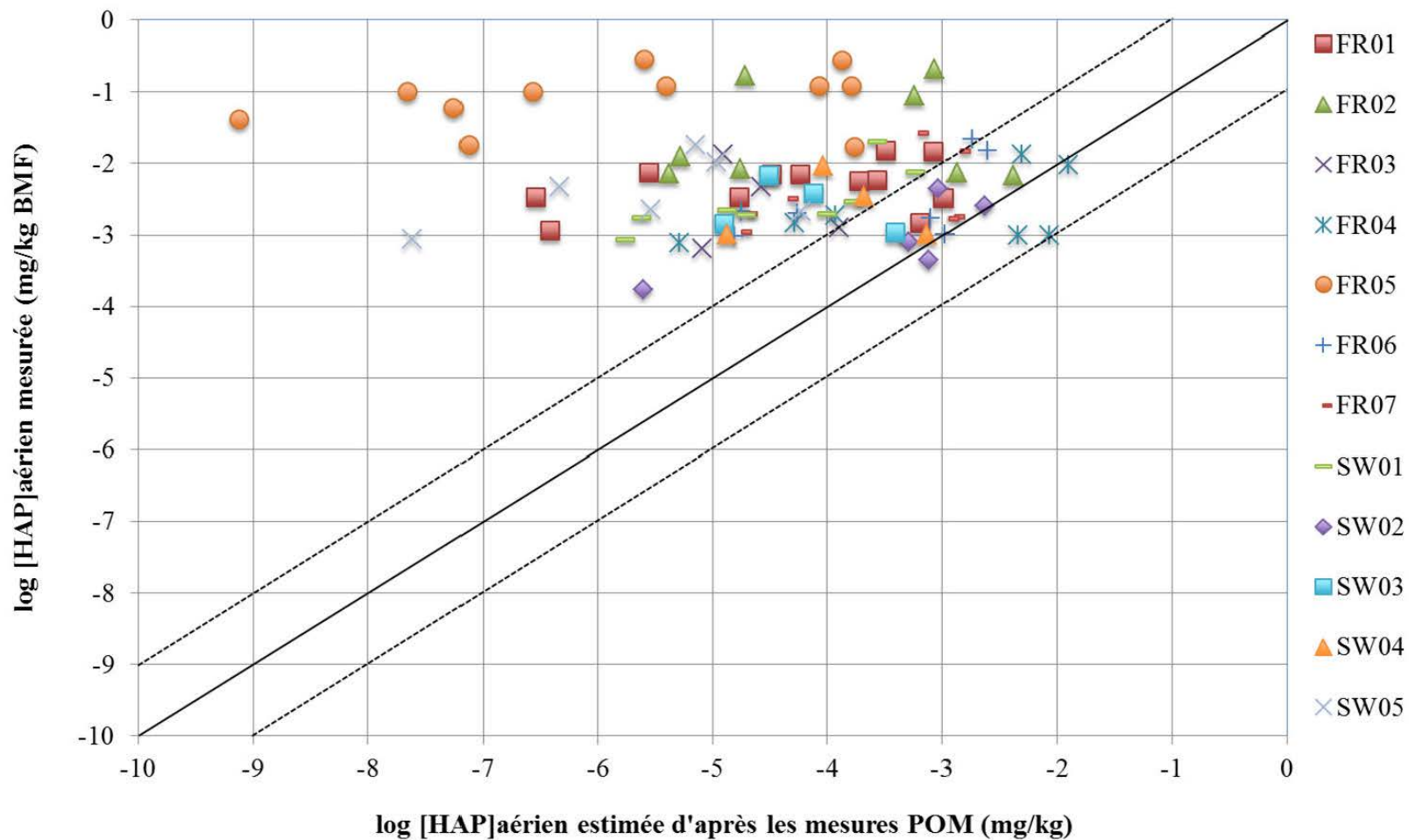


Figure 81 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d'après les concentrations en HAP dissous dans l'eau pore

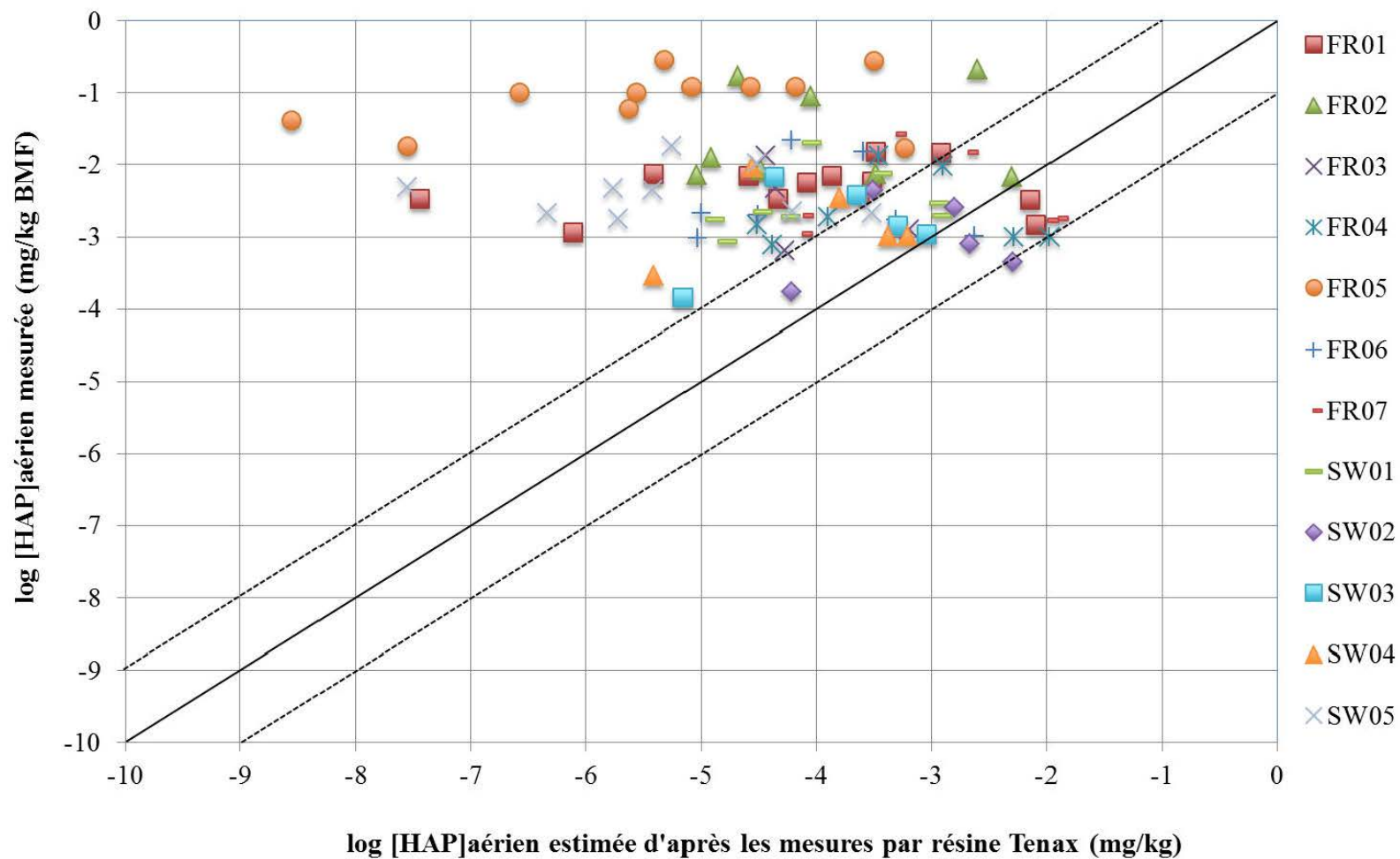


Figure 82 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d'après les concentrations en HAP extraits par résine Tenax

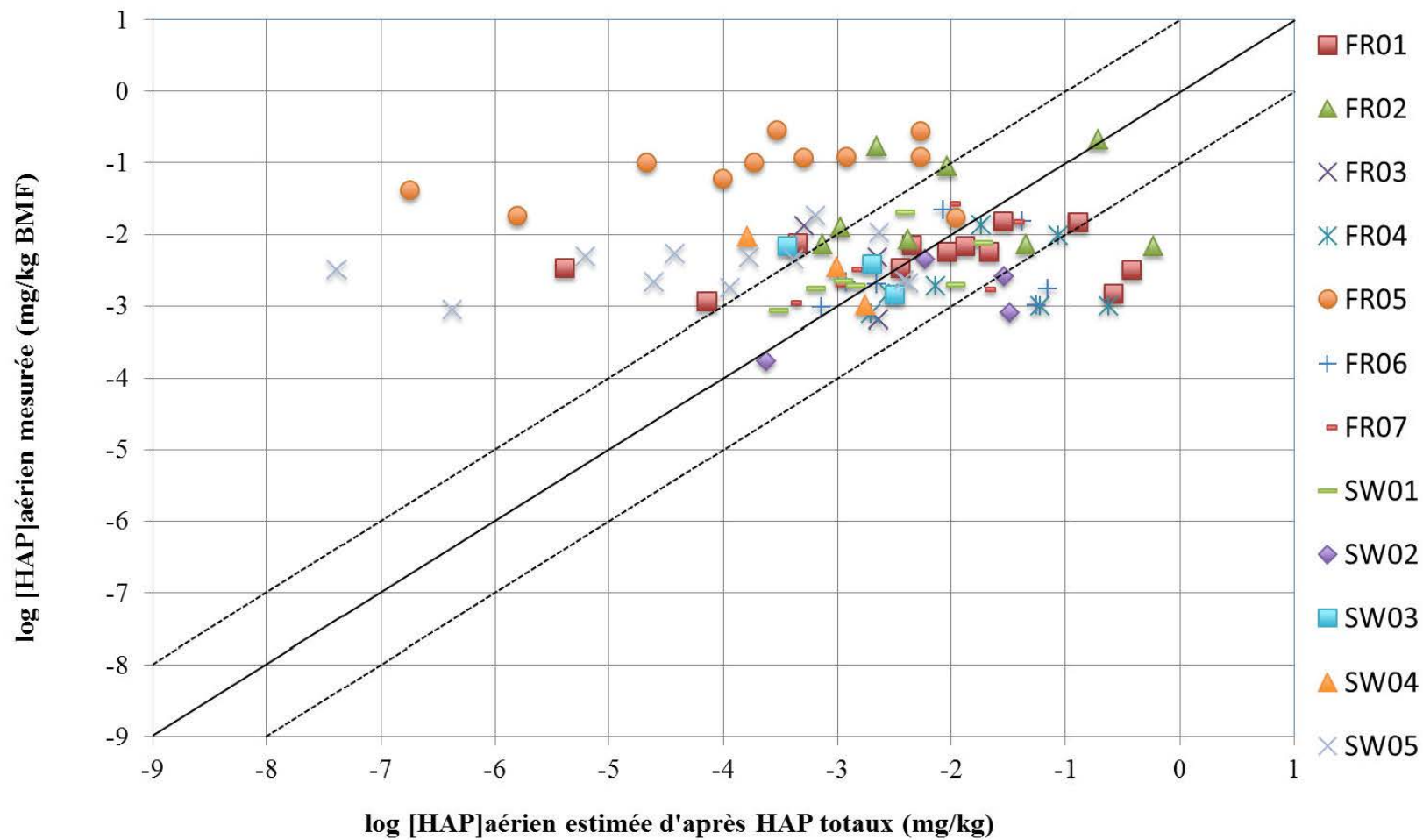


Figure 83 - Relation entre les concentrations individuelles des 13 HAP mesurées dans les parties aériennes (mg kg^{-1} BMF) et prédites par le modèle de Briggs et al. (1983) d'après les concentrations en HAP totaux

Annexes

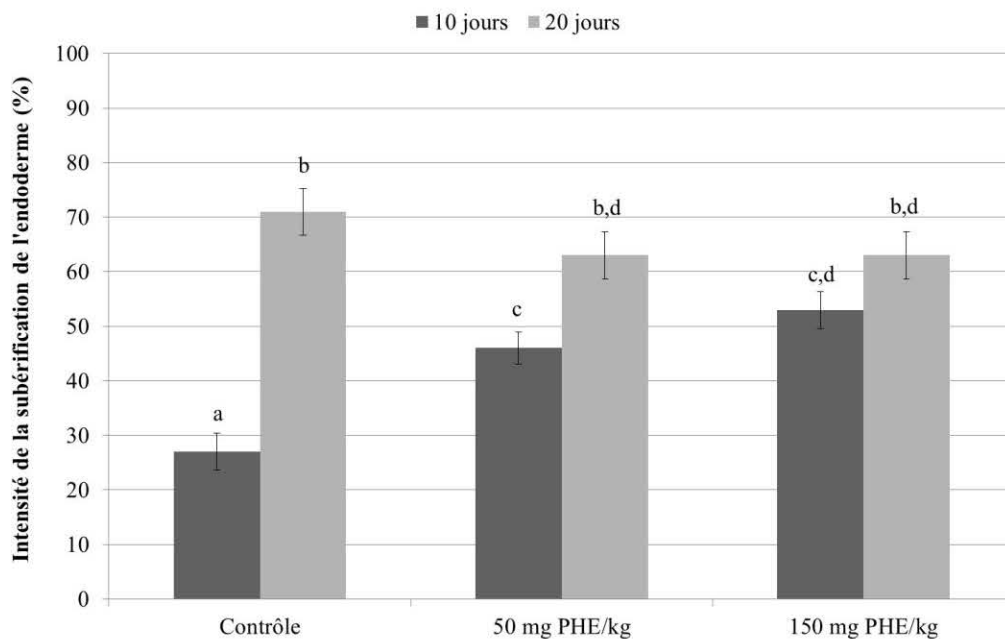
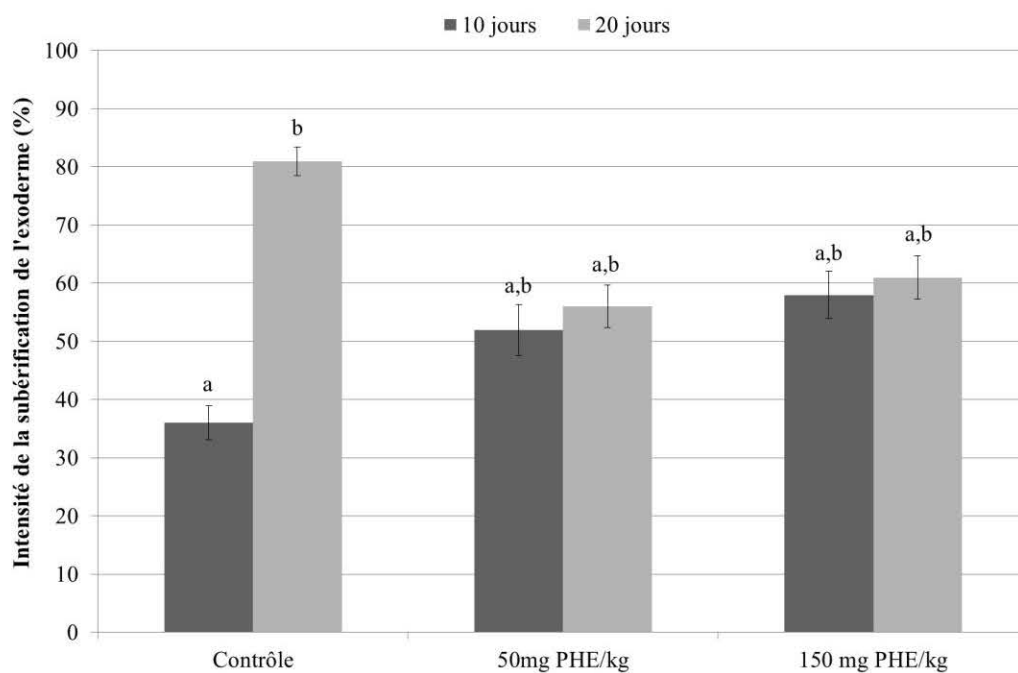


Figure 84 – Intensité moyenne de subérification de l'endoderme et de l'exoderme de la racine principale de maïs exposé à 0, 50 ou 150 mg PHE kg⁻¹ durant 10 ou 20 jours (n=5)

Résumé

En France et en Europe, la fin des activités industrielles liées à l'exploitation du charbon a laissé de nombreux sites et sols pollués par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). La rhizodégradation pourrait permettre leur dépollution par l'utilisation de plantes et de leur microflore associée. Toutefois, l'efficacité de cette technique, démontrée en conditions contrôlées de laboratoire, est limitée *in situ* par de fortes mortalités ou l'inhibition de croissance de la plante. De plus, le transfert de ces polluants dans la plante peut menacer la chaîne alimentaire. Ce travail se propose d'étudier les interactions entre le maïs, choisi ici comme plante modèle, et les HAP de sols industriels contaminés ou un de leur représentant, le phénanthrène ajouté à un substrat simplifié. Le prélèvement des HAP et leur effet sur la physiologie de la plante sont évalués sur des systèmes de complexité croissante et en abordant ces questions à différentes échelles, allant de la cellule à la plante entière. Il s'agit en particulier d'élucider les mécanismes de transfert et de translocation des HAP dans la plante et d'identifier les réponses toxiques de celle-ci. Les résultats mènent à l'hypothèse d'une sorption physique des HAP de la phase solide du sol par contact direct avec les racines comme mécanisme principal d'entrée et non par transport dans la phase aqueuse. Les principaux arguments sont les distributions moléculaires similaires entre les HAP totaux dans les terres et celles dans les racines, les mauvaises corrélations entre les concentrations en HAP dissous dans l'eau porale et les racines, ainsi que la surestimation des concentrations prédites par des modèles existants fondés sur un prélèvement de la solution du sol. La localisation du PHE dans les racines à l'aide d'outils de microscopie montre une subérisation précoce de l'exoderme et l'endoderme, même à de faibles teneurs (50 mg kg⁻¹). Le prélèvement de nutriment ne semble pas affecté mais d'importantes accumulations et carences d'éléments sont observées dans les parties aériennes. Ces perturbations nutritionnelles du maïs pourraient affecter le fonctionnement de la plante et par conséquent limiter sa croissance ou entraîner sa mort.

Mots clefs : HAP, terres industrielles, biodisponibilité, phytotoxicité, nutrition minérale, phytoremédiation

Abstract

In Europe and France, the end of industrial activities associated to coal exploitation left numerous wastelands contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). Rhizodegradation enables their remediation by using plants associated with microflora. However, the efficiency of this technique, demonstrated at the laboratory scale, is often limited *in situ* by high plant mortality or inhibited growth. Furthermore, the PAH uptake in plants may threaten the food chain. This work studied the interactions between maize, chosen as model plant, and PAH from industrial contaminated soils or from simplified model systems, i.e. sand spiked with phenanthrene. PAH uptake and their effect on the plant physiology were assessed using systems of increasing complexity, to solve questions raised at different scales, from the cell to the whole plant. Mechanisms involved in PAH uptake and translocation are proposed and the toxic responses of the plant are detailed. Results lead to a new hypothesis: PAH from the solid phase penetrate the roots by physical and direct contact and not only through uptake in pore water. Main arguments are: similar molecular distributions in soils and roots, low correlations between PAH concentrations in pore water and roots and overprediction of bioaccumulation by using predicting models based on root absorption in soil solution. Localization of PHE in roots using microscopic tools showed early suberisation of endoderm and exoderm in presence of PHE, even at low concentration (50 mg kg⁻¹). Nutrient uptake seemed not affected but large elements accumulations and depletion were observed in aerial part of maize. These nutritional disruptions may affect plant functioning and consequently, decrease its growth or even cause its death.

Key-words: PAH, industrial soils, bioavailability, phytotoxicity, mineral nutrition, phytoremediation