



**HAL**  
open science

# Évaluation de l'équation de Nye-Tinker-Barber pour la modélisation du prélèvement de cadmium par le maïs et le tabouret calaminaire

Jérôme Perriguet

► **To cite this version:**

Jérôme Perriguet. Évaluation de l'équation de Nye-Tinker-Barber pour la modélisation du prélèvement de cadmium par le maïs et le tabouret calaminaire. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2006. Français. NNT : 2006INPL036N . tel-01752747

**HAL Id: tel-01752747**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752747>**

Submitted on 29 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## 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](mailto: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.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

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

# INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Ecole Doctorale Ressources, Procédés, Produits et Environnement

Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA-INPL/INRA UMR 1120

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du titre de Docteur de l'INPL

en Sciences Agronomiques

Par

**Jérôme PERRIGUEY**

### **Modélisation du prélèvement de cadmium par le maïs (*Zea mays* L.) et le tabouret calaminaire (*Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl)**

Soutenue publiquement le 14 septembre 2006 devant la commission d'examen  
composée de :

<b>Michel Mench</b>	Directeur de Recherche, INRA Bordeaux	Rapporteur
<b>Erik Smolders</b>	Professeur, Université de Leuven	Rapporteur
<b>Jacques Le Bot</b>	Chargé de Recherche, INRA Avignon	Examineur
<b>Jean-Louis Morel</b>	Professeur, ENSAIA-INPL Vandoeuvre	Directeur
<b>Corinne Leyval</b>	Directeur de Recherche, CNRS Nancy	Codirectrice
<b>Thibault Sterckeman</b>	Ingénieur de Recherche, INRA Vandoeuvre	Examineur





*e n'est pas parce que les choses sont difficiles que nous n'osons pas, c'est parce que nous n'osons pas qu'elles sont difficiles.*

**(Sénèque)**

*La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne.*

*La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait pourquoi.*

**(A. Einstein)**



## Remerciements

*A long time ago, in a galaxy far, far away...*

La thématique de modélisation du prélèvement des éléments du sol par les plantes a été initiée il y a quelques années à l'ENSAIA, lorsque Jean Louis Morel a effectué son post-doctorat auprès de S.A. Barber. Le modèle de Barber-Cushman a permis par la suite des travaux originaux au laboratoire sur le prélèvement du cadmium par les végétaux dans le cadre d'un D.E.A et d'une thèse en 1989 et 1990. Par la suite, Thibault Sterckeman m'a proposé de reprendre un sujet passionnant en veille depuis quelques années au LSE.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Jean Louis Morel, directeur du laboratoire Sols et Environnement, pour la confiance et l'autonomie qu'il m'a accordées tout au long de mon apprentissage à la recherche. Nos échanges réguliers et ses encouragements m'ont été d'un grand soutien.

J'exprime toute ma gratitude à Thibault Sterckeman, co-directeur de la thèse, pour m'avoir transmis sa passion, un peu de sa rigueur scientifique et pour m'avoir formé à la mesure. Merci infiniment pour votre bienveillance inégalable, vos conseils avisés dans les phases de réflexion et d'expérimentation et vos relectures consciencieuses dans toutes les situations. Merci enfin, pour votre enthousiasme et votre sympathie pour ces quelques années durant lesquelles j'ai tant appris à vos côtés.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Corinne Leyval qui m'a accompagné tout au long du projet par ses conseils, et m'a permis de m'enrichir au sein du LIMOS.

Jean-Yves Grimal en participant aux comités de pilotage a également contribué à la réalisation de ce travail. Merci de m'avoir aidé à dépoussiérer les systèmes pour la culture hydroponique et pour sa mise en place.

Je remercie également Christophe Robin pour les conseils prodigués pour les cultures hydroponiques. L'intérêt qu'il a porté à ce travail a permis d'initier des réflexions constructives et d'améliorer mon questionnement scientifique.

J'exprime mes remerciements également à Christophe Schwartz et Catherine Schmitt pour les précieuses suggestions qu'ils m'ont apportées, en particulier pour la culture de *T. caerulea*, et pour l'apport des graines de *Thlaspi*.

Merci à Catherine Giauffret, Cyril Bauland et Jacques Laborde de l'INRA d'Estrées Mons pour leurs recommandations agronomiques et la fourniture des semences de maïs.

J'adresse mes remerciements à Marie Béatrice Bogeat de l'INRA de Nancy pour son aide dans la caractérisation des systèmes racinaires.

Un grand merci à Alain Rakoto (« j'ai des racines à extraire du sol, ça te dit ? »), Bernard et Stéphane Colin pour leur ingéniosité et leur soutien technique.

Frantz Fournier, sans qui mon petit modèle serait probablement resté une boîte noire, a su me guider avec beaucoup de patience et de pédagogie vers une véritable modélisation. Je lui suis profondément reconnaissant pour ses généreuses leçons de maths et de programmation.

Je souhaite remercier Géraldine Bidard et Marie Paule Norini pour leur aide précieuse pour l'utilisation des outils de biologie moléculaire. Mais je tiens également à remercier pour leur convivialité et leur amitié les autres personnes croisées au LIMOS : Pierre, Babou, Zaz, Judicaël.

Merci Delphine pour tes encouragements et tes nombreux conseils pour l'après thèse, et un grand merci à Mathieu pour avoir supervisé mon vocabulaire mathématique.

Je remercie François Bartoli et Didier Stemmelen pour ces discussions passionnées et passionnantes, qui m'ont amené à affûter mes connaissances sur la théorie de la diffusion.

Merci à Yves Le Roux pour son aide dans le traitement statistique.

Enfin je remercie les membres du jury, en particulier les rapporteurs Michel Mench et Erik Smolders, ainsi que Jacques Le Bot, pour le temps qu'ils ont bien voulu consacrer au jugement et à l'amélioration de ce mémoire.

Merci à Tanegmart Redjala, que j'ai eu la chance d'encadrer, pour sa contribution à cette thèse. Outre son implication et son dynamisme au travail, je la remercie vivement pour les discussions scientifiques interminables très plaisantes que nous avons pu avoir.



Je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire qui a contribué de près ou de loin à cette thèse. Je tiens à remercier Liliane Laurent pour son attention quotidienne et son efficacité redoutable. Je pense également à tous mes amis thésards ou stagiaires pour tous les moments formidables passés au labo (ou à l'extérieur !) : Iyad, Valérie, Clémence, Arnaud, Geoffroy, Vanessa, Abdul, Sandrine, les Sophie,...

Rien de tel que le badminton pour réoxygéner quotidiennement le cerveau et le corps, merci Olivier de m'avoir fait autant courir durant ces années !

Cette aventure on l'a commencée ensemble, et on la termine de la plus belle façon avec ces dernier mois de rédaction mutualiste. La route est encore longue avant de devenir Hokage, mais on sait déjà toi et moi que le meilleur reste à venir. Longue vie à notre amitié, mon Nico !

Il me reste à remercier mes parents, pour le soutien et la confiance qu'ils m'ont accordés tout au long de mes études. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour. Merci à mes frères et leur épouse d'avoir fait le déplacement pour assister à ma soutenance, et merci d'avoir posé des questions !

Merci Marie d'être là avec tant de délicatesse, d'attention et de patience ! Maintenant permets moi de guider tes pas au son d'un gotan.



## Résumé

Ce travail vise à améliorer la compréhension des transferts des éléments traces métalliques du sol vers les végétaux par une approche modélisatrice mécaniste. Le modèle est basé sur des équations définissant les processus de mobilisation-transport de l'élément dans le sol, eux-mêmes pilotés par la diminution de la concentration en solution sous l'influence de l'absorption d'eau et de soluté par la plante. Le modèle a été éprouvé grâce à des cultures de maïs (12 et 24 jours) et de tabouret calaminaire (3 mois) en conditions contrôlées dans un sol agricole contaminé artificiellement par du  $\text{CdSO}_4$ . L'offre du sol a été évaluée par le biais d'extractions chimiques, par des isothermes d'adsorption ou de désorption, ou encore par les cinétiques d'échange isotopique. Cette dernière méthode, conceptuellement la mieux adaptée a été validée expérimentalement. La demande du maïs et du tabouret a été étudiée en hydroponie grâce au traçage isotopique du Cd. Chez le maïs, l'influx racinaire de Cd augmente linéairement avec le métal en solution. D'autre part, l'influx est (i) 3 fois plus important dans des solutions où la compétition ionique est moindre (faible proportion d'oligo-éléments), (ii) 2,7 fois supérieur chez des plants âgés de 12 j par rapport à des plants de 24 j, (iii) 1,4 fois supérieur lorsque mesuré en 2 h au milieu de la journée comparé à une période de 24 h, (iv) non affectée par l'exposition préalable des plantes au Cd. Chez le tabouret calaminaire, entre 70 et 87 % du Cd racinaire semble localisé à l'extérieur du compartiment symplasmique. Le modèle, très sensible aux différentes fonctions d'absorption racinaire, a sous-estimé de 12 et 18 % les prélèvements des maïs âgés respectivement de 12 et 24 j et sous-estimé le prélèvement du tabouret d'un facteur trois. Les paramètres de l'absorption racinaire restent difficiles à acquérir et expliquent en partie la divergence entre les prélèvements simulés et mesurés.

---

**Mots clés** : plante – sol – diffusion – convection – absorption racinaire – pouvoir tampon



## Summary

### **Modelling cadmium uptake by maize (*Zea mays* L.) and alpine penny-cress (*Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl)**

This mechanistic modelling approach aimed to understand the soil-to-plant trace element transfers. The model solves diffusion-convection equation of cadmium (Cd) within the soil under the influence of the depletion of the solution concentration during plant absorption. A growth chamber experiment was conducted with a loamy cultivated soil enriched with CdSO<sub>4</sub>. Roots and shoots were collected after 12 and 24 days for maize and after 3 months for penny-cress. The soil offer (or phytoavailability) was assessed thanks to chemical extractions, adsorption or desorption isotherms, and isotopic exchange kinetics. The latter method has been validated by the simulations. The plant demand was studied by radiolabelling in hydroponic cultivations for both plants. Maize root influx increased linearly with Cd concentration in the solution. Moreover, root influx was (i) 3 fold higher in low ionic competition solutions, (ii) 2,7 fold higher in 12-days-old plants than in 24-days-old, (iii) 1,4 fold higher in the middle of the day in comparison with the full-day period, (iv) not influenced by Cd exposure during cultivation. Between 70 and 87% of Cd seemed located in the apoplasm of the penny-cress roots. Although the model tested different root absorption functions, the simulations underestimated by 12 and 18% the 12-days-old and the 24-days-old maize uptakes respectively, and by a factor 3 the penny-cress uptake. This divergence is partly due to the difficulties in estimating root absorption parameters, which need more research.

---

**Key words:** plant – soil – diffusion – convection – root absorption – buffer power



## Liste des abréviations

***b*** : pouvoir tampon (ou facteur capacité), sans unité

***Cd<sub>c</sub>*** : Cd ajouté au sol, mg kg<sup>-1</sup>

***Cd<sub>T</sub>*** : Cd total mesuré avant la culture, mg kg<sup>-1</sup> de terre

**CEC** : capacité d'échange cationique

**CEI** : cinétique d'échange isotopique

***C<sub>l</sub>*** : concentration de l'élément dans la solution du sol, μmol cm<sup>-3</sup>

***C<sub>li</sub>*** : concentration initiale de l'élément dans la solution du sol, μmol cm<sup>-3</sup>

***C<sub>liv</sub>*** : concentration initiale de l'élément dans la solution du sol, mg l<sup>-1</sup>

***C<sub>min</sub>*** : concentration de l'ion en solution quand  $I_{max} = 0$ , μmol cm<sup>-3</sup>

***C<sub>s</sub>*** : concentration d'ion sur la phase solide

***d*** : densité apparente

***D*** : coefficient de diffusion

***D<sub>e</sub>*** : coefficient de diffusion effective, cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>

***E*** : efflux racinaire

***E(t)*** : quantité isotopiquement échangeable après un temps *t*, mg kg<sup>-1</sup>

***I<sub>max</sub>*** : influx net maximum (*I*) de l'ion dans la racine, μmol cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>

***j*** : index spacial

***J<sub>r</sub>*** : flux radial de soluté (diffusif et convectif)

***k*** : taux de croissance racinaire, s<sup>-1</sup>

***K<sub>m</sub>*** : concentration de l'ion en solution quand  $I = 0,5 \cdot I_{max}$ , μmol cm<sup>-3</sup>

***L*** : longueur racinaire totale à la récolte, cm

***L<sub>0</sub>*** : longueur racinaire initiale, cm

**MF** : matière fraîche

**MS** : matière sèche

***Q*** : facteur Quantité, égal au produit de la Capacité par l'Intensité

***Q<sub>Cd</sub>*** : concentration du Cd labile du sol incluant celui en solution, mg L<sup>-1</sup> de terre

***n*** : index temporel

***r*** : indice de distance radiale

***r<sub>0</sub>*** : rayon racinaire moyen, cm

## Liste des abréviations

$r_l$  : demi-distance entre les racines, cm

$t$  : indice de temps

$U$  : eau évapotranspirée par la plante durant toute la culture, cm<sup>3</sup>

$\Delta r$  : pas d'espace utilisé pour la discrétisation

$\Delta t$  : pas de temps utilisé pour la discrétisation

$\theta$  : humidité volumique du sol

$v$  : flux d'eau dans la plante

$v_0$  : flux d'eau dans la racine au niveau de  $r_0$ , cm<sup>3</sup> cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>



# Table des matières

<b>Liste des abréviations</b> .....	xiii
<b>Table des matières</b> .....	xv
<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre 1. Synthèse bibliographique</b> .....	5
1. Propriétés physico-chimiques générales du Cd.....	5
2. Toxicité du Cd pour l'Homme .....	6
2.1. Etat des lieux des risques .....	6
2.2. Risques pour la santé humaine .....	7
3. Dynamique du cadmium dans les systèmes sol-plante .....	8
3.1. Origine du Cd dans les sols .....	8
3.1.1. Origine naturelle du cadmium.....	8
3.1.2. Apports liés à l'activité humaine.....	8
3.2. Physico chimie du Cd du sol.....	10
3.2.1. Localisation et formes de Cd dans le sol.....	10
3.2.2. Méthodes d'évaluation de la spéciation du Cd dans le sol.....	11
3.2.3. Spéciation du Cd en solution.....	13
3.2.4. Méthodes d'évaluation de la spéciation du Cd en solution.....	14
3.3. Effets des organismes vivants sur la dynamique du Cd dans la rhizosphère .....	14
3.3.1. Influence de la microflore bactérienne.....	15
3.3.2. Interactions entre les éléments traces et les champignons mycorhiziens.....	15
3.3.2.1. Le compartiment sol-racine-champignon.....	15
3.3.2.2. Toxicité et tolérance .....	16
3.3.2.3. Absorption de Cd par le champignon.....	16
3.3.2.4. Effet sur la disponibilité et le transfert vers les plantes.....	17
3.3.3. Effets des exsudats racinaires.....	17
3.3.4. Prélèvement racinaire.....	19

3.4.	Devenir du Cd dans la plante .....	20
3.4.1.	Toxicité du Cd chez les plantes.....	20
3.4.2.	Le cadmium du cytoplasme des cellules racinaires .....	21
3.4.3.	Transport vers les parties aériennes .....	21
4.	Evaluation de la biodisponibilité du Cd du sol .....	22
4.1.	Utilisation des plantes .....	22
4.2.	Les extractions chimiques .....	23
4.3.	Les isothermes d'adsorption/désorption.....	23
4.4.	Les cinétiques d'échange isotopique.....	24
5.	Modélisation de l'absorption d'éléments du sol par les plantes.....	24
5.1.	La démarche de modélisation.....	25
5.2.	Au commencement : l'équation de continuité.....	26
5.3.	Fondements des principaux modèles mécanistes de prélèvement .....	27
5.3.1.	Processus de transport .....	27
5.3.2.	Offre du sol.....	28
5.3.3.	Description du système racinaire .....	28
5.3.4.	Absorption de l'élément .....	29
5.3.5.	Processus rhizosphériques.....	29
5.4.	Le modèle de Barber-Cushman.....	29
6.	Conclusion partielle.....	30
<b>Chapitre 2. Prélèvement de Cd par le maïs et le tabouret calaminaire : Simulation à l'aide du modèle de Barber-Cushman.....</b>		<b>33</b>
1.	Introduction .....	33
2.	Matériels et méthodes.....	34
2.1.	Sol utilisé.....	34
2.2.	Culture en pot.....	35
2.3.	Dosage du Cd total des plantes, du sol et des solutions .....	35
2.4.	Détermination des variables d'entrée du modèle .....	36
2.4.1.	Mesure de $C_{li}$ .....	36
2.4.2.	Mesure de $b$ .....	37
2.4.3.	Mesure des paramètres du transport.....	37
2.4.3.1.	Vitesse moyenne de transfert de l'eau, $v_0$ .....	37
2.4.3.2.	Coefficient de diffusion effective, $D_e$ .....	38

2.4.4.	Mesure des paramètres racinaires .....	39
2.4.4.1.	Longueurs racinaires initiale et finale, $L_0$ et $L$ .....	39
2.4.4.2.	Taux de croissance du système racinaire, $k$ .....	39
2.4.4.3.	Rayon moyen des racines, $r_0$ .....	40
2.4.4.4.	Demi distance entre les racines, $r_l$ .....	40
2.4.4.5.	Paramètres cinétiques de l'absorption.....	40
2.5.	Analyse des données .....	41
3.	Résultats .....	41
3.1.	Effets des traitements sur les paramètres du modèle.....	41
3.1.1.	Concentration initiale de la solution du sol.....	41
3.1.2.	Pouvoir tampon .....	42
3.1.3.	Coefficient de diffusion.....	43
3.1.4.	Paramètres liés à la plante .....	44
3.1.4.1.	Vitesse de transfert de l'eau .....	44
3.1.4.2.	Taux de croissance des racines.....	44
3.1.4.3.	Paramètres géométriques du système racinaire.....	45
3.2.	Effet de la contamination sur le prélèvement du cadmium.....	46
3.2.1.	Maïs.....	46
3.2.2.	Tabouret calaminaire.....	50
3.3.	Simulation du prélèvement de Cd par le modèle de Barber-Cushman .....	51
3.3.1.	Simulation du prélèvement du maïs .....	51
3.3.2.	Simulation du prélèvement du tabouret calaminaire.....	51
3.4.	Analyse de sensibilité.....	53
3.4.1.	Maïs.....	53
3.4.2.	Tabouret calaminaire.....	55
4.	Discussion .....	56
4.1.	Paramètres d'entrée relatifs au sol .....	56
4.1.1.	Concentration initiale en solution .....	56
4.1.2.	Coefficient de diffusion.....	56
4.1.3.	Vitesse de transfert de l'eau .....	59
4.2.	Absorption du Cd par le maïs.....	60
4.3.	Simulation du prélèvement de Cd par le maïs.....	61
4.4.	Simulation du prélèvement de Cd par le tabouret calaminaire .....	63
5.	Conclusion partielle.....	65

<b>Chapitre 3. Evaluation du pouvoir tampon du sol vis-à-vis du cadmium .....</b>	<b>67</b>
1. Introduction .....	67
2. Matériels et méthodes.....	68
2.1. Sol utilisé.....	68
2.2. Détermination du Cd labile par extractions chimiques .....	68
2.2.1. Extraction du Cd total .....	69
2.2.2. Extractions modérées .....	69
2.3. Evaluation du Cd disponible par la méthode des cinétiques d'échange isotopique. .....	69
2.4. Isothermes d'adsorption et de désorption du Cd.....	71
2.4.1. Détermination du temps d'équilibre.....	71
2.4.2. Adsorption du Cd .....	72
2.4.2.1. Adsorption du Cd à partir d'une solution de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ .....	72
2.4.2.2. Adsorption du Cd à partir d'une solution d'eau ultra-pure .....	72
2.4.3. Désorption du Cd .....	72
2.4.3.1. Désorption dans $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ .....	72
2.4.3.2. Désorption dans $\text{CaCl}_2$ .....	72
2.4.4. Analyse statistique.....	73
2.4.5. Détermination du pouvoir tampon .....	73
3. Résultats .....	74
3.1. Extractions chimiques .....	74
3.2. Cinétiques d'échange isotopique.....	74
3.3. Isothermes .....	75
3.3.1. pH et temps d'équilibre .....	75
3.3.2. Adsorption du Cd sur le sol.....	76
3.3.3. Désorption du Cd .....	78
3.4. Facteurs Quantité mesurés .....	81
3.5. Pouvoir tampon .....	81
3.5.1. Détermination par extractions chimiques et cinétiques d'échange isotopique .....	81
3.5.2. Détermination par les isothermes d'adsorption ou de désorption .....	81
3.6. Simulations du prélèvement de Cd.....	83
4. Discussion .....	87
4.1. Estimation du Cd labile .....	87

4.1.1.	Méthodes d'extractions chimiques.....	87
4.1.2.	Cinétiques d'échange isotopique.....	87
4.2.	Adsorption et désorption.....	88
4.2.1.	Isotherme d'adsorption.....	88
4.2.2.	Isotherme de désorption.....	89
4.2.2.1.	Solution de désorption et rapports sol/solution.....	89
4.2.2.2.	Effet du temps de contact.....	90
4.3.	Pouvoir tampon du sol.....	90
4.3.1.	Les isothermes pour décrire le pouvoir tampon ?.....	90
4.3.2.	Choix des valeurs de pouvoir tampon.....	91
4.4.	Analyse de sensibilité.....	91
5.	Conclusion partielle.....	92

#### **Chapitre 4. Mesure des paramètres de la cinétique d'absorption racinaire du Cd par le maïs..... 95**

1.	Introduction.....	95
2.	Matériels et méthodes.....	96
2.1.	Matériel végétal et culture.....	96
2.2.	Absorption de Cd.....	97
2.3.	Mesures racinaires et foliaires.....	98
2.4.	Analyse des plantes.....	98
2.5.	Analyse des données.....	98
3.	Résultats.....	99
3.1.	Développement et croissance des plantes.....	99
3.2.	Accumulation du cadmium chez le maïs.....	100
3.3.	Influx de cadmium.....	100
3.4.	Simulation du prélèvement de Cd.....	106
4.	Discussion.....	108
4.1.	Translocation de Cd vers les parties aériennes.....	108
4.2.	Exposition préalable au Cd durant la culture.....	109
4.3.	Influx racinaires en fonction de l'âge des racines.....	110
4.4.	Absorption du Cd selon la composition de la solution de prélèvement.....	110
4.5.	Nyctémère et durée de l'absorption.....	110
4.6.	Cinétiques d'absorption de Cd par le maïs, une composante saturable ?.....	111

5. Conclusion partielle.....	113
<b>Chapitre 5. Mesure de la cinétique d'absorption racinaire du Cd chez le tabouret calaminaire.....</b>	<b>115</b>
1. Introduction.....	115
2. Matériels et méthodes.....	117
2.1. Matériel végétal.....	117
2.2. Culture hydroponique.....	117
2.3. Essai 1 : Cinétique de prélèvement du Cd dans une solution à concentration en Cd maintenue constante .....	118
2.4. Essai 2 : Evolution de la répartition du Cd dans l'apoplasme et le symplasme de la racine .....	119
2.5. Essai 3 : Cinétiques de l'absorption racinaire du Cd par épuisement .....	119
2.6. Essai 4 : Détermination de la durée optimale des bains de désorption .....	121
2.7. Essai 5 : Absorption racinaire de Cd selon une gamme de concentrations maintenues constantes .....	121
2.8. Analyse des données .....	122
3. Résultats .....	122
3.1. Cinétique de prélèvement du Cd dans une solution à concentration constante (Essai 1).....	122
3.2. Compartimentation du Cd dans les racines au cours des six premières heures d'absorption (Essai 2).....	122
3.2.1. Cd adsorbé réversiblement .....	122
3.2.2. Cd adsorbé irréversiblement.....	125
3.2.3. Cd mesuré dans les bains de méthanol-chloroforme (M-C) .....	125
3.2.4. Cd absorbé dans les cellules racinaires .....	127
3.2.5. Répartition du Cd dans les différents compartiments de la racine.....	127
3.3. Cinétiques de déplétion (Essai 3).....	128
3.3.1. Effet de la pré-exposition au Cd sur l'absorption par la plante.....	128
3.3.1.1. Ecotype Viviez .....	128
3.3.1.2. Ecotypes Durfort et Bergenbach .....	131
3.3.1.3. Comparaison des trois écotypes .....	131
3.3.2. Cinétiques de déplétion pour les trois écotypes de tabouret .....	131
3.3.3. Cinétique de déplétion à partir des concentrations plus élevées .....	133

3.4.	Durée optimale des bains de désorption (Essai 4).....	137
3.5.	Absorption racinaire à concentrations maintenues constantes (Essai 5).....	138
3.6.	Simulation du prélèvement de Cd par le tabouret calaminaire .....	139
4.	Discussion .....	142
4.1.	Compartimentation du Cd .....	142
4.2.	Désorption du Cd « réversible ».....	143
4.3.	Effet des prétraitements de saturation .....	143
4.4.	Une voie apoplasmique prééminente .....	144
4.5.	Influx mesurés dans les plants.....	147
4.6.	Simulation du prélèvement de Cd .....	150
4.7.	Comparaison des méthodes de mesure de la cinétique d'absorption.....	150
5.	Conclusion partielle.....	153
<b>Chapitre 6.</b>	<b>Influence de la fonction d'absorption sur le calcul du prélèvement .....</b>	<b>155</b>
1.	Introduction .....	155
2.	Construction du modèle .....	155
2.1.	Hypothèses de modélisation.....	156
2.2.	Calculs et résolutions de l'équation de transport .....	157
2.2.1.	Formalisation du transport de nutriments au voisinage racinaire .....	157
2.2.2.	Conditions initiales et conditions aux limites .....	158
2.2.3.	Techniques mathématiques de résolution de l'équation de transport .....	159
2.2.4.	Calcul du prélèvement du soluté dans la racine .....	162
2.3.	Modification de la fonction d'absorption.....	162
2.3.1.	Fonction linéaire.....	163
2.3.2.	Fonction puissance .....	163
2.3.3.	Fonction logarithmique .....	164
3.	Résultats et discussion.....	164
3.1.	Validation du modèle .....	164
3.1.1.	Nombre de pas du maillage.....	164
3.1.2.	Comparaison des modèles RUSE et UPTAKE .....	167
3.2.	Simulations par le modèle RUSE des prélèvements de Cd des deux plantes ....	167
3.2.1.	Maïs.....	167
3.2.2.	Tabouret calaminaire.....	169
4.	Conclusion partielle.....	173

<b>Conclusion générale</b> .....	175
<b>Références bibliographiques</b> .....	185
<b>Annexe I. Evaluation de la mycorhization du maïs et de plusieurs écotypes du tabouret calaminaire</b> .....	207
1. Introduction .....	207
2. Matériels et méthodes.....	207
2.1. Culture des champignons et extraction des spores.....	207
2.2. Culture et inoculation .....	208
2.2.1. Germination préalable des plantes .....	208
2.2.1.1. <i>Thlaspi</i> sp. ....	208
2.2.1.2. <i>Zea mays</i> .....	208
2.2.1.3. <i>Allium porrum</i> .....	208
2.2.2. Culture hydroponique des populations de <i>Thlaspi</i> sp. ....	208
2.2.3. Préparation des pots et installation de la culture .....	209
2.2.3.1. <i>Thlaspi</i> sp. ....	209
2.2.3.2. <i>Zea mays</i> .....	209
2.2.3.3. <i>Allium porrum</i> .....	209
2.2.4. Récolte.....	209
2.3. Observation en lame mince .....	210
2.3.1. Coloration des racines .....	210
2.3.2. Préparation et observation des lames .....	210
2.3.3. Paramètres d'estimation .....	210
3. Résultats et discussion.....	212
<b>Annexe II. Etude simple de la spéciation du cadmium dans la solution du sol</b> .....	214
<b>Annexe III. Méthode de Crank-Nicholson</b> .....	216
<b>Annexe IV. Différentiation de l'équation initiale</b> .....	218
<b>Annexe V. Méthode de Newton-Raphson</b> .....	220
<b>Liste des figures</b> .....	223
<b>Liste des tableaux</b> .....	232



# Introduction générale

Les plantes constituent un maillon essentiel de la chaîne alimentaire, et une voie d'entrée majeure d'éléments traces métalliques (ETM) vers les animaux et l'Homme. La gestion de la qualité des sols dans le respect des exigences de santé publique, impose de connaître les risques de transfert sol-plante des ETM, et notamment de prévoir et de réduire les flux vers les parties destinées à l'alimentation. Par ailleurs, l'amélioration des procédés de phytoextraction nécessite une compréhension des capacités d'absorption des plantes ainsi que des processus rhizosphériques impliqués dans la mobilisation des polluants.

Le cadmium (Cd) est un des polluants minéraux les plus préoccupant pour la santé et l'environnement en raison des contaminations qu'il cause dans les sols et de sa toxicité pour les végétaux, les animaux et l'Homme. Son comportement physico-chimique est assez proche de celui d'autres cations polluants, caractérisés par de fortes interactions avec la phase solide du sol. Pour ces raisons, le Cd est un élément modèle pertinent pour l'étude des transferts sol-plante d'ETM. De plus, aucune fonction connue de ce métal n'a été mise en évidence chez les plantes, ce qui suggère que son mécanisme d'absorption diffère des nutriments métalliques essentiels.

La plupart des outils prédictifs actuels de transfert sol-plante, essentiellement basés sur des extractions chimiques des ETM du sol, sont peu génériques, car basés sur des relations empiriques (modèles statistiques) dépendantes des conditions expérimentales. La prévision des flux des ETM du sol vers la plante peut être envisagée à partir d'une description des mécanismes élémentaires qui les régissent et de leur formalisation mathématique. Les modèles mécanistes constituent un outil scientifique incontournable pour tester et élaborer des hypothèses de mécanismes, permettant de les hiérarchiser dans le système et également de détecter les lacunes dans les connaissances.

A l'échelle de la plante entière, les modèles de mobilisation-transfert-absorption combinent des équations de diffusion-convection pour décrire le flux radial des éléments à la racine, à une équation décrivant l'absorption racinaire de l'élément en fonction de sa concentration. Une telle approche a été utilisée par Barber et Cushman (1981) pour simuler l'absorption par les plantes d'éléments nutritifs majeurs. Leur modèle UPTAKE a permis de

simuler correctement le prélèvement d'éléments majeurs comme N, P, K (Barber, 1995 p.119) ou de certains oligo-éléments comme le Zn ou le Mn. En revanche, elle n'a que rarement été utilisée pour étudier le prélèvement d'élément non essentiels tels que Cd, Cr ou Pb, avec des résultats peu satisfaisants pour le Cd (Janot, 1990 ; Mullins *et al.*, 1986 ; Wu, 1989).

Notre objectif est d'utiliser le modèle de Barber-Cushman afin de tester son aptitude à simuler le prélèvement de Cd par des cultures et ce faisant, d'acquérir une meilleure connaissance des transferts sol-plante d'ETM. Ainsi, la thèse tentera de répondre en particulier à la question principale qui sous-tend le modèle : l'absorption par la plante est-elle le moteur de la mobilisation du Cd du sol vers la solution et de son transport du sol à la racine ? En d'autres termes, nous serons amenés à évaluer avec précision les fonctions sources et puits ou (bien que ces termes soient généralement réservés aux éléments nutritifs) le couple offre du sol-demande de la plante. Nous essayerons par ailleurs de valider des méthodes de mesure des paramètres descripteurs de ces deux fonctions.

Les prélèvements simulés seront comparés à ceux de deux plantes aux demandes contrastées en Cd que sont le maïs (*Zea mays* L.) et le tabouret calaminaire (*Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl). La première a fait l'objet de nombreuses recherches, conduisant notamment à la modélisation de son architecture racinaire ou de sa culture ; elle fait partie en outre des plantes de grande culture. Le tabouret calaminaire est un hyperaccumulateur de Cd et de Zn et peut accumuler jusqu'à 100 fois plus de cadmium que les plantes « normales », augmentant ainsi les flux d'éléments du sol vers la plante.

Dans cette optique, le premier chapitre présente une synthèse bibliographique des connaissances sur la dynamique du Cd dans les systèmes sol-plante et sur les méthodes de modélisation du prélèvement racinaire de solutés. Le chapitre suivant est consacré à l'évaluation du modèle de Barber-Cushman pour simuler l'absorption de Cd par le maïs et le tabouret calaminaire. Les efforts y sont concentrés sur l'acquisition des différents paramètres d'entrée du modèle.

Le réapprovisionnement, depuis la phase solide, d'ions prélevés dans la solution par les racines des plantes constitue un aspect important de la nutrition minérale des plantes. Le chapitre 3 traite donc de l'offre du sol et des différentes méthodes d'évaluation du pouvoir tampon du sol. Au terme de ce chapitre, nous chercherons à déterminer la méthode la plus adaptée en la validant à partir de simulations du prélèvement par le modèle. La demande de la

plante est ensuite évaluée pour le maïs dans le chapitre 4 et pour le tabouret calaminaire dans le chapitre 5. L'objectif est de déterminer précisément la fonction d'absorption selon la concentration de l'élément en solution. Cette mesure sera effectuée à l'aide d'un traceur, en hydroponie, en s'efforçant de mimer les conditions en sol et en essayant de déterminer avec justesse les composantes apoplasmique et symplasmique de l'absorption racinaire. Enfin, le dernier chapitre propose le développement d'un modèle basé sur celui de Barber-Cushman, dans lequel le formalisme de la fonction d'absorption au niveau de la racine a été modifié à la lumière des résultats obtenus dans les chapitres précédents. La conclusion éclairera le lecteur quant aux informations fournies par les différentes simulations réalisées dans la thèse.



# Chapitre 1. Synthèse bibliographique

Ce chapitre exposera dans un premier temps un bilan des connaissances sur la toxicité du cadmium (Cd) chez l'Homme et sa dynamique dans les systèmes sol-plante, puis en second lieu les approches modélisatrices de ces systèmes, en traitant plus particulièrement la conception des modèles mécanistes de prélèvement de solutés.

## 1. Propriétés physico-chimiques générales du Cd

Le cadmium est un métal gris argenté, mou, électropositif et malléable. Il résiste à la corrosion atmosphérique ce qui en fait un revêtement de protection pour les métaux ferreux. C'est un métal de transition du groupe IIB du tableau périodique des éléments. Son comportement est proche de celui du Zn, ou d'autres éléments comme Mg, Ni, Co, Fe et parfois même Ca. Sa principale forme dans la nature est CdS (Adriano, 1986). En solution aqueuse, il est stable sous forme de cation  $\text{Cd}^{2+}$  hydraté. Il peut également former des hydroxydes et des complexes ioniques avec les chlorures, les carbonates, les nitrates et les sulfates. Il réagit également fortement avec les composés organiques. Le potentiel rédox et le pH sont des facteurs importants de la mobilité de l'ion  $\text{Cd}^{2+}$ .

Il appartient à l'ensemble éléments en traces métalliques (ETM) qui comprend les métaux, dont le teneur dans la croûte terrestre est inférieure à 1 ‰ (Mitchell, 1964). Le terme de métal lourd désigne un élément dont la masse volumique est supérieure à  $5 \text{ g cm}^{-3}$  et qui peut former des sulfures (Adriano, 1986). L'arsenic, l'antimoine ou le sélénium par exemple se distinguent des métaux car ils n'ont pas les mêmes propriétés et sont donc désignés par le terme métalloïde. L'expression élément en trace s'applique en outre à des éléments présents à des teneurs inférieures à  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de matière sèche dans les organismes, et inférieures à  $1 \text{ g kg}^{-1}$  dans les sols (Bourrelier et Berthelin, 1998).

Depuis une quarantaine d'années le nombre d'étude portant sur le cadmium n'a cessé d'augmenter. Cet élément non essentiel pour les plantes est devenu un des plus préoccupants parmi les éléments en traces métalliques, en raison de sa toxicité pour l'homme et de sa mobilité dans les systèmes sol-plante. C'est au début des années 60 que l'on constate des contaminations de la chaîne alimentaire suite à l'application de fertilisants contenant du Cd. Plus tard la maladie d'Itaï-Itaï au Japon mettra en avant la dangerosité de l'élément. Les principales voies de contamination du corps humain sont l'alimentation, le tabagisme et l'air atmosphérique urbain dans certaines zones très contaminées.

## 2. Toxicité du Cd pour l'Homme

### 2.1. Etat des lieux des risques

Les principaux éléments à considérer pour les risques de contamination de la chaîne alimentaire sont As, Cd, Hg, Pb et Se ; le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France considère le Cd, le Hg et le Pb comme les plus prioritaires. Pour de nombreux éléments, dont le Cd en particulier, la voie d'exposition pour l'homme se fait par le biais des plantes ou des animaux. De nombreuses études tendent à montrer que les teneurs dans les sols dépassent souvent les teneurs maximales fixées. C'est le cas par exemple de sols en Grande Bretagne où les quantités dépassent même celles observées dans les zones de rizières qui ont déclenchées la maladie d'Itaï-Itaï (Thornton, 1988). Le niveau d'apport alimentaire de Cd ne semble pas entraîner de risque particulier pour les populations des pays d'Europe. Toutefois il en est autrement dans certaines zones industrialisées où la consommation de denrées végétales ou animales produites localement doit être évitée.

Les données de surveillance de l'apport de Cd dans les denrées alimentaires sont très peu publiées et il est difficile de connaître l'évolution des contaminations des aliments par le Cd en France. Les principaux vecteurs de Cd par voie alimentaire sont les fruits et légumes (notamment les légumes en conserve, la laitue et les épinards), les fromages et les produits laitiers, et les produits à base de céréales (Boisset et Cumont, 1996). Le foie et les reins des bovins ainsi que les produits de la mer présentent bien souvent des teneurs qui dépassent les limites proposées, mais en raison de leur consommation pondérale plus faible, ils contribuent moins à l'apport alimentaire de Cd que les denrées précédemment citées. Le Tableau 1-1 présente les teneurs maximales dans les denrées alimentaires proposées par Boisset (1996b). Ces limites sont dépassées dans certains cas et sont bien souvent proches des teneurs rencontrées dans les aliments. Selon les recommandations du CSHPF (1996), les teneurs en cadmium dans les grains de blé ne devraient pas dépasser  $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$  de matière sèche. Or, il n'est pas rare de rencontrer des teneurs proches de ces seuils fixés. Ainsi, la médiane des teneurs du blé français est de  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS et le neuvième décile de  $0,11 \text{ mg kg}^{-1}$  (Mench et al., 2001). Après l'alimentation, la principale cause d'exposition au cadmium est le tabagisme qui peut représenter autant que l'alimentation. Nos concitoyens ingèrent en moyenne  $31 \text{ } \mu\text{g jour}^{-1}$  de cadmium (Boisset et Cumont, 1996), ce qui ne diffère pas plus d'un facteur deux des doses admissibles.

Dans les zones éloignées des sources de Cd, les émissions atmosphériques sont de l'ordre de  $0,1 \text{ ng m}^{-3}$  (Williams et Harrison, 1984). Les valeurs typiques urbaines sont de  $0,5$  à  $5 \text{ ng m}^{-3}$ , et peuvent atteindre  $100 \text{ ng m}^{-3}$ , au voisinage de sites industriels majeurs (UE 1999). Les expositions d'un citoyen adulte peuvent donc se situer autour de  $0,1 \text{ } \mu\text{g jour}^{-1}$  (pour une inhalation de  $20 \text{ m}^3$  d'air chargé de  $5 \text{ ng m}^{-3}$  en 24 h). Aux concentrations atmosphériques rencontrées dans l'air ambiant, aucun impact respiratoire n'a été observé ; mais des expositions professionnelles élevées et durables ( $> 20 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$  pendant au moins 20 ans) ont entraîné des troubles respiratoires chroniques (bronchopneumopathie chronique obstructive et emphysème). Le Bureau européen de l'OMS a proposé une valeur guide pour la concentration du cadmium dans l'air fixée à  $5 \text{ ng m}^{-3}$ .

**Tableau 1-1. Teneurs maximales proposées dans les denrées alimentaires et les boissons (exprimées par rapport au poids frais) par Boisset (1996b).**

Denrées alimentaires	Valeurs limites (mg Cd kg <sup>-1</sup> )
Céréales et produits dérivés	0,1
Légumes	0,1
Salades, céleri et épinards	0,2
Poissons	0,1
Mollusques, crabes	2
Viandes (muscles)	0,1
Foie	1
Reins	2
Sodas	0,01
Jus de fruits	0,02
Vins, bière et cidre	0,02

## 2.2. Risques pour la santé humaine

Les effets toxiques du cadmium chez l'homme ont été reportés dès 1858. Toutefois ce n'est qu'après les années 60 qu'un lien sera établi entre l'exposition à des poussières de Cd et certains cancers (poumon, naso-pharynx, prostate). Le cadmium se lie facilement avec des acides nucléiques ce qui lui confère ses propriétés mutagènes et perturbatrices des fonctions de réparation du matériel génétique (Narbonne et Boisset, 1996a). Il peut se substituer au zinc (constituant des enzymes impliquées dans la synthèse de protéines) ou au calcium (proche chimiquement, pouvant entraîner une ostéomalacie chronique, des douleurs osseuses et des fractures) occasionnant des réponses très diverses allant jusqu'à la mort cellulaire. Il perturbe également le fonctionnement de nombreux organites cellulaires (Boisset, 1996b). Les effets du cadmium dans l'organisme animal sont donc très divers. Les effets les plus documentés sont l'apparition d'une néphrotoxicité (Baker *et al.*, 2005) une augmentation de la pression artérielle (Satarug *et al.*, 2005), un effet ostéotoxique (Brzoska et Moniuszko-Jakoniuk, 2005) (ostéoporose et ostéomalacie), un effet modéré sur la reproduction et le développement (Yang *et al.*, 2002) et enfin des effets mutagènes et cancérigènes (Waalkes, 2003 ; Waisberg *et al.*, 2003). Le Centre International de Recherche sur le Cancer a classé le cadmium et ses composés comme cancérigène (classe 1) en 1993, sur la base des données épidémiologiques en milieu professionnel et des expérimentations animales. Les estimations du risque unitaire de cancer du poumon découlant des travaux chez le rat ( $9,2 \cdot 10^{-2} \mu\text{g m}^{-3}$ ) semblent surévaluer le risque observé chez l'homme ( $1,8 \cdot 10^{-3} \mu\text{g m}^{-3}$ ). Les valeurs de risque unitaire basées sur les données scientifiques actuelles sont donc encore incertaines. Le cadmium s'accumule chez l'homme au niveau des reins et du foie. La dose tolérable fixée pour le long terme est de  $1 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  (Narbonne et Boisset, 1996b). On estime l'apport journalier apporté par l'alimentation entre 50 et  $150 \mu\text{g jours}^{-1}$  (Abrahams, 2002) et environ de 31 en France et de  $33 \mu\text{g jours}^{-1}$  pour les pays industrialisés (Boisset, 1996a). La demi-vie du cadmium est estimée à trente ans dans le corps humain, ce qui implique de prendre en compte le facteur d'âge dans les études. C'est ainsi que l'apport alimentaire de Cd est proche des teneurs maximales fixées par la

législation et dépasse parfois les normes admises pour les populations vivant dans les zones industrialisées.

### 3. Dynamique du cadmium dans les systèmes sol-plante

#### 3.1. Origine du Cd dans les sols

##### 3.1.1. Origine naturelle du cadmium

Dans l'environnement atmosphérique, les estimations des émissions de Cd d'origine non anthropique représentent 10 à 15 % des émissions atmosphériques totales, notamment du fait des éruptions volcaniques (Tableau 1-2). Ces flux et ces quantités sont très difficiles à chiffrer. Ils ne représentent que 5 % des émissions totales (Nriagu, 1979).

Le fond géochimique, c'est-à-dire la teneur naturelle en élément en trace dans le sol, contribue parfois de manière importante à une teneur élevée de Cd dans le sol, selon la diversité des substrats géologiques et de la pédogenèse. Ainsi Baize *et al.* (1999) et Baize (2000) ont mis en évidence des larges gammes de valeurs observées dans le cas d'anomalies naturelles modérées (0,7 à 2 mg kg<sup>-1</sup>) ou fortes (2 à 16 mg kg<sup>-1</sup>) dans les horizons en fonction des roches mères et des types de sols. La concentration moyenne dans les sols au niveau mondial est estimée à 0,53 mg kg<sup>-1</sup> dans la couche supérieure. Les sols agricoles contiennent en moyenne entre 0,01 et 2 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias, 2001), au-delà les teneurs reflètent à priori une contamination liée à l'activité humaine.

##### 3.1.2. Apports liés à l'activité humaine

Le Cd est majoritairement utilisé pour le revêtement électrolytique des métaux, dans certains alliages, pour la fabrication d'accumulateurs, dans les peintures et dans l'industrie nucléaire. Les sources de pollution en Cd sont majoritairement liées à l'activité de l'homme et sont constituées principalement par l'industrie métallurgique, l'incinération des déchets, l'exploitation de minerais, la combustion du carbone fossile, l'épandage de boues de station d'épuration, ou encore la fertilisation (Tableau 1-2). La pollution des sols est majoritairement causée par des dépôts atmosphériques et des apports directs au niveau du sol c'est-à-dire par le biais de la fertilisation et les épandages de boues de station d'épuration.

Les concentrations naturelles de cadmium dans les sols cultivés sont de l'ordre de 0,3 mg kg<sup>-1</sup> dans l'horizon supérieur (Bourrelier et Berthelin, 1998 ; Alloway, 1995a), et peuvent atteindre des concentrations supérieures à 150 mg kg<sup>-1</sup> après épandage de boues contaminées (Jackson et Alloway, 1991).



**Tableau 1-2. Estimation des émissions de Cd dans l'environnement (d'après Traina, 1999). <sup>a</sup>données d'entrées d'origines anthropiques uniquement, les quantités naturelles ne sont pas connues. <sup>b</sup>inclus l'agriculture et les déjections animales. <sup>c</sup>inclus les rémanents de bois et branchages, les déchets urbains et les boues issues de la fabrication de métaux.**

Emissions de Cd	Mg an <sup>-1</sup>
Dans l'atmosphère	
<i>Origine naturelle</i>	
éruptions volcaniques	520
végétation	210
poussières atmosphériques	100
feux de forêts	12
évaporation d'eau de mer	1
<b>TOTAL</b>	<b>843</b>
<i>Origine anthropique</i>	
production de métaux non ferreux	5316
incinération de déchets	1350
combustion de bois	200
fertilisants phosphatés	118
production de fer et d'acier	72
combustion de carbone fossile	65
applications industrielles	53
pneu en caoutchouc	10
mine de zinc	3
<b>TOTAL</b>	<b>7187</b>
Dans l'océan	
<i>Origine naturelle</i>	
apport des rivières	5110
dépôts atmosphériques	440
<b>TOTAL</b>	<b>5550</b>
<i>Origine anthropique</i>	
apport des rivières	1700
dépôt atmosphériques	2000
<b>TOTAL</b>	<b>3700</b>
Dans les sols <sup>a</sup>	
matériel abandonné	1200
retombées atmosphériques	5300
poussières de charbon	7200
agriculture <sup>b</sup>	1800
autres sources <sup>c</sup>	5500
<b>TOTAL</b>	<b>22000</b>

## 3.2. Physico chimie du Cd du sol

Le comportement du métal dans la solution du sol (disponibilité au transport ou immobilisation) et aux interfaces solution/solide et solution/plante (phytodisponibilité) dépend d'un grand nombre de paramètres physico-chimiques liés à la nature du sol, et à son contexte biologique, qui vont notamment influencer sur les formes chimiques du métal. En conséquence, la distribution du cadmium dans le système et sa toxicité ne peuvent pas s'expliquer simplement par la connaissance de la concentration totale de cet élément dans le milieu.

L'aptitude du Cd à former des complexes stables avec des ligands organiques ou inorganiques, peut s'expliquer par son caractère d'acide « mou<sup>1</sup> » de Lewis<sup>2</sup> qui lui permet de former des complexes très stables avec les ions  $S^{2-}$ ,  $HS^-$ , les halogènes et les fonctions thiols et sulfures d'acides organiques. L'adsorption du Cd sur les surfaces solides peut également être expliquée par ce principe (Alloway, 1995a).

### 3.2.1. Localisation et formes de Cd dans le sol

Le comportement physico-chimique du Cd est proche de celui des ions  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , ou  $Fe^{2+}$  et  $Mn^{2+}$  parfois même  $Ca^{2+}$  (Alloway, 1995a). Dans la plupart des sols, plus de 99 % du Cd est associé à la phase solide et moins de 1 % est en solution. Les minerais de Cd sont rares, l'élément est généralement fortement associé à la présence du zinc et à sa géochimie, et possède également une forte affinité pour le soufre (Traina, 1999).

Les processus d'adsorption peuvent être séparés en deux groupes en fonction de l'affinité du sorbant pour le métal. Lorsque le Cd établit des liaisons électrostatiques avec les charges de surfaces négatives, il correspond à la fraction échangeable. Lorsque ce métal établit des liaisons plus fortes, on parle d'adsorption spécifique. Dans le premier cas le Cd forme des complexes de sphère externe avec l'adsorbant, alors que dans le second cas les liaisons impliquent des complexes de sphère interne (Christensen et Haung, 1999). Le Cd du sol peut être associé à de nombreux minéraux ou composés, en voici quelques exemples.

Les oxydes métalliques qui possèdent à leur surface des groupements hydroxyles peuvent réagir fortement avec le Cd (McBride, 1989 ; Tiller *et al.*, 1984). L'affinité du Cd pour l'oxygène est suffisamment forte pour libérer le  $H^+$  du groupement, et permettre une adsorption du métal sur les sites de réaction des oxydes et aluminosilicates amorphes. Les oxydes de fer et de manganèse jouent un rôle important dans l'adsorption de Cd (Mustafa *et al.*, 2004).

Les imperfections de la structure des phyllosilicates sont à l'origine de charges permanentes à la surface des minéraux qui permettent l'adsorption du Cd principalement de manière non spécifique. Toutefois une partie plus ou moins importante est difficilement désorbable (entre 70 et 30 %) ce qui indique que le Cd peut établir des liaisons spécifiques

---

<sup>1</sup> Acide de Lewis dont le centre accepteur d'électrons est fortement polarisable, c'est-à-dire dont le nuage électronique peut se déformer facilement sous l'effet d'un champ électrique.

<sup>2</sup> Entité moléculaire, ou espèce chimique, susceptible d'accepter un doublet d'électrons. Un acide de Lewis est donc capable de s'associer avec une autre entité moléculaire, dite « base de Lewis », pour former un complexe par mise en commun du doublet de la base.

entre les feuillets (Saha *et al.*, 2001 ; Saha *et al.*, 2003). On retiendra l'ordre suivant d'affinité : kaolinite < illite < smectite.

La présence de Cd dans les minerais de phosphate a constitué une voie de contamination importante des sols agricoles durant de nombreuses années. Des niveaux importants de Cd ont été mesurés dans les horizons de surface par rapport aux matériaux parents des sols. D'après des extractions au DTPA, Mermut *et al.* (1996) ont montré que plus de 50 % du Cd provenant du fertilisant était disponible pour les plantes. Toutefois, la biodisponibilité du Cd présent dans les fertilisants phosphatés est très nettement dépendante du pH (Traina, 1999).

Le Cd a la possibilité de s'adsorber à la surface de la calcite (McBride, 1980) par complexation de l'ion  $\text{Cd}^{2+}$  déshydraté (Zachara *et al.*, 1991, cité par Skinner et Lafemina, 1994), ce qui le rend difficilement désorbable. La réaction implique un échange de  $\text{Ca}^{2+}$  par  $\text{Cd}^{2+}$ , qui est le moins soluble en solution. Le cadmium peut ensuite rentrer dans la structure de la calcite au cours des recristallisations. A plus forte concentration de calcaire, le cadmium précipite sous forme d'otavite ( $\text{CdCO}_3$ ) (Santillan-Medrano et Jurinak, 1975), qui possède un très faible produit de solubilité. Cette réaction se fait généralement par nucléation hétérogène autour des grains de calcite (McBride, 1980). Les carbonates ( $\text{CaCO}_3$ ,  $(\text{Ca}_x, \text{Mg}_y)\text{CO}_3$ , ...) contrôlent alors la distribution et la disponibilité de l'élément dans le milieu.

Le métal peut aussi s'associer avec les acides organiques (acide malique, citrique, oxalique...) pour former des complexes très stables à la surface du sol (Stevenson, 1976). Les constituants organiques peuvent former des complexes solubles ou insolubles avec le Cd. De ce fait, les composés de faible poids moléculaire (acides fulviques) joueront le rôle de transporteur du Cd dans la solution (Chen *et al.*, 2003) contrairement aux composés de fort poids moléculaire (humine, acides humiques) qui assureront une fonction de puit (Christensen et Haung, 1999). En conditions anoxiques, la présence de groupements sulfures peut contrôler la précipitation du Cd présent en solution. Bäckström *et al.* (2003) montrent que l'acide fulvique associé à de la goethite présente davantage de sites d'adsorption (groupement sulfures) et complexe mieux le Cd en dessous de pH 7. La complexité des matières organiques rend l'étude des processus de sorption du Cd peu extrapolable d'un sol à l'autre. De plus, une difficulté supplémentaire s'ajoute bien souvent par l'association intime entre les colloïdes minéraux et la matière organique humifiée.

### 3.2.2. Méthodes d'évaluation de la spéciation du Cd dans le sol

La connaissance des formes chimiques du Cd dans les phases liquides et solides permet potentiellement d'en déduire sa disponibilité et ainsi les risques de transfert vers les plantes ou les risques de lixiviation. La spéciation en solution peut conduire à décrire la forme précise de l'élément, son état d'oxydation, la formule empirique de sa structure moléculaire, alors que la spéciation en phase solide identifie la solubilité de l'élément vers la phase liquide.

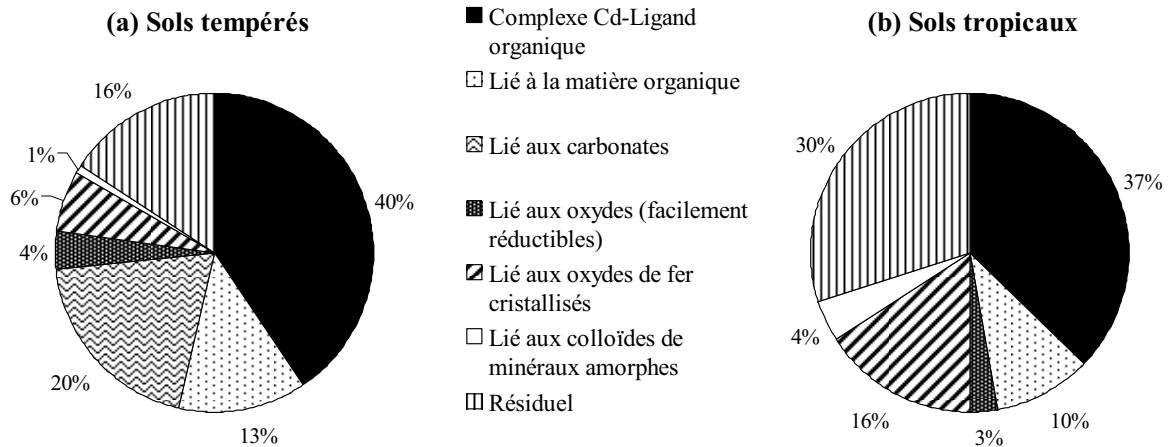
La notion de spéciation désigne les différentes formes chimiques d'un élément et leurs modes d'association tant en solution que dans le solide.

Les différentes réactions du Cd avec les phases porteuses décrites par Adriano (1986) sont les suivantes :

- Adsorption par des forces électrostatiques (type Van der Waals) aux sites d'échanges négatifs des argiles, des composés organiques ou des oxydes hydratés,
- Adsorption ou co-précipitation avec des oxydes ou hydroxydes de Fe, Mn ou Al,
- Précipitation avec les carbonates, bicarbonates ou encore les phosphates,
- Complexation avec la matière organique,
- Intégration dans la structure cristalline de certains minéraux.

Les méthodes permettant de déterminer la spéciation du Cd du sol peuvent donner des informations très précises allant de la simple identification de l'élément à la détermination de la formule chimique de la structure. Une limitation importante de ces techniques est leur limite de détection élevée (Hesterberg *et al.*, 1997) souvent supérieure aux teneurs du Cd dans les sols et les plantes. L'analyse par diffraction aux rayons X permet d'identifier l'élément sur la phase étudiée pour un coût relativement faible par rapport aux autres méthodes (Buatier *et al.*, 2001 ; Thiry et Van Oort, 1999). L'utilisation de microsondes ou des méthodes de spectrométrie EXAFS ont permis de déterminer les formes spécifiques de Cd dans l'apatite (Sery *et al.*, 1996). Salt *et al.* (1997) ont par exemple pu montrer par la méthode XAS, que le Cd était complexé avec S (coordination tétraédrique) dans *Brassica juncea*, et que la fraction de Cd lié au S augmentait avec la production de phytochélatines.

Les extractions séquentielles sont également très utilisées (Tessier *et al.*, 1979). Elles consistent à utiliser différents réactifs d'extraction sur une même terre, afin de décrire la phase associée du Cd et/ou le type de liaison, puisque chacune des phases de l'extraction est supposée dissoudre un constituant précis du sol. Concernant le Cd, les phases/liaisons suivantes de l'élément ont pu être caractérisées : échangeable, lié aux carbonates, lié aux oxydes de Fe et de Mn, lié à la matière organique, et résiduel. Krishnamurti *et al.* (1995b) ont également proposé une méthode d'extraction séquentielle avec davantage d'étapes. Ainsi par exemple, les espèces liées aux oxydes selon Tessier *et al.* (1979) ont pu être subdivisées en 3 compartiments (métal facilement réductible lié aux oxydes, lié aux minéraux amorphes, et espèces de Cd liées aux oxydes de fer). Cependant de nombreuses limitations de cette technique ont été formulées comme (1) la réadsorption du métal durant l'étape d'extraction, (2) la co-extraction de métaux liés à différents constituants, (3) le choix des extractants, (4) le temps de contact entre le sol et l'extractant ainsi que le ratio entre les deux composantes (Bermond, 1992 ; Nirel et Morel, 1990). Un exemple de pourcentage de distribution des espèces de Cd est donné dans la Figure 1-1. Le complexe Cd-matière organique est majoritairement présent, atteignant environ 40 % du Cd total des deux sols. La part de Cd lié aux carbonates représente près de 20 % du Cd total dans les sols tempérés, alors que le Cd résiduel et le Cd lié aux oxydes de fer sont très présents dans les sols tropicaux.



**Figure 1-1. Comparaison des pourcentages moyens de distribution des espèces de Cd lié aux différents constituants d'horizons de surface (a) d'un sol tempéré (Krishnamurti *et al.*, 1995) (b) et d'un sol tropical (Onyatta et Huang, 1999).**

### 3.2.3. Spéciation du Cd en solution

La concentration de Cd en solution dans des sols non contaminés varie entre 0,01 et 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , alors qu'elle peut atteindre des concentrations de 30  $\mu\text{g L}^{-1}$  dans des sols agricoles légèrement contaminés et dépasse parfois 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Page *et al.*, 1981) dans des sols industriels. Comme pour les teneurs totales de Cd dans le sol, les concentrations en solution doivent faire l'objet d'études plus approfondies pour comprendre la dynamique du Cd en solution.

La spéciation du cadmium en solution est une composante essentielle puisqu'elle permet de comprendre la dynamique du métal dans le système, en particulier sa probabilité d'être absorbé par les plantes (Xian et Shokohifard, 1989). Le Cd en solution est présent sous forme libre, de cation hydraté ou complexé avec des ligands organiques ou inorganiques (Helmke, 1999). Les principales formes de Cd sont l'ion  $\text{Cd}^{2+}$  sous sa forme hydratée, qui constitue la forme la plus facilement absorbable par les plantes (Checkai *et al.*, 1987) ou des complexes ioniques :  $\text{CdCl}^+$ ,  $\text{CdOH}^+$ ,  $\text{CdHCO}_3^+$ ,  $\text{CdCl}_3^-$ ,  $\text{CdCl}_2^-$ ,  $\text{CdCl}_4^{2-}$ ,  $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$ ,  $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$  et des complexes organiques plus complexes (Kabata-Pendias, 2001). Les complexes chlorés font partie des complexes inorganiques majoritaires. Le prélèvement de Cd par la plante peut être augmenté par la présence d'ion chlorures en facilitant le transport de Cd ou grâce au prélèvement des formes  $\text{CdCl}^+$  par la racine (Smolders et McLaughlin, 1996a ; Smolders et McLaughlin, 1996b). Les concentrations en complexes de Cd avec des sulfates, des hydroxydes ou des carbonates sont généralement minoritaires dans la plupart des sols comparées à la concentration du Cd total dissout (Helmke, 1999). Le Cd peut en outre se lier à des complexes organiques de fort poids moléculaire. Les anions ou molécules avec lesquels le Cd forme des liaisons sont appelés ligands. La nature des liaisons peut être de type électrostatique ou de covalence. Lorsque les ligands possèdent plusieurs sites de coordination avec le métal, on parle de chélateur, qui peut être qualifié de polynucléaire si le complexe formé contient plus d'un atome de métal.

La concentration totale de Cd dissout varie considérablement selon les sols, elle a tendance à augmenter avec la force ionique et dépend de la concentration de carbone

organique dissout (Fotovat et Naidu, 1998 ; Weng *et al.*, 2002). Il reste que peu de complexes de Cd ont été expérimentalement identifiés et quantifiés dans la solution du sol ; la plupart du temps, les chercheurs ont recouru à des calculs de spéciation pour déterminer, à partir des teneurs élémentaires totales en solution et des constantes thermodynamiques, les formes existantes.

#### 3.2.4. Méthodes d'évaluation de la spéciation du Cd en solution

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour mesurer la spéciation en solution :

- Les concentrations de Cd total peuvent être dosées par spectrométrie d'absorption atomique ou d'émission plasma à couplage inductif ou encore par spectrométrie de masse ; le couplage de la chromatographie liquide permet d'identifier les ligands organiques aromatiques ou aliphatiques les plus simples.

- Les techniques d'échange d'ions (dialyse) et de membrane échangeuse d'ion (équilibre de Donnan, Helmke, 1999) permettent une bonne estimation de l'activité du Cd libre dans la solution du sol (Holm *et al.*, 1995). Les résines échangeuses d'ions sont utilisées pour séparer le Cd dissout en Cd libre divalent ( $Cd^{2+}$ ) et en Cd complexé, ce dernier pouvant être par la suite séparé selon des formes fonctionnelles : labiles, faiblement labiles ou complexes stables (Beveridge *et al.*, 1989 ; Checkai *et al.*, 1987 ; Mullins et Sommers, 1986 ; Slavek *et al.*, 1990).

- L'utilisation des films DGT (pour Diffusive Gradient in thin films) permet de mesurer un flux de métal labile de la solution vers un hydrogel puis vers une résine à haute affinité pour le métal (Harper *et al.*, 1998 ; Nolan *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 1998).

- Les électrodes spécifiques fournissent une mesure directe de l'activité d'un ion libre donné (Gupta et D'Arc, 2000), alors que les méthodes voltamétriques permettent de mesurer les concentrations de métaux labile de manière plus sensible (Pardo *et al.*, 1990).

- Enfin, les modèles actuels de spéciation, basés sur les principes de la thermodynamique, permettent de décrire la spéciation des éléments de la solution dans un état d'équilibre à partir des concentrations totales mesurées et des constantes d'équilibre des espèces en question. Toutefois la présence de substances humiques complexes en solution rend les sorties de ces modèles peu fiables en raison d'une connaissance insuffisante des constantes d'équilibre entre le Cd et les matières organiques dissoutes (MOD). Ainsi selon les valeurs de log K utilisées pour les complexes Cd-MOD, Krishnamurti et Naidu (2003) ont montré que les proportions de Cd libre dans la solution pouvaient varier de 16 à 82 %.

### 3.3. Effets des organismes vivants sur la dynamique du Cd dans la rhizosphère

Les processus biologiques participent également à modifier la mobilité des éléments en traces dans les sols et interagissent avec les processus physico-chimiques précédemment cités.

### 3.3.1. Influence de la microflore bactérienne

Les sols constituent de véritables réacteurs biologiques du fait de la présence de bactéries, champignons, algues et protozoaires. Les bactéries peuvent intervenir dans la transformation (dissolution, altération, insolubilisation, dépôt, néoformation) des minéraux et modifier ainsi le statut des éléments présents (solubilité, état d'oxydation...) dans la phase solide ou liquide des systèmes sols-plantes (Bourrelier et Berthelin, 1998 ; Berthelin et Leyval, 2000). Les organismes chimolithotrophes et chimioorganotrophes utilisent l'énergie et le carbone qu'ils puisent dans les minéraux et la matière organique. L'effet de la rhizosphère est induit par la présence de carbone assimilable à l'interface sol-racine et entraîne l'augmentation du nombre de microorganismes au niveau de la racine (Berthelin et Leyval, 2000). Les bactéries peuvent dans ce cas améliorer le potentiel d'absorption des éléments en traces par les racines (Weissenhorn *et al.*, 1995c) comme c'est le cas pour le Fe (Crowley, 2001), le Mn (Barber et Lee, 1974) ou encore le Cd (Salt *et al.*, 1995a).

De plus les bactéries sont capables d'une forte absorption intracellulaire et/ou une adsorption à la surface des cellules, notamment aux faibles concentrations (Smiejan *et al.*, 2003). Il a été montré que des bactéries mortes avaient une capacité de sorption supérieure à celle de bactéries vivantes et d'une argile du type montmorillonite (Kurek *et al.*, 1982). Toutefois dans les proportions réelles de montmorillonite dans les sols par rapport à la masse de bactéries (mortes et vivantes) se sont les montmorillonites qui adsorbent la grande majorité du Cd de la solution. Les différences de sorption du Cd entre les champignons et les bactéries ne sont pas évidentes (Doyle *et al.*, 1975). Il apparaît que les quantités prélevées selon différentes espèces de bactéries varient considérablement (Kurek *et al.*, 1982). Des études récentes montrent que la présence d'une microflore améliorerait la résistance des plantes au Cd (Belimov *et al.*, 2005 ; Dhankher *et al.*, 2003 ; Engqvist *et al.*, 2006 ; Jezequel *et al.*, 2005) et que les bactéries pourraient ainsi accroître la phytoremédiation (Rangsayatorn *et al.*, 2002 ; Uchida *et al.*, 2005 ; Whiting *et al.*, 2001).

### 3.3.2. Interactions entre les éléments traces et les champignons mycorhiziens

#### 3.3.2.1. Le compartiment sol-racine-champignon

La mycorhize est le résultat de l'association entre un champignon et un végétal. Cette symbiose concerne 95 % des plantes terrestres. Elle permet une amélioration de la croissance et de la nutrition minérale de la plante grâce au champignon. La plante fournit en retour des composés carbonés produits par la photosynthèse. Deux groupes de mycorhizes existent (et parfois co-existent) suivant les caractéristiques morphologiques de l'association. Les ectomycorhizes (ECM) concernent les écosystèmes forestiers notamment, elles forment un manteau fongique autour des racines qui s'insinue entre les cellules pour former le réseau de Hartig. Les hyphes jouent un rôle dans l'absorption et de la translocation d'éléments nutritifs et de l'eau, et contribuent également à la minéralisation de la matière organique. Les endomycorhizes (dont les plus courantes sont les mycorhizes à arbuscules, MA) se distinguent par des hyphes pénétrant dans les cellules des racines. Certains groupes sont spécifiques de certaines familles de plantes (mycorhizes éricoïdes, arbutoides et monotropoides, mycorhizes d'orchidées) mais la majorité des endomycorhizes développent des arbuscules dans les cellules de l'hôte, permettant un échange privilégié.

Les bénéfices pour la plantes sont variés : ils sont d'ordre nutritionnels (eau, P, NH<sub>4</sub>, Cu, Zn...), peuvent améliorer la résistance de la plante (sécheresse, salinité), réduire les maladies et limiter certains agents pathogènes (champignons, nématodes...) (Leyval et Joner, 2001).

### 3.3.2.2. Toxicité et tolérance

Les fortes concentrations de métaux lourds dans les sols peuvent être toxiques pour les micro-organismes. La germination des spores et la colonisation de la plante peuvent être inhibées ou stimulées suivant le métal considéré, les concentrations appliquées, les conditions de laboratoire ou de terrain et évidemment l'isolat fongique considéré (Tonin, 2003). Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la teneur totale en Cd dans le sol amendé avec des boues de station d'épuration et la colonisation mycorhizienne des racines de maïs (Weissenhorn *et al.*, 1995c). En revanche l'intensité de colonisation était très liée à la quantité de matière organique, le pH, la capacité d'échange cationique ou le teneur en phosphore (Weissenhorn et Leyval, 1996). De même les quantités extractibles au NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> de Zn et de Cd sont négativement corrélées à l'infection mycorhizienne (Leyval *et al.*, 1995). Il apparaît que les champignons mycorhiziens s'adaptent aux milieux pollués en métaux et deviennent beaucoup plus résistants et tolérants aux métaux que les souches isolées sur des sols non contaminés (Weissenhorn et Leyval, 1995). Deux stratégies existent chez les champignons ectomycorhiziens : l'évitement ou la résistance. Dans le premier cas, l'absorption est limitée et fait intervenir éventuellement une complexation hors des racines, alors que la résistance consiste à chélater les métaux (métallothionéines, polyphosphates) ou à les compartimenter (Tonin, 2003) dans le milieu cellulaire.

### 3.3.2.3. Absorption de Cd par le champignon

Les champignons mycorhiziens sont capables d'affecter la biodisponibilité des éléments en traces de différentes manières. L'effet le plus direct est le prélèvement des ions de la solution ou sa sorption sur les hyphes. Les mycéliums de champignons ont des capacités de sorption plus de dix fois supérieures à la plupart des autres organismes et peuvent adsorber la quasi-totalité du cadmium en solution lorsqu'il est inférieur à 1 μmol L<sup>-1</sup> (Joner *et al.*, 2000). Les champignons ectomycorhiziens sont également capables de solubiliser des éléments depuis la phase minérale, en particulier des phosphates en produisant des acides organiques et des protons (Leyval *et al.*, 1993). L'augmentation de la biodisponibilité des métaux n'est donc pas exclue. Enfin les champignons agissent aussi de manière indirecte en modifiant l'exsudation racinaire. Les facteurs de bioaccumulation du champignon varient entre 2 et 1000 pour le cadmium (Leyval *et al.*, 1997) et entre 80 et 200 dans des conditions de culture stériles. La tolérance au Cd est parfois accrue pour les champignons MA (Leyval *et al.*, 1995) et dans ce cas elle semble être un caractère persistant puisque qu'elle s'exprime encore après une culture sur un milieu non contaminé (Leyval *et al.*, 1997). L'étude de l'accumulation du Cd dans les hyphes ne peut être envisagée sans la présence de la plante hôte. Des dispositifs utilisant un traceur et une compartimentation champignon seul/mycorhize entre racine et champignon/plante non mycorhizée, ont permis d'estimer les flux dans les différentes zones (Joner et Leyval, 1997).



#### 3.3.2.4. Effet sur la disponibilité et le transfert vers les plantes

Les mycorhizes peuvent jouer un rôle d'interface entre les racines et le sol. Les champignons endomycorhiziens ont la capacité d'augmenter et de faciliter le prélèvement d'éléments majeurs tels que le phosphore ou les ions ammonium. Toutefois, les effets inverses sont observés dans le cas du fer et du manganèse (Marschner, 1995). Pour les éléments en trace les résultats sont contradictoires (Weissenhorn *et al.*, 1995a). Les champignons mycorhiziens ont des aptitudes diverses à immobiliser les métaux dans les racines ou au voisinage racinaire et de réduire leur translocation vers les parties aériennes (Joner *et al.*, 2000). Joner et Leyval (1997) ont montré la capacité des hyphes à transporter le Cd du sol à la racine, mais le Cd resterait dans les hyphes infectant les racines. L'effet de protection de la plante assurée par les champignons ectomycorhiziens vis-à-vis du métal a été assez clairement démontré (Leyval et Joner, 2001). Le champignon agit comme une barrière entre le sol et la plante. La contribution des champignons endomycorhiziens à la résistance au métal par les plantes est assez peu documentée, mais il semble que dans le cas du Cd le champignon immobilise l'élément dans la racine. Ce mécanisme est assez mal connu. L'association d'une bactérie (*Brevibacillus brevis*) avec un champignon mycorhizien (*Glomus Mosseae*), tous deux isolés de sols contaminés en Cd, augmente la croissance de la plante hôte ainsi que sa tolérance au milieu (Vivas *et al.*, 2005). Le champignon semble permettre à la plante de réduire les concentrations de Cd dans ses tissus. Cependant, Weissenhorn *et al.* (1995b) ont montré que la colonisation des racines de maïs par un champignon endomycorhizien n'a pas diminué le prélèvement de Cd par la plante. L'effet de la colonisation racinaire par des champignons MA n'est donc pas toujours clair au vu des résultats de la littérature. Alors que des expériences avec du maïs ont montré selon l'inoculum mycorhizien, soit une augmentation de la biomasse et une diminution du Cd dans les racines soit aucun effet sur la biomasse et une accumulation de Cd (Weissenhorn *et al.*, 1995a), il semblerait toutefois qu'avec de fortes concentrations en métaux les transferts vers les plantes soient plus importants (Weissenhorn et Leyval, 1995).

Aucune généralisation ne semble donc possible, l'influence des champignons mycorhiziens sur les transferts de métaux vers les plantes est étroitement lié aux conditions de croissance de la plante, au métal et à sa disponibilité, ainsi qu'à l'inoculum.

#### 3.3.3. Effets des exsudats racinaires

Les exsudats racinaires incluent l'ensemble des substances libérées par les racines dans le sol (Rovira, 1969), c'est-à-dire les ions ( $H^+$ ,  $OH^-$ ,  $HCO_3^-$ ), les gaz ( $CO_2$ ,  $O_2$ ,  $C_2H_4$ ), les composés organiques solubles (acides organiques, phénols, acides aminés, sucres), et les matières organiques particulières (mucilages, résidus cellulaires) (Rovira *et al.*, 1979 ; Dakora et Phillips, 2002). Les processus d'exsudation racinaire sont donc nombreux et dépendent des conditions environnementales et surtout de la plante. Les principaux processus connus susceptibles de modifier la disponibilité du Cd sont : (1) l'acidification de la solution par efflux de protons par les racines, (2) l'efflux de composés réducteurs, (3) la libération d'acides organiques simples capables de modifier à la fois le pH du milieu mais également de complexer le métal, (4) la libération de phytosidérophores ou autres phytométallophores, et enfin par voie indirecte (5) le prélèvement des éléments de la solution du sol.

L'excrétion de  $H^+$  ou de  $HCO_3^-$  par les racines compense l'absorption des ions et maintient l'électroneutralité dans la cellule (Marschner, 1995). Ceci est la principale cause des modifications du pH rhizosphérique. L'apport d'azote ammoniacal, dont l'absorption est

compensée par l'excrétion de protons, peut ainsi entraîner une augmentation de l'absorption de Cd par rapport à l'apport de nitrates (Marschner et Römheld, 1983 ; Wu, 1989). Une fertilisation par apport d'urée ou de fumier provoque également une baisse de pH (del Castillo *et al.*, 1993 ; Mitchell *et al.*, 2000 ; Tu *et al.*, 2000). La baisse de pH peut entraîner la dissolution de minéraux (oxydes, phosphates...) s'accompagnant d'une absorption accrue du Cd (Marschner, 1991 ; Wu, 1989).

L'augmentation du potentiel d'oxydoréduction Eh, entraîne une diminution du Cd échangeable (Jung et Thornton, 1997 ; Khalid *et al.*, 1981). Les sols hydromorphes présentent des Eh particulièrement bas, et des conditions réductrices qui augmentent les concentrations de Cd en solution (Kashem et Singh, 2001). La libération de composés réducteurs par la plante peut accroître la solubilité du Cd. Toutefois, les auteurs montrent également que l'ajout de matières organiques en solution diminue la solubilité du Cd par leur effet complexant.

La carence en fer entraîne chez les plantes une série de réactions physiologiques bien connues (Welch, 1995), basées sur la réduction de fer (stratégie I, dicotylédones et monocotylédones à l'exception des plantes herbacées) ou la chélation de fer (stratégie II, plantes herbacées). Les gènes codant pour les composants structuraux des stratégies I et II ont été décrits récemment en utilisant des techniques moléculaires, génétiques et biochimiques (Bauer et Berezky, 2003). Les principaux participants de la stratégie I sont la réductase ferrique et le transporteur Fe II alors que la stratégie II implique des enzymes pour la biosynthèse de phytosidérophores. Plusieurs études montrent que les phytosidérophores peuvent complexer d'autres métaux comme le zinc (Hopkins *et al.*, 1998 ; Römheld, 1991 ; von Wirén *et al.*, 1996 ; Zhang *et al.*, 1991b) ou le Cd (Awad et Römheld, 2000 ; Mench et Fargues, 1994 ; Shenker *et al.*, 2001). Toutefois, concernant les constantes de stabilité entre les phytosidérophores et le Cd, très peu de données, sinon aucune, sont disponibles à notre connaissance. En cas de carence de fer, des études montrent une augmentation de la synthèse de phytosidérophores en solution, ce qui a pour effet d'augmenter le prélèvement de Cd par la plante (Sharma *et al.*, 2004 ; Römheld et Awad, 2000). Toutefois Shenker *et al.* (2001) ont montré que les phytosidérophores ne semblent pas favoriser le prélèvement de Cd chez le blé et l'orge. Hill et Lion (2002) observent le même effet chez le maïs, et considèrent que les phytosidérophores protègent la plante d'une toxicité cadmiée. La libération de phytosidérophores est définie dans le génome, et peut donc varier considérablement (facteur 20) d'une plante à l'autre (Römheld et Marschner, 1990). Meda *et al.* (2005) suggèrent que la quantité de métal dans les racines de maïs pourrait réguler la transcription des transporteurs des complexes Fer-phytosidérophore.

L'association de Cd avec des composés organiques de faibles poids moléculaires influence sa mobilité et son absorption par les plantes (Gerke *et al.*, 1999 ; Jones et Darrah, 1994 ; Krishnamurti *et al.*, 1997 ; Mench *et al.*, 1985 ; Naidu et Harter, 1998). La production par les plantes de petits acides organiques entraîne des effets contradictoires sur l'absorption du Cd, tantôt l'augmentant (chez le blé, Cieslinski *et al.*, 1998 ou chez le tabac, Mench et Martin, 1991), tantôt n'entraînant aucun effet (chez le lupin, Romagni *et al.*, 2000 ou chez le blé, Sun *et al.*, 2005). Chez le maïs, la complexation du Cd par les exsudats racinaires a été largement démontrée (Mench *et al.*, 1987 ; Morel *et al.*, 1986), les mucilages présentant une plus faible capacité de liaison que les exsudats solubles (Morel *et al.*, 1987). Lombi *et al.* (2002) ont mis en évidence, chez le tabouret calaminaire, que le prélèvement de Cd augmentait sous l'influence d'une carence en fer, alors que Zhao *et al.* (2001) n'ont montré aucune mobilisation du Cd par les exsudats racinaires. Il a été montré un effet protecteur de l'acide abscissique chez le riz grâce à un ralentissement du prélèvement et une plus grande

tolérance au Cd (Hsu et Kao, 2003). La libération dans la solution de composés protéiques et d'acides aminés ne permet pas de solubiliser des éléments et a un effet limité sur l'absorption par la plante (Jones et Darrah, 1994). L'effet des acides organiques sur l'absorption dépend fortement des propriétés physico-chimiques (notamment le pH) et biologiques du sol (Darrah et Roose, 2001).

#### 3.3.4. Prélèvement racinaire

Les taux d'absorption du cadmium varient considérablement en fonction de l'espèce considérée, de la concentration du cadmium biodisponible dans le sol et de nombreux facteurs bio-physico-chimiques (pH notamment). Lepp (1981) a synthétisé de nombreux travaux concernant l'absorption de Cd par les végétaux et les conséquences de leur absorption sur les plantes. Le facteur de transfert racinaire du cadmium aux végétaux est compris entre 0,1 et 10 (Alloway, 1995a) ce qui est généralement supérieur à celui de la plupart des métaux en traces. En outre, il existe une importante variabilité de ce paramètre entre les différents types de plantes : il a été observé que les légumes feuilles (salades, épinards), les légumes racines (carotte, radis) ou les tubercules (pomme de terre) ont un taux de transfert 3 à 5 fois supérieur à celui des céréales (Adriano, 1986). Selon certains auteurs (Das *et al.*, 1997), l'efficacité de l'accumulation des métaux, dont le cadmium, serait dépendante de l'architecture racinaire (quantité et taille des racines), les racines fines permettant d'augmenter l'absorption.

C'est au début des années 50 que le prélèvement des nutriments a été étudié grâce aux cinétiques de transport des ions à travers la membrane. Epstein et Hagen (1952) feront une analogie avec l'enzymologie pour décrire le prélèvement d'ions par une fonction de Michaelis-Menten, à l'image des réactions entre enzyme et substrat. Toutefois ce modèle est restreint à décrire l'absorption dans une gamme de concentration étroite. Plus tard des mécanismes doubles d'absorption sont supposés chez l'orge (Epstein, 1966) puis chez de nombreuses espèces. Ces deux mécanismes sont identifiés : l'un aux basses concentrations avec des transporteurs spécifiques à hautes affinités au niveau du plasmalemme, montrant une allure de type Michaelis-Menten ; l'autre aux concentrations plus élevées, avec des transporteurs situés au niveau du plasmalemme ou du tonoplaste, non modélisé et présentant une affinité inférieure pour l'ion.

Ainsi comme pour la plupart des cations, l'absorption du cadmium semble montrer deux composantes dans une large gamme de concentration. Une composante saturante de type Michaelis-Menten aux basses concentrations et une composante linéaire aux plus fortes concentrations (Zhao *et al.*, 2002 ; Lombi *et al.*, 2003). Des composantes multiphasiques (deux composantes saturantes successives) ont été décrites chez le soja par Cataldo *et al.* (1983a). La composante saturable est interprétée par l'existence de transporteurs actifs (diffusion facilitée ou ATP dépendant) prenant en charge les cations  $\text{Cd}^{2+}$ . Toutefois, on peut penser que le métal ne possède pas de transporteur spécifique mais utilise plutôt les transporteurs d'autres cations divalents comme  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  (Cataldo *et al.*, 1983a ; Costa, 1992), entrant ainsi en compétition avec ces nutriments. La synthèse de Clemens (2001) recense les transporteurs protéiques de métaux dans le cytosol. Concernant le cadmium, les transporteurs identifiés sont les suivants : ZIP1-4 et ZNT1 ( $\text{Zn}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$ ) ; AtNramp1/3/4 ( $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$ ) et LCT1 ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$ ). Dans plusieurs études (Cataldo *et al.*, 1983b ; Costa et Morel, 1993 ; Salt *et al.*, 1995b), l'isotherme d'absorption semble toutefois pouvoir être modélisée par une droite bien que l'ajustement de Michaelis-Menten soit également approprié. La composante linéaire est interprétée soit comme de l'adsorption apoplasmique (Blaudez *et al.*, 2000 ; Hart *et al.*, 1998 ; Lombi *et al.*, 2001) soit comme de l'absorption non

spécifique aux fortes concentrations, grâce à des canaux ioniques empruntés par  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  (Welch et Norvell, 1999). De plus, le calcium est principalement absorbé par des canaux ioniques, or les deux éléments ont des rayons ioniques proches (97 pm pour Cd et 99 pm pour Ca), ce qui laisse supposer que le cadmium puisse emprunter la voie du calcium même aux basses concentration (Tinker et Nye, 2000). Par ailleurs, aux fortes concentrations de Cd, son absorption par les racines d'orge (Cutler et Rains, 1974) et par une levure (Pence *et al.*, 2000) se fait principalement par diffusion passive et sans processus métaboliques. Chez la bactérie *Alcaligenes eutrophus*, le  $\text{Cd}^{2+}$  serait transporté grâce à des transporteurs du Mn nécessitant de l'énergie (Nies et Silver, 1989a). Dans les cellules animales, le cadmium emprunterait également les canaux ioniques du  $\text{Ca}^{2+}$ .

La principale difficulté dans la mesure de l'absorption racinaire est de pouvoir distinguer la part de cadmium réellement absorbé par les racines par voie symplasmique et par voie apoplasmique, des quantités adsorbées dans l'apoplasme. Les études sont souvent réalisées sur des temps courts d'absorption et de ce fait la part de métal sorbé n'est pas négligeable face à l'influx dans les cellules racinaires. Rauser (1987) a proposé une méthode de désorption du Cd en immergeant les racines dans des bains de  $\text{CaCl}_2$  durant 10 minutes. Plus tard Cataldo *et al.* (1983a) et Costa (1992) ont préconisé trois bains successifs contenant, en plus du  $\text{CaCl}_2$ , des quantités importantes de cadmium non marqué, afin d'échanger davantage de Cd radioactif sorbé. Toutefois, les bains ne permettent de retirer qu'une faible partie du Cd adsorbé dans l'apoplasme (Lombi *et al.*, 2001), alors que du Cd qualifié de non échangeable reste lié à la racine et peut représenter jusqu'à 45 % du Cd total de la racine (Cataldo *et al.*, 1983a).

### 3.4. Devenir du Cd dans la plante

#### 3.4.1. Toxicité du Cd chez les plantes

Le métal est un élément non essentiel aux plantes. La toxicité du cadmium chez les plantes s'exprime généralement par un retard dans le développement des jeunes pousses, par une chlorose ainsi que par des perturbations de la photosynthèse et de la transpiration. La chlorose est une conséquence de la perturbation du métabolisme foliaire du fer et du zinc. Ainsi, la présence de cadmium dans le milieu de culture conduit à la diminution de l'absorption du fer (Haghiri, 1973 ; Alcantara *et al.*, 1994) et à la modification du rapport fer/zinc dans la feuille. En général, le Cd interfère avec le prélèvement, le transport et l'utilisation de différents éléments (Ca, Mg, P et K) et de l'eau par les plantes (Das *et al.*, 1997). La réduction du prélèvement des nitrates et l'inhibition de l'activité de la nitrate réductase ont été également observées (Hernandez *et al.*, 1996). Aux fortes concentrations en cadmium, son accumulation dans la plante peut conduire à des dommages physiologiques et génétiques. Le Cd réduit l'activité des ATPase de la membrane plasmique (Obata *et al.*, 1996) et altère la fonctionnalité des membranes par peroxydation lipidique (Fodor *et al.*, 1997). Plusieurs études ont également montré que le Cd entraînait un stress oxydatif (Sandalio *et al.*, 2001 ; Balestrasse *et al.*, 2001) par inhibition des activités enzymatiques d'antioxydants et dans une moindre mesure par production d'espèces réactives oxygénées. Toutefois, ces expériences ont été conduites, bien souvent, dans des teneurs très élevées de Cd par rapport à celles constatées dans la solution du sol. Certaines plantes tolèrent mieux le Cd que d'autres ce qui se traduit généralement par une plus forte accumulation de Cd, comme par exemple chez la laitue, le navet ou le tabac (Page *et al.*, 1981 ; Kuboi *et al.*, 1986) ou une

hyperaccumulation chez le tabouret calaminaire (Baker *et al.*, 1994 ; Brown *et al.*, 1994 ; Brown *et al.*, 1995).

#### 3.4.2. Le cadmium du cytoplasme des cellules racinaires

Pour maintenir son homéostasie et se protéger de la toxicité du métal, la cellule dispose de plusieurs mécanismes de contrôle de l'activité des ions  $\text{Cd}^{2+}$  : (1) la complexation du métal, (2) sa compartimentation ou (3) son efflux (Clemens, 2001). Le devenir du cadmium après son absorption racinaire n'est pas connu avec certitude, mais la forte réactivité de  $\text{Cd}^{2+}$  avec les groupements sulfures entraîne l'activation de métabolites essentiels aux cellules, tels que le glutathion et certaines protéines (Cobbett, 2000). En effet le Cd entre en compétition avec d'autres ions tels que Zn, Cu et Ni sur les sites de ces métabolites. Les phytosidérophores et plus généralement les phytochélatines (PC) sont des polymères issus du glutathion, capables de complexer le Cd du cytosol grâce à des fonctions thiols (Pickering *et al.*, 1999 ; Rauser et Meuwly, 1995). Ces mécanismes essentiels protègent les cellules et sont susceptibles de permettre le transport du Cd dans les cellules et de l'exporter vers les parties aériennes (Rauser, 1995). Il a été montré que le Cd pouvait agir directement sur l'absorption de soufre et augmenter la production de PC (Maier *et al.*, 2003 ; Nocito *et al.*, 2002). Souza et Rauser, (2003) ont observé les réactions, en terme de  $\text{Cd}^{2+}$  lié à des PC au niveau racinaire et foliaire, de radis et maïs soumis à des excès de Cd et Zn en hydroponie. Dans le radis, le Cd est complexé (PC de fort poids moléculaire et acides organiques de faible poids) à 69 % au niveau racinaire et 42 % au niveau foliaire, contre 88 % et 27 % respectivement chez le maïs.

Le cadmium peut ainsi être stocké dans la vacuole grâce à des molécules organiques de fort poids moléculaire. Salt et Wagner (1993) ont montré l'existence d'un antiport  $\text{H}^+/\text{Cd}^{2+}$  au niveau du tonoplaste des cellules de chêne. Le complexe Cd-PC pourrait également pénétrer dans la vacuole grâce à un transporteur ABC (ATP dépendant) chez la levure (Ortiz *et al.*, 1995) ou chez le chêne (Salt et Rauser, 1995). Il est également supposé que les ions  $\text{Cd}^{2+}$  puissent être stockés dans différents organites cellulaires. Récemment, l'étude de Hanikenne *et al.* (2005) suggère que le Cd puisse être stocké dans les mitochondries grâce à un transporteur ABC. La présence du glutathion sous sa forme réduite peut constituer l'un des principaux complexant du Cd dans les cellules tant que les concentrations de Cd restent modérées (Vögeli-Lange et Wagner, 1996). Les auteurs suggèrent que les phytochélatines ne jouent un rôle important que lorsque les expositions sont importantes et dépassent  $5 \mu\text{mol Cd L}^{-1}$ .

Bien qu'il n'ait jamais été mis en évidence, l'efflux de cadmium est probable. Chez le lupin par exemple, l'excrétion du Cd par une ATPase pourrait être à l'origine d'une plus grande tolérance au métal (Costa et Morel, 1993). Chez la bactérie *Alcaligenes eutrophus*, Nies et Silver (1989b) ont montré qu'un plasmide de grande taille pouvait lui conférer une pompe active qui exclue le cadmium de l'organisme. Plus récemment, Burzynski *et al.* (2005) ont mis en évidence des systèmes antiport  $\text{H}^+/\text{Cd}^{2+}$  chez le concombre.

#### 3.4.3. Transport vers les parties aériennes

L'intensité de la translocation du cadmium vers les parties aériennes varie considérablement en fonction des plantes. Généralement, plus les plantes accumulent de cadmium, plus les rapports de concentrations feuilles/racines augmentent. Florijn et Van Beusichem (1993) ont étudié le prélèvement et la distribution du Cd chez différentes lignées

de maïs et ont montré que les capacités de translocation des plantes étaient à l'origine d'une différence d'accumulation foliaire. Comme pour les éléments minéraux le cadmium doit passer des compartiments symplasmiques vers les cellules parenchymateuses conjointes aux vaisseaux du xylème. La sève du xylème conduit le métal jusqu'à l'apoplasme des cellules mésophylliennes foliaires sous l'effet du flux de transpiration. Le cadmium circulerait dans le xylème sous forme libre et sous forme complexé, bien que la nature de ces complexes ne soit pas clairement identifiée. Chez la moutarde, les processus de transport de Cd dans le xylème semblent être réalisés grâce à un système de transporteurs saturables (Salt *et al.*, 1997). Senden *et al.* (1995) ont observé que l'ajout d'acide citrique dans la solution rhizosphérique pouvait augmenter la translocation des racines aux feuilles d'un facteur six à huit chez la tomate. Les phytométallophores et les peptides contenant des groupements thiols seraient les composés les plus efficaces pour transporter le Cd dans le xylème, mais leur importance dans la sève brute est assez peu documentée.

Le métal devra ensuite franchir de nombreuses membranes cellulaires avant d'atteindre les vaisseaux du phloème qui amèneront en partie l'élément dans les organes comestibles et en particulier les grains ou les fruits en développement. Le pH légèrement basique de la sève élaborée (7-8) (Marschner, 1995 ; Welch, 1995) ainsi que la présence abondante de ligands organiques garantissent que le cadmium soit en majeure partie complexé. La grande diversité de ligands organiques présents à des concentrations différentes, est probablement à l'origine des différences de mobilité et de la capacité de stockage des métaux dans les parties aériennes (Brooks *et al.*, 1998). Ainsi le Cd est principalement localisé au niveau des vacuoles des cellules foliaires chez le tabac (Vögeli-Lange et Wagner, 1990), alors que chez le maïs, l'élément est présent au niveau des parois cellulaires (Lozano-Rodriguez *et al.*, 1997). Carrier *et al.* (2003) montrent que le Cd est présent au niveau foliaire chez *Brassica napus* à la fois dans les vacuoles et dans les parois cellulaires. Enfin, le cadmium peut également être compartimenté majoritairement dans l'épiderme foliaire (Chardonens *et al.*, 1998) ou dans le mésophylle comme chez *Arabidopsis halleri* (Küpper *et al.*, 2000), ainsi que dans les trichomes qui constituent des organes foliaires capables de stocker des quantités importantes de Cd, comme c'est le cas chez le tabac ou la moutarde indienne (Choi *et al.*, 2001 ; Salt *et al.*, 1995b). La présence de Cd dans les grains de blé n'est pas corrélée à la concentration de Cd racinaire, ni à la translocation entre les racines et les feuilles, ce qui suggère que les mécanismes de transport du Cd dans le phloème sont importants pour comprendre les risques de transfert du métal dans les grains (Hart *et al.*, 1998). En outre, Harris et Taylor (2004) suggèrent que le blé puisse limiter le transfert de Cd vers les grains en réduisant la translocation vers les feuilles.

#### 4. Evaluation de la biodisponibilité du Cd du sol

D'après Barber (1995) la biodisponibilité d'un élément pour une plante est son aptitude à être transféré directement ou indirectement d'un compartiment du sol vers le système racinaire. Les méthodologies permettant d'étudier la biodisponibilité sont nombreuses.

##### 4.1. Utilisation des plantes

La méthode la plus évidente pour mesurer la biodisponibilité des éléments en traces par les végétaux consiste à mesurer directement la teneur de ceux-ci dans les tissus. Toutefois,

si cette mesure permet d'évaluer les risques de transferts vers la chaîne alimentaire, il n'est pas possible d'apprécier les quantités totales d'éléments disponibles par cette méthode, car les plantes puisent qu'une partie du compartiment biodisponible durant la culture.

#### 4.2. Les extractions chimiques

Les méthodes les plus courantes sont les extractions qui consistent à décrire une fraction de la quantité totale de métal du sol grâce à des réactifs chimiques. Trois catégories d'extractants peuvent être dissociées : les acides (HF, HNO<sub>3</sub>, HCl), les agents chélatants (EDTA, DTPA) et les solutions salines tamponnées ou non (CaCl<sub>2</sub>, NaNO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>...) (Lebourg *et al.*, 1996 ; Kabata-Pendias, 2001). Les solutions salines solubiliseront le Cd par réaction d'échange cationique, assistée ou non d'une complexation du Cd par l'anion accompagnateur. La solution centimolaire de CaCl<sub>2</sub> présente l'avantage de ne pas modifier le pH du sol, de présenter une composition similaire (force ionique, espèces présentes) avec la solution naturelle et d'échanger aisément les ions Cd<sup>2+</sup> du complexe argilo-humique par Ca<sup>2+</sup> (Houba *et al.*, 2000 ; Degryse *et al.*, 2003). L'extraction par le chlorure de calcium est assistée d'une complexation des ions Cd<sup>2+</sup> avec les ions Cl<sup>-</sup>. Le chlorure de calcium a montré son efficacité pour évaluer la biodisponibilité de Cd pour de nombreuses plantes telles que la laitue, l'endive (Novozamsky *et al.*, 1993), le maïs (Mench *et al.*, 1992) ou encore le ray-grass (Wu, 1989). Le NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> molaire a montré des contradictions, avec tantôt une corrélation entre les quantités de Cd extrait et les teneurs dans de nombreuses plantes (Prüeb *et al.*, 1991 ; Prüeb, 1995 ; Symeonides et McRae, 1977) et tantôt des résultats moins convaincants (Jackson et Alloway, 1991 ; Singh *et al.*, 1995). La solution d'extraction aurait tendance à modifier le pH de la solution naturelle du sol (Lebourg, 1996). D'après Lebourg (1996), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> serait également susceptible de complexer le Cd et ainsi de favoriser l'extraction. Hall *et al.* (1998) montrent que la solution de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ne modifie pas le pH mais permet une réadsorption de Cd, en raison d'un équilibre lent entre le sol et la solution, pouvant ainsi conduire à une sous-estimation du Cd disponible pour la plante. L'utilisation des méthodes d'extraction chimique posent des problèmes d'ordre analytique en particulier le manque de reproductibilité des mesures (Lebourg, 1996). Ces questions sont souvent peu abordées dans la littérature. De plus, la biodisponibilité est déterminée par la combinaison de paramètres chimiques (pH, teneurs en matières organiques, argiles et oxydes), biologiques (effet de l'espèce végétale, temps de culture, capacité d'absorption, activité microbiologique) et environnementaux (origine des métaux, régime hydrique). Il n'existe donc pas de méthode d'extraction universelle d'évaluation de la biodisponibilité de tout sol pour tout végétal.

#### 4.3. Les isothermes d'adsorption/désorption

Ce sont principalement les processus de sorption et de désorption qui déterminent la répartition du Cd entre la phase solide et la phase liquide plutôt que la précipitation (Christensen et Haug, 1999 ; Tiller *et al.*, 1984). De ce fait l'adsorption de Cd est habituellement décrite par des isothermes reliant le Cd sur la phase solide à sa concentration en solution. Bien que ces relations soient empiriques, des modèles théoriques tels que les équations de Freundlich, Langmuir ou la régression linéaire peuvent être ajustés aux isothermes observées (Alloway, 1995b). Plusieurs auteurs ont montré que les isothermes pouvaient être décrites par des portions linéaires en particulier aux basses concentrations de Cd (Garcia-Miragaya et Page, 1978 ; Gray *et al.*, 1998 ; Kuo, 1990). Plusieurs facteurs peuvent affecter les isothermes : le pH, la composition cationique, les métaux en trace en compétition,

et les caractéristiques des ligands organiques et inorganiques. Le pH est sans conteste le facteur le plus influant. Des études sur les variations du  $K_d$  montrent que le pH explique 72 % des propriétés de sorption du Cd (Christensen, 1989). Les cations présents à des niveaux millimolaires peuvent affecter l'adsorption (Christensen, 1984), de même que les autres métaux comme Zn, Cu, Hg, Ni, Co (Christensen, 1987). La présence de Zn (présent en plus forte concentration généralement) peut réduire l'adsorption de Cd de 25 à 50 %.

### 4.4. Les cinétiques d'échange isotopique

La méthode de dilution isotopique consiste à suivre le devenir d'un élément grâce à un de ses isotopes radioactif ou stable. Ces techniques ont d'abord été utilisées sur les éléments majeurs comme le phosphore (Fardeau, 1981) avant d'être adaptées au Cd (Pandeya *et al.*, 1998 ; Smolders *et al.*, 1999 ; Gérard, 2000). L'introduction d'un traceur dans une suspension de sol permet de quantifier le compartiment dans lequel le traceur va se diluer par échange homo-ionique. Ce compartiment étant en fait celui de l'élément en solution et en équilibre avec celle-ci sur la phase solide, il peut être assimilé à celui de l'élément disponible. Les cinétiques de dilution (ou d'échange) isotopique consistent à suivre l'évolution de l'isotope dans le système sol/solution au cours du temps. Elles permettent de définir des sous-compartiments de l'élément disponible selon la vitesse de la dilution du traceur (Gérard, 2000).

## 5. Modélisation de l'absorption d'éléments du sol par les plantes

La corroboration des hypothèses de mécanismes à l'aide de modèles mathématiques confrontés à des données expérimentales a été appliquée très tôt et a beaucoup évolué en fonction des connaissances de la dynamique des transferts des éléments dans les sols, de la physiologie des plantes et depuis quelques années de la connaissance du milieu rhizosphérique (Darrah et Roose, 2001). La modélisation est un outil qui peut avoir plusieurs buts. Les modèles mécanistes permettent d'identifier, de représenter et de hiérarchiser les principaux processus qui sous-tendent le comportement d'un système complexe. D'autres approches, dites empiriques visent plutôt à développer un outil de prédiction simple d'utilisation, et d'aide à la décision pour des diagnostics de fertilisation ou d'évaluation des risques. Le modèle empirique (statistique) construit des lois générales en se basant sur des observations, indépendamment des mécanismes sous-jacents, contrairement au modèle mécaniste qui est basé sur des processus. Les deux approches différentes ont été développées par les agronomes et les physiologistes pour décrire le prélèvement d'un nutriment (Le Bot *et al.*, 1998).

L'approche mécaniste décrit les différentes étapes du prélèvement : passage de l'élément du sol vers la solution, transport, assimilation par les racines. L'intégration de ces différentes étapes est ensuite nécessaire pour simuler le transfert de l'élément dans le système entier.

L'approche statistique décrit les principaux facteurs qui gouvernent l'équilibre entre le prélèvement des nutriments et la croissance de la plante. Les modèles empiriques sont le plus souvent une description des mesures observées et sont obtenus en ajustant une ou plusieurs équations aux données. Le cadmium absorbé par la plante a pu être par exemple corrélé et évalué à partir de différentes mesures : pH, extraction du Cd au  $\text{CaCl}_2$  0,1 M ou au  $\text{NH}_4\text{AcO}$



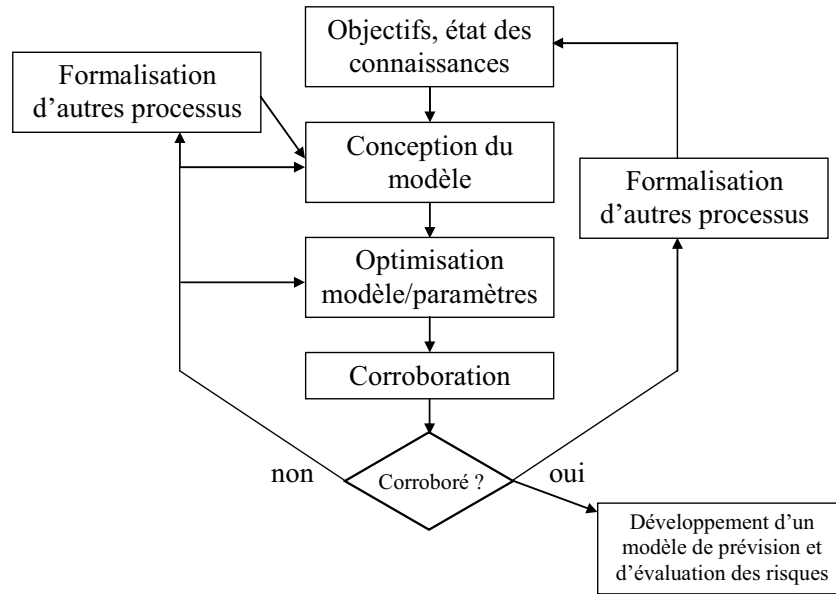
ou dosage du Cd total du sol (voir la synthèse de Tudoreanu et Phillips, 2004b). La concentration de Cd dans la plante a pu également être décrite par l'équation de Mitscherlich, de la forme  $y = a(1 - e^{-bx}) + c$ , où  $x$  est la quantité de Cd dans le sol,  $a$ ,  $b$ , et  $c$  des paramètres (Logan *et al.*, 1997). Tudoreanu et Phillips (2004a) observent que l'estimation du prélèvement de Cd, par le maïs et le ray-grass, est approchée grâce à une relation entre le produit de la concentration de Cd dans le sol par le pH du sol.

Dans ce qui va suivre, nous ferons le point uniquement sur les modèles mécanistes de transferts d'éléments à l'échelle sol-plante.

### 5.1. La démarche de modélisation

Notre démarche de modélisation consiste à mobiliser les connaissances dont on dispose (relations fonctionnelles, informations) pour atteindre les objectifs fixés. Dans notre cas il s'agit de prédire le prélèvement d'un élément par une plante isolée. Cette démarche n'est pas linéaire, mais impose de faire de multiples allers-retours (Figure 1-2), notamment lorsque le modèle n'est pas approprié. Nous avons défini les étapes suivantes :

- Définition des objectifs précis du modèle et bilan des connaissances des phénomènes.
- Conception et formalisation. C'est à ce niveau que le modèle est élaboré dans le détail, en fonction de l'objectif visé et des informations potentiellement accessibles. Il s'agit de traduire sous une forme mathématique (équations différentielles par exemple) le modèle conceptuel. Le modèle peut être amené à intégrer de nouveaux processus. Cette étape est en interaction avec les autres phases (Figure 1-2).
- La phase suivante est la résolution numérique des équations et la programmation du modèle en langage informatique. Il faudra aussi vérifier que le modèle conceptuel a été traduit correctement sous forme mathématique et que le code informatique est correct. Se posent à ce niveau les problèmes de vitesse d'exécution du programme, les problèmes d'algorithmiques, et les problèmes de discrétisation dans les résolutions numériques. Après estimation des paramètres d'entrée du modèle, le modèle pourra être utilisé.
- Optimisation des paramètres. Il peut s'agir d'optimiser le choix des données à recueillir ou bien de définir de quelles données il faudrait disposer pour répondre à un objectif, ou de revoir leur mesure si la simulation par le modèle est incorrecte.
- Corroboration, et délimitation d'un domaine de validité du modèle.
- Si le modèle est validé, il peut éventuellement être simplifié et utilisé pour la prévision de culture et l'évaluation des risques par exemple.



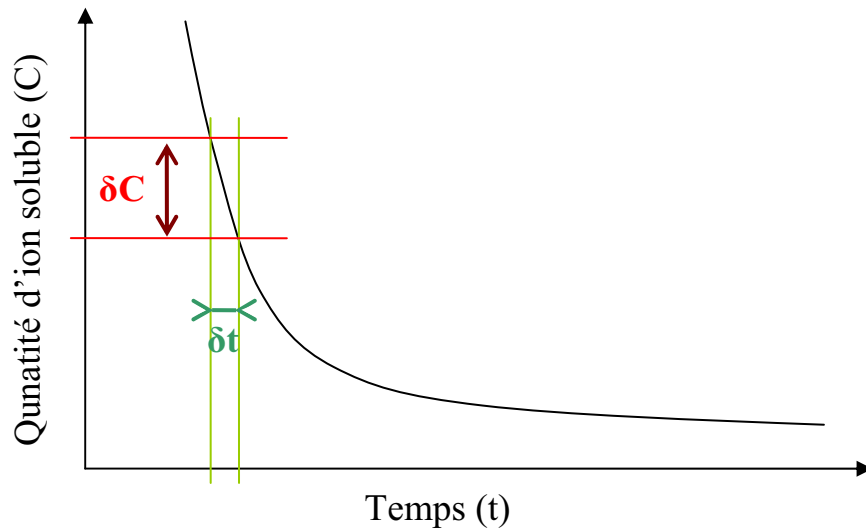
**Figure 1-2. Organigramme de la démarche de modélisation.**

## 5.2. Au commencement : l'équation de continuité

Le point de départ des modèles mécanistes de transport d'un soluté est de considérer le mouvement du soluté et son changement de masse dans un petit volume selon une distance  $\delta x$  et selon un court laps de temps  $\delta t$  (Figure 1-3). Cette description constitue l'équation de continuité (Eq 1.1),

$$\text{Eq 1.1 : } \left( \frac{\partial C}{\partial t} \right)_x = \left( -\frac{\partial F}{\partial x} \right)_t,$$

où  $F$  est le flux de soluté et  $C$ , la quantité d'ion soluble par unité de volume de sol.



**Figure 1-3. Evolution de la concentration dans le temps pour un volume donné permettant d'écrire l'équation de continuité.**

La combinaison de l'équation de continuité avec les flux de diffusion (1<sup>ère</sup> loi de Fick) et de convection fournit la relation suivante :

$$\text{Eq 1.2 : } \left( \frac{\partial C}{\partial t} \right) = \frac{\partial}{\partial x} \left( D \times \frac{\partial C}{\partial x} \right) - \frac{\partial (v \cdot C_L)}{\partial x},$$

où  $D$  est le coefficient de diffusion,  $C_L$ , la concentration du soluté dans la solution du sol,  $v$ , le flux d'eau vers la plante.

### 5.3. Fondements des principaux modèles mécanistes de prélèvement

Les plantes acquièrent l'énergie et les matières premières pour la synthèse des constituants de leurs tissus dans l'air et le sol. Comme nous l'avons vu précédemment, celui-ci conditionne la nutrition minérale de la plante à travers un ensemble de processus complexes. La modélisation du prélèvement d'un élément du sol par une plante est basée sur la description mathématique du transfert réactif de l'élément jusqu'à la surface des racines et son absorption par celles-ci.

#### 5.3.1. Processus de transport

Cette conceptualisation de la nutrition minérale des plantes comme la réunion de deux phénomènes complexes (disponibilité des éléments dans le sol et sa solution, et capacité de la plante à absorber ces éléments) date du XIX<sup>ème</sup> siècle. Plus tard on considèrera la mobilité comme la base de la disponibilité des éléments. Les connaissances sur les transferts sol-plante se sont ensuite approfondies et les premiers modèles complexes ont vu le jour (voir la synthèse de Tinker et Nye, 2000). Les modèles développés pour décrire les transferts de solutés dans la rhizosphère sont de types mécanistes et/ou déterministes. Les résultats fournis

peuvent être la quantité d'éléments prélevés, ou l'estimation des flux de carbone (en relation avec l'exsudation et les populations microbiennes).

Lorsque le système racinaire se développe dans le sol, il permet à la plante d'avoir accès à une large proportion de nutriments, qui, en contact de la surface de la racine, peuvent être absorbés. Ce processus est nommé l'interception racinaire (Oliver et Barber, 1966). Il reste difficile à évaluer et à distinguer du processus de transport, c'est pourquoi il est souvent négligé (Nye et Tinker, 1977). Les mécanismes considérés pour le transport des ions sont la diffusion et le flux de masse (Barber, 1962). Le flux de masse est le mouvement de convection d'ions en solution vers les racines sous l'effet des mouvements d'eau dus à la transpiration foliaire. La diffusion est le résultat d'une agitation thermique provoquant un déplacement grâce à un gradient de l'élément du compartiment le plus concentré vers le moins concentré. Le flux total d'élément vers la racine,  $F_T$  est la somme des deux flux précédents, diffusion ( $F_D$ ) et convection ( $F_M$ ).

$$\text{Eq 1.3 : } F_T = F_M + F_D$$

La diffusion est considérée comme le processus dominant pour décrire le flux des ions peu concentrés ayant de fortes interactions avec le sol, expliquant en moyenne 95 % du transport (Jungk et Claassen, 1997). Toutefois il en est autrement pour le calcium et dans une plus faible mesure le magnésium qui sont tous deux présent en fortes quantités dans la solution du sol et ont tendance à s'accumuler à la surface de la racine en raison du flux de masse.

### 5.3.2. Offre du sol

Le pouvoir tampon définit la répartition des éléments entre la phase solide et la solution du sol. Il est généralement décrit par une constante, bien que certains modèles le définissent en fonction de la concentration en solution sous forme d'une isotherme. Le pouvoir tampon est alors recalculé au fur et à mesure que la concentration évolue dans le voisinage racinaire (Syring et Claassen, 1995 ; Kirk, 1999). A l'inverse de modèle standard de calcul des équilibres chimiques comme MINEQL, MINTEQA2 ou PHREEQC, le modèle ORCHESTRA (Meeussen, 2003) fourni des équations qui ne sont pas intégrées dans un code informatique. Ce module pourrait ainsi être couplé aux modèles de transport de soluté et les modèles de prélèvement.

### 5.3.3. Description du système racinaire

Le système racinaire est souvent assimilé à un cylindre de rayon unique dont la croissance suit une fonction linéaire ou exponentielle au cours de la culture. Si certains modèles permettent parfois de décrire convenablement le développement racinaire (Drouet et Pagès, 2003 ; Pagès *et al.*, 2004), peu de modèles de prélèvement ont mis à profit cette approche. Le modèle de Dunbabin *et al.* (2002) est toutefois basé sur un modèle de croissance racinaire 3D (ROOTMAP).

La compétition racinaire pour l'absorption est généralement la condition limite externe du modèle. Le système racinaire est décrit de façon simplifiée en considérant des racines parallèles dans tout le volume de sol, celles-ci exploitant un cylindre de sol qui les entourent. La demi-distance entre deux racines voisines permet alors d'appliquer une condition limite de

flux nul à ce niveau. Le modèle de Reginato *et al.* (2000) a proposé de calculer une demi-distance entre les racines au cours du temps et de la croissance du système racinaire dans le volume de terre.

Les modèles qui ne prennent pas en compte les poils absorbants peuvent sous-estimer les prélèvements mesurés (Barber, 1995). Ainsi, des approches ont été développées pour intégrer les poils absorbants. Dans le modèle de Kirk (1999), ils constituent une extension du système racinaire et ont les mêmes propriétés que les racines. Syring et Claassen (1995) ont ajouté un module dans le modèle NST 3.0 permettant de décrire la surface d'absorption des poils absorbants et leurs propres paramètres d'absorption. Enfin Geelhoed *et al.* (1997) ont décrit les poils absorbants selon un modèle en trois dimensions.

#### 5.3.4. Absorption de l'élément

Dans la plupart des modèles le prélèvement de l'ion est défini par rapport à sa concentration en solution par une fonction de Michaelis-Menten (Barber et Cushman, 1981). Le prélèvement de l'ion est généralement la condition limite à l'interface racine-solution. de Willigen et van Noordwijk (1994b) et Geelhoed *et al.* (1997) ont utilisé une approche différente en considérant que l'apport de l'élément à la racine (et non pas la demande de la plante) pilotait le taux de prélèvement. Cette condition limite est utilisée lorsque l'élément est en faible concentration dans la solution et que le prélèvement est limité par le transport dans le sol. Dans ce cas, la concentration à la surface racinaire est toujours nulle car la racine absorbe la totalité de l'élément transporté à sa surface. Lorsque l'apport d'éléments à la racine est égal ou supérieur à la demande de la plante, le flux d'élément entrant devient constant (de Willigen et van Noordwijk, 1994a).

#### 5.3.5. Processus rhizosphériques

Le rôle des exsudats racinaires dans la mobilisation ou l'absorption des éléments est difficile à caractériser. Il est donc complexe d'intégrer ces processus dans des modèles mécanistes. Certains auteurs ont implémenté les effets de l'exsudation d'acides organiques simples comme le citrate (Geelhoed *et al.*, 1999 ; Hoffland, 1992 ; Kirk, 1999 ; Kirk *et al.*, 1999). Ces problèmes ont été traités soit en considérant la spéciation chimique en solution (en particulier pour l'élément prélevé et les exsudats), soit en utilisant la théorie de la diffusion de deux solutés en interactions (appliqué dans le modèle de Kirk, 1999). Ces approches simplificatrices sont toutefois inadéquates ou pas suffisantes pour décrire la mobilisation des éléments (Claassen *et al.*, 2005).

Les microorganismes de la rhizosphère peuvent accroître le prélèvement racinaire d'ions en particulier de métaux en augmentant leur biodisponibilité ou leur solubilité (Salt *et al.*, 1995a). De même il est important de considérer l'effet des mycorhizes dans les modèles mécanistes (Barber, 1995). Comme pour les exsudats racinaires, ces processus restent encore mal caractérisés et difficilement formalisables dans les modèles mécanistes.

### 5.4. Le modèle de Barber-Cushman

Le modèle mécaniste de Barber-Cushman ou UPTAKE (Barber et Cushman, 1981) a surtout été validé pour des éléments comme N, P ou K (Barber et Cushman, 1981, Barber,

1995 p119) et pour des oligoéléments essentiels aux plantes (Adhikari et Rattan, 2000 ; Sadana et Claassen, 2000). Il n'a pas fourni de prédiction satisfaisante pour le prélèvement de Cd par les plantes (Janot, 1990 ; Mullins *et al.*, 1986 ; Wu, 1989). Ceci indiquerait l'existence de processus spécifiques, dans les transferts de Cd vers les plantes, non formalisés par le modèle. Une mauvaise estimation des paramètres d'entrée peut également être en cause. Le modèle a donc été choisi pour tester ces hypothèses.

Le modèle est considéré ici comme un outil de recherche conduisant à formaliser des hypothèses avant de les confronter à l'expérience. Il permet de hiérarchiser les différents processus et d'indiquer aux chercheurs les voies prioritaires d'investigation. Il permet également de dégager les facteurs sur lesquels les praticiens de l'évaluation du risque ou de la phytoremédiation devraient tenter d'agir en premier lieu. A terme, il est susceptible d'être le précurseur de modèles plus ou moins simplifiés d'aide à la décision et d'évaluation des risques.

## 6. Conclusion partielle

Depuis une quarantaine d'années, le nombre d'études portant sur le cadmium n'a cessé d'augmenter. En effet, suite à des incidents, les premières études ont mis en avant la dangerosité de l'élément pour la santé humaine. Si le Cd est émis de façon naturelle dans l'environnement, à travers par exemple les éruptions volcaniques ou bien s'il est apporté au sol par le substratum géologique (fond géochimique), il reste que l'essentiel de la contamination de l'environnement et en particulier des sols a une origine liée à l'activité de l'Homme. De nombreuses études montrent que les teneurs dans les sols dépassent les teneurs maximales fixées et tendent à augmenter continuellement. Les voies d'exposition pour l'homme se font majoritairement par les plantes ou indirectement par les animaux.

Il apparaît alors nécessaire de prévoir et de comprendre les mécanismes de transfert des métaux du sol vers les végétaux pour réduire les risques. L'approche de modélisation est une voie profitable pour mener ces investigations. Les modèles les plus simples pour décrire le prélèvement sont les méthodes de régressions linéaires. Les modèles de régressions multiples, qui utilisent uniquement des variables du sol, ne permettent pas de prédire efficacement, dans des situations diverses, l'accumulation de Cd dans les plantes. Il serait intéressant de tester dans les modèles de régression multiple les paramètres environnementaux influençant le prélèvement de Cd. Ces données pourraient être formalisées dans des modèles mécanistes. Les modèles mécanistes requièrent la mesure de paramètres spécifiques parfois laborieux à mesurer. Les difficultés dans les modèles de croissance de végétaux ou les modèles de prélèvement sont liées à la plante, en particulier à la complexité des processus dans le végétal. La complexité des processus de la rhizosphère est difficile à prédire.

Peu de modèles ont été adaptés au cadmium. Le modèle le plus classique conçu par Claassen et Barber (1976) et développé par Cushman (1979) et Barber et Cushman (1981) a été utilisé par Mullins *et al.* (1986) pour évaluer le prélèvement de Cd et de Zn par le maïs. Peu d'éléments ont été fournis par les auteurs sur les raisons de la divergence entre la simulation et la réalité. Il se peut que l'inadéquation du modèle à simuler le prélèvement soit la conséquence d'une mauvaise estimation des paramètres d'entrée du modèle. La forte interaction du Cd avec la phase solide du sol est par ailleurs difficile à simuler et peut être ainsi mise en cause, de même que la fonction d'absorption racinaire de l'élément. Enfin, il n'est pas exclu que des mécanismes, non considérés dans le formalisme, aient une importance

notable dans le prélèvement de métaux par la plante. L'ensemble de ces préoccupations ont conduit à l'élaboration de ces travaux.





## Chapitre 2. Prélèvement de Cd par le maïs et le tabouret calaminaire : Simulation à l'aide du modèle de Barber-Cushman

### 1. Introduction

Le cadmium est un élément toxique très biodisponible dans les sols. Il se retrouve dans les plantes à des concentrations parfois proches ou supérieures aux limites fixées par la législation (Boisset, 1996 ; Byrne, 2001 ; Mench *et al.*, 2001). Il est donc nécessaire d'étudier les mécanismes de son transfert sol-plante afin de limiter la contamination de la chaîne alimentaire. L'utilisation d'un modèle peut être un outil efficace pour étudier ces mécanismes de transfert (Kirk, 2002 ; Nye, 1992). L'approche mécaniste proposée par Barber (Barber, 1995) a été appliquée pour décrire le prélèvement de divers éléments par les plantes. Dans plusieurs études le modèle a simulé correctement le prélèvement par la plante de macro-éléments comme N, P, K (Barber et Cushman, 1981 ; Claassen *et al.*, 1986 ; Silberbush et Barber, 1983a) ou de micro-éléments comme Zn, Mn (Adhikari et Rattan, 2000 ; Barber et Claassen, 1975 ; Sadana et Claassen, 2000). Toutefois le modèle a rarement été utilisé pour simuler le prélèvement par la plante d'éléments en trace non essentiels tels que le Cd, le Cr ou le Pb. Ces éléments sont considérés comme non utiles à la physiologie et au développement des espèces cultivées, ce qui laisse penser que les mécanismes qui gouvernent leur prélèvement soient différents de ceux formalisés par le modèle. Ceci peut expliquer pourquoi l'utilisation du modèle pour les rares études appliquées au cadmium n'a pas donné de résultats satisfaisants. Ainsi dans la plupart des cas le modèle a surestimé le prélèvement de 40 % par le maïs (Mullins *et al.*, 1986), de près de 100 % par le ray grass (Wu, 1989), alors qu'il sous-estime le prélèvement de la laitue de près de 75 % et ne montre aucune corrélation avec le prélèvement du lupin blanc suite à un apport de boue (Janot, 1990). Les raisons avancées pour ces discordances sont une mauvaise estimation des paramètres cinétiques de l'absorption (en particulier l'absence de l'efflux) et également la non prise en compte par le modèle de la toxicité engendrée sur la plante du Cd et des autres éléments du milieu.

Afin de savoir pourquoi le modèle semble mal adapté au cas du Cd, nous avons comparé le prélèvement du Cd simulé au prélèvement mesuré dans deux plantes aux demandes très contrastées en Cd : une variété cultivée de maïs (*Zea mays* L.) et le tabouret calaminaire (*Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl), un hyperaccumulateur de Zn et Cd. Le choix de ces deux espèces est un moyen de tester l'hypothèse selon laquelle leurs différents prélèvements de Cd sont gouvernés par les mêmes mécanismes. L'objectif de ce travail est donc de tester à nouveau le modèle UPTAKE en vue de chercher les raisons des divergences constatées dans le passé entre les prélèvements observés et calculés. Nous nous sommes efforcés à minimiser les incertitudes liées à l'expérimentation et aux méthodes d'évaluation des paramètres d'entrée. Ainsi le modèle a été testé dans des conditions de sol et d'environnement les plus homogènes possibles dans l'espace et le temps.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Sol utilisé

Le sol utilisé pour la culture en pot correspond à l'horizon de surface  $A_p$  d'un sol brun agricole cultivé (Vannecourt, 57). Ce sol présente un pH légèrement acide, une texture limoneuse et une teneur en matière organique habituelle pour un horizon labouré (Tableau 2-1). Après séchage et homogénéisation le sol a été tamisé à 5 mm et contaminé avec une solution de sulfate de cadmium ( $3CdSO_4, 8H_2O$ ) afin d'obtenir 7 niveaux de contamination ( $Cd_C$ ) : 0 – 0,5 – 1 – 2 – 3 – 5 et 7 mg Cd par kg de sol sec (Tableau 2-2). Les sols ont été analysés pour vérifier l'homogénéité de la contamination ainsi que la valeur de Cd total ( $Cd_T$ ). Les quatre premiers niveaux représentent des cas de contamination diffuse (sols cultivés), alors que les suivants correspondent à des contaminations importantes rencontrées sur des sites urbains ou industriels. Le sol a également été fertilisé à raison de 110 kg N  $ha^{-1}$ , 35 kg P  $ha^{-1}$ , 187 kg K  $ha^{-1}$ . Les sols ont été maintenus à 80 % de la capacité au champ pendant un mois avant la culture à température ambiante. En fin d'expérience sur le maïs, les terres ont été récupérées pour être séchées à l'air pendant une semaine, avant d'être tamisées à 2 mm et homogénéisées manuellement. La terre a été maintenue à 80 % de la capacité au champ pendant trois semaines, en attendant la culture du tabouret calaminaire.

**Tableau 2-1. Principales caractéristiques du sol. Les analyses ont été effectuées au laboratoire d'analyse d'Arras sauf (1) : rapport de la masse de terre sèche sur le volume occupé dans le pot, et (2) : mesure des paramètres d'humidité grâce à la chambre à pression ; à 0,1 bar pour la capacité de rétention et 15 bars pour le point de flétrissement.**

Humidité à 105 °C		21	$g\ kg^{-1}$	CEC Metson		11	$cmol^+ kg^{-1}$
Granulométrie sans décarbonatation	Argile	204		Echangeable à l'acétate d'ammonium	Ca	8,8	
	Limon	454	$g\ kg^{-1}$		Na	0,029	$cmol^+ kg^{-1}$
	Sable	342			Mg	3,41	
Densité apparente (1)		1,17	$g\ cm^{-3}$		K	0,297	
Capacité au champ (2)		309,3	$g\ kg^{-1}$		MO	26,50	
Point de flétrissement (2)		8,89	$g\ kg^{-1}$	Carbone et Azote (NF 10694 et 13878)	C organique	15,41	$g\ kg^{-1}$
pH eau		6,3			N organique	1,73	
Calcaire total ( $CaCO_3$ )		<1	$g\ kg^{-1}$	C/N		8,91	
Phosphore méthode Olsen ( $P_2O_5$ )		0,024	$g\ kg^{-1}$	Zn total (HF)		51	$mg\ kg^{-1}$
				Cd total (HF)		0,13	$mg\ kg^{-1}$

**Tableau 2-2. Niveaux de contamination des sols pour les différents traitements, T est le témoin c'est-à-dire la terre qui n'a pas reçu de Cd.**

Traitement	T	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Cd ajouté, $Cd_C$ (mg kg <sup>-1</sup> de terre)	0	0,5	1	2	3	5	7
Cd total avant culture, $Cd_T$ (mg kg <sup>-1</sup> de terre)	0,15	0,66	1,15	2,34	3,49	5,42	7,10

## 2.2. Culture en pot

Le maïs a été choisi pour son importance dans l'agriculture, et parce que cette plante fait l'objet de nombreuses recherches, notamment de modélisations de croissance végétative et de développement de culture. La variété choisie (MB862) est un hybride fourrager produit par l'INRA, à l'Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes d'Estrée-Mons. Les sols contaminés ont été cultivés avec le maïs puis avec le tabouret calaminaire dont les graines ont été récoltées à Viviez dans le sud de la France (Reeves *et al.*, 2001). Les graines de maïs ont germé au préalable sur du papier filtre imbibé d'eau distillée, à 25 °C dans l'obscurité pendant trois jours. Trois plants ont ensuite été transférés sur des pots de 3 kg de terre. Les graines du tabouret sont semées directement en terre à raison de six graines par pot de 2 kg. Le plant le plus précoce et le plus sain est gardé parmi les six. Les pots sont disposés en randomisation totale sous une enceinte en bâche de serre pour limiter les flux d'air à leur surface et favoriser ainsi l'homogénéité des conditions d'évapotranspiration.

Des cultures de 12 et 24 jours ont été menées pour le maïs à raison de quatre répétitions par traitement, alors que le tabouret a poussé durant 12 semaines à raison de six répétitions. Les pots ont été placés en chambre de culture avec photopériode de 16 h, humidité relative à 70 %, et intensité lumineuse de 350  $\mu\text{mol}$  de photons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . La température nocturne était de 18 °C et de 25 °C ou 22 °C le jour pour le maïs et le tabouret respectivement. L'humidité du sol a été maintenue à 80 % et 70 % de la capacité au champ respectivement pour le maïs et le tabouret. Afin de mesurer l'évaporation, neuf pots nus ont été placés aléatoirement parmi les pots cultivés.

La récolte des plantes a consisté à récupérer parties aériennes et parties racinaires séparément. Celles-ci ont été pesées avant (matière fraîche) et après séchage (matière sèche) à 70 °C pendant 48 h. Toutes les racines ont été séparées du sol à la pince fine et ont été soigneusement nettoyées à l'eau et grâce à l'ajout si besoin de NaCl pour disperser le sol quand cela était nécessaire. Elles ont ensuite été plongées dans un bain à ultrasons pour supprimer les particules de sol adhérentes avant la minéralisation (Murakami *et al.*, 1999).

## 2.3. Dosage du Cd total des plantes, du sol et des solutions

Toutes les plantes séchées ont été broyées dans un broyeur en agate (Retsch, Allemagne) à une granulométrie inférieure à 250  $\mu\text{m}$ . Les analyses de maïs ont été réalisées par l'USRAVE de l'INRA (Bordeaux). Un gramme de matériel, préalablement broyé, a été pesé dans une capsule en porcelaine, séché à 103 °C pendant 24 heures (mesure de l'humidité résiduelle) puis calciné 5 heures à 480 °C. Les cendres obtenues ont été attaquées par 5 ml d'acide nitrique concentré sur plaque chauffante. L'acide a été ensuite évaporé et le résidu

repris par 10 ml d'acide nitrique et filtré dans une fiole de 100 ml. Les dosages ont été effectués sur cet extrait par ICP axial avec nébulisation ultrasonique. Pour chaque série d'échantillons, 3 blancs ont été incorporés ainsi que 3 échantillons de référence pour contrôler la qualité de l'ensemble des opérations.

Les plants de tabouret ont été minéralisées (prise d'essai de 0,5 g dans 8 mL HNO<sub>3</sub> et 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en réacteurs fermés en Téflon® au four à micro-ondes (Mars 5, CEM Corporation, Matthews, Caroline du Nord, USA). Puis, le minéralisat refroidi a été filtré sur du papier sans cendre et ajusté à 25 ml avec HNO<sub>3</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Schwartz, 1997). Des échantillons de contrôle interne ainsi que matériaux de référence certifiés (MRC 281 de BCR) ont par ailleurs été utilisés pour vérifier que la dissolution des échantillons était complète.

Les terres ont été incinérées à 450 °C et attaquées par HF et HClO<sub>4</sub> (ISO, 2001). Le Cd des solutions obtenues a été analysé par spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite (ETAAS, Spectra AA Zeeman 220, avec correction Zeeman, Varian, Inc, Palo Alto, California, USA) ou par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-OES, Liberty RL, Varian, Inc, Palo Alto, California, USA) selon les niveaux de concentration.

## 2.4. Détermination des variables d'entrée du modèle

Le modèle utilisé est celui développé par Barber et Cushman (modèle UPTAKE, Oates et Barber, 1984). Les variables d'entrée sont les suivantes :  $C_{li}$  : concentration initiale de Cd dans la solution du sol,  $\mu\text{mol cm}^{-3}$  ;  $b$  : pouvoir tampon (ou facteur capacité), sans unité ;  $D_e$  : coefficient de diffusion effective,  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$  ;  $v_0$  : flux d'eau dans la racine,  $\text{cm}^3 \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  ;  $L_0$  : longueur racinaire initiale, cm ;  $r_0$  : rayon racinaire moyen, cm ;  $r_l$  : demi-distance entre les racines, cm ;  $k$  : taux de croissance racinaire,  $\text{s}^{-1}$  ;  $I_{max}$  : influx net maximum ( $I$ ) de l'ion dans la racine,  $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  ;  $C_{min}$  : concentration de l'ion en solution quand  $I_{max} = 0$ ,  $\mu\text{mol cm}^{-3}$  ;  $K_m$  : concentration de l'ion en solution quand  $I = 0,5 \cdot I_{max}$ . Une analyse de sensibilité de ces différents paramètres d'entrée a été réalisée (Claassen et Barber, 1976 ; Silberbush et Barber, 1983b) afin de tester individuellement leur influence dans le calcul du prélèvement par le modèle. L'effet des mycorhizes n'étant pas intégré dans le modèle, nous avons estimé le niveau d'infection par les mycorhizes pour les deux plantes (Annexe I). Les résultats montrent que le tabouret calaminaire n'était pas mycorhizé et que l'infection peu développée n'a probablement pas eu d'effet sur le prélèvement de Cd par le maïs.

Pour chacune des expérimentations suivantes le sol provient d'un échantillon de terre homogène, sec et tamisé, identique à la terre de culture.

### 2.4.1. Mesure de $C_{li}$

La concentration initiale de Cd en solution a été mesurée par la méthode proposée par Adams (1974) et choisie également par Adhikari et Rattan (2000) ou Barber (1995). Elle consiste à récupérer la solution à la base d'une colonne de sol saturée en eau suite à un ajout d'eau distillée à sa surface. Différents pots contenant la terre de chaque niveau de contamination avant culture du maïs et avant culture du tabouret ont été saturés avec de l'eau déionisée. Grâce à l'utilisation d'une solution de bromure ajoutée en surface, puis au dosage du traceur dans des fractions de solution récoltées, une évaluation de la quantité de liquide apporté sans risque de dilution de la solution du sol récoltée a été faite. Environ 50 ml de solution par traitement ont été récupérés, filtrés sur filtre en acétate de cellulose (0,02  $\mu\text{m}$ ),

puis acidifiés (1 % HNO<sub>3</sub>), avant d'être analysés par ETAAS. Cette expérience a été mise en œuvre pour l'ensemble des traitements avec 3 semaines d'équilibre sol-eau pendant l'expérimentation avec le maïs et pour trois temps d'équilibre avant récolte (48 h, 1 semaine, 3 semaines) pour le tabouret.

Parallèlement, la solution du sol a été récoltée par centrifugation de la terre maintenue à sa capacité au champ pendant 48 h ou trois semaines. La centrifugation a été réalisée dans des dispositifs autovials Whatman (flacon de 12 ml en polypropylène, avec filtre en Nylon 0,45 µm intégré). Chaque niveau de contamination a fait l'objet de quatre répétitions. Il est à noter que les solutions obtenues pour 3 semaines d'équilibre ont été filtrées une seconde fois sur papier en acétate de cellulose à 0,2 µm (Sartorius). Chaque solution extraite sous des forces de 3700 g (5000 rpm) pendant dix minutes a été acidifiée puis analysée. Les centrifugations ont été effectuées uniquement sur les terres avant culture du tabouret.

#### 2.4.2. Mesure de $b$

Le pouvoir tampon est défini comme le rapport de la concentration du Cd labile du sol ( $Q_{Cd}$ , mg L<sup>-1</sup> de terre) (incluant celui en solution) par la concentration de Cd en solution ( $C_{liv}$ , mg L<sup>-1</sup> de solution), soit d'après Barber (1995)<sup>3</sup> :

$$\text{Eq 2.1 : } b = \frac{Q_{Cd}}{C_{liv}}$$

Le pouvoir tampon a été calculé grâce à la valeur  $Q_{Cd}$  estimée à partir du Cd extrait au CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> (Lebourg *et al.*, 1998 ; Novozamsky *et al.*, 1993). Pour chaque traitement des suspensions dans un rapport 1 : 10 (masse de sol : masse de solution) ont été réalisées en 4 répétitions. Les extraits acidifiés (1 % HNO<sub>3</sub>) ont été récoltés après 2 h d'agitation à 20°C et filtration à 0,02 µm, puis analysées par ETAAS.

#### 2.4.3. Mesure des paramètres du transport

##### 2.4.3.1. Vitesse moyenne de transfert de l'eau, $v_0$

Deux modèles évaluent la quantité d'eau qui traverse les racines par unité de surface en un temps donné, selon l'allure de croissance du système racinaire. Si la croissance est linéaire alors :

$$\text{Eq 2.2 : } v_0 = \frac{U}{2\pi r_0 \times (L_2 - L_1)(t_2 - t_1)}$$

---

<sup>3</sup> Dans cet ouvrage, page 38, le pouvoir tampon  $y$  est défini par le rapport entre la concentration d'ions labiles (incluant ceux en solution) par unité de volume de sol et la concentration d'ions en solution par unité de volume de sol. Nous n'avons pas repris ces unités qui nous semblaient incohérentes avec celles des autres variables de l'équation.

Si la croissance est exponentielle, comme c'est le cas pour le maïs et le tabouret, alors :

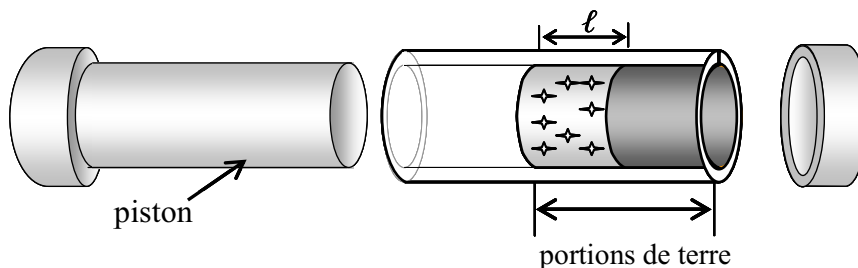
$$\text{Eq 2.3 : } v_0 = \frac{U \times (\ln(L_2) - \ln(L_1))}{2\pi r_0 \times (L_2 - L_1)(t_2 - t_1)}$$

La quantité totale d'eau  $U$  (cm<sup>3</sup>) utilisée par la plante est calculée par différence entre l'eau évapotranspirée et l'eau évaporée entre les temps  $t_1$  et  $t_2$  (de début et de fin de culture, respectivement) pour des longueurs racinaires totales  $L_1$  et  $L_2$  correspondant à ces temps. Le paramètre  $r_0$  est le rayon moyen des racines. L'eau évapotranspirée correspond à la quantité totale d'eau ajouté dans les pots cultivés (par pesée) pour maintenir la capacité au champ. La quantité évaporée correspond quant à elle à la quantité ajoutée dans les pots non plantés. Pour tenir compte au mieux de la variabilité spatiale de l'évaporation au sein du phytotron, celle-ci a été cartographiée sur chacun des pots avant plantation durant les trois semaines préalables de mise à l'équilibre des sols. Ainsi des zones d'évaporation plus ou moins forte ont pu être définies et associées à un ou plusieurs pots nus durant la culture. Par la suite l'évaporation mesurée sur les pots nus a été appliquée aux pots cultivés disposés dans la même zone.

#### 2.4.3.2. Coefficient de diffusion effective, $D_e$

Il est estimé par la mise en contact de deux portions de même masse (12,7 g) de terres marquée et non marquée (Figure 2-1), durant trois semaines (Schofield et Graham-Bryce, 1960). La terre marquée est humidifiée avec une solution de  $^{109}\text{Cd}^{2+}$  à raison de 100 ml kg<sup>-1</sup> de terre, amenant la radioactivité à 1200 Bq dans le bloc marqué. L'humidité des sols est fixée à 70 % de la capacité au champ par ajout d'eau osmosée. Après homogénéisation, les deux échantillons sont laissés à la température ambiante pendant une semaine. La terre est comprimée à la même densité apparente (1,17) que celle des pots de culture à l'aide d'un piston ajusté à la cellule de diffusion (Figure 2-1) en Altuglas<sup>TM</sup>.

Les cellules de diffusion ont été placées dans les conditions du phytotron identiques à celles des cultures. Les colonnes de terre ont ensuite été coupées en tranches de 1 mm, à l'aide d'une lame en acier inoxydable et du piston assurant la poussée de la colonne de terre. Chaque tranche a été pesée afin de tenir compte des variations d'épaisseur d'une tranche à l'autre, puis introduite dans un flacon de comptage.



**Figure 2-1. Cellule de diffusion en altuglas comprenant les portions de terre marquée et non marquée. Le dispositif est fermé hermétiquement avec des bouchons en PVC et un joint de silicone durant les trois semaines de contact.**

La diffusion a ensuite été évaluée par mesure de la radioactivité au compteur gamma (compteur Packard “autogamma” Cobra 5003, Meriden, Connecticut, USA) dans les deux portions de terre. Cette expérience a été réalisée pour les traitements T, D4 et D6 à raison de trois répétitions, et les valeurs ont été interpolées pour les autres traitements.

Une relation déduite de la loi de Fick, entre le coefficient de diffusion  $D_e$ , la longueur  $\ell$  de la section contenant une quantité  $Q_0$  (Bq) de l’isotope radioactif de l’ion au début de l’expérience ( $t = 0$ ), la quantité  $Q_t$  (Bq) de  $^{109}\text{Cd}$  qui a diffusé vers la section non marquée en un temps  $t$ , et la quantité  $Q_\infty$  de  $^{109}\text{Cd}$  qui diffuserait vers la section non marquée en un temps infini ( $Q_\infty = Q_0 / 2$ ), donne :

$$\text{Eq 2.4 : } \quad \frac{Q_t}{Q_\infty} = \frac{2}{\ell} \times \sqrt{\frac{D_e \cdot t}{\pi}} \quad \text{pour } \frac{Q_t}{Q_\infty} < 0,5 \text{ soit}$$

$$\text{Eq 2.5 : } \quad D_e = \left( \frac{Q_t}{Q_\infty} \right)^2 \times \frac{\ell^2 \pi}{4t}$$

#### 2.4.4. Mesure des paramètres racinaires

##### 2.4.4.1. Longueurs racinaires initiale et finale, $L_0$ et $L$

Dans le cas du maïs,  $L_0$  a été mesurée avec une règle au moment du repiquage, les plantules ne présentant à ce stade qu’une racine primaire, dépourvue de toutes racines secondaires.  $L_0$  correspondait à la somme des longueurs de trois plantules.

Dans le cas du tabouret calaminaire, l’expérience a débutée dès la germination des graines installées en semis direct. De ce fait, une étude de germination et des stades précoces a été réalisée dans les mêmes conditions, afin d’évaluer le moment de l’émission de la racicule en fonction de la phénologie observable de la plante. La longueur initiale a donc été choisit comme égale à 1 mm puisque la valeur zéro ne peut être utilisée dans les équations des calculs de  $v_0$  et  $k$ . Une légère variation de ce paramètre a par ailleurs un impact négligeable sur les sorties du modèle.

La longueur totale du système racinaire,  $L$ , a été mesuré grâce au logiciel WinRhizo<sup>®</sup> (Arsenault *et al.*, 1995) pour le tabouret. La méthode des intersections (Tennant, 1975) a été utilisée pour le maïs.

##### 2.4.4.2. Taux de croissance du système racinaire, $k$

La croissance du système racinaire est considérée, en fonction de l’espèce, comme linéaire ou exponentielle. Selon le cas, on a respectivement les relations suivantes :

$$\text{Eq 2.6 : } \quad k = (L - L_0) / t \text{ ou}$$

$$\text{Eq 2.7 : } \quad k = \ln(L / L_0) / t,$$

où  $L_0$  et  $L$  sont les longueurs racinaires initiale et finale après un temps  $t$ . La cinétique de croissance du système racinaire du maïs est considérée comme exponentielle (Mullins et Sommers, 1986a ; Mullins *et al.*, 1986 ; Barber, 1995). Dans le cas du tabouret, nous avons utilisé des calques réalisés avec une périodicité de un à dix jours à partir des racines visibles dans des mini-rhizotrons (Schwartz, 1997). Les longueurs racinaires ont ensuite été mesurées depuis les calques grâce à la méthode de Tennant (1975). L'allure du développement des racines a ainsi été déterminée sur la même période de culture et sur le même sol agricole que dans notre expérimentation. Cette étude a porté sur six mini-rhizotrons composé de deux répétitions pour trois modalités : sol de Vannecourt, et deux sols de sites industriels pollués en Pb pour l'un et en Zn pour l'autre.

#### 2.4.4.3. Rayon moyen des racines, $r_0$

Il est calculé de la façon suivante pour le maïs :

$$\text{Eq 2.8 : } r_0 = \sqrt{\frac{M F}{\pi L}},$$

où  $MF$  est la matière fraîche des racines ayant une longueur  $L$ . Par hypothèse, on estime que la densité des racines fraîches est égale à  $1 \text{ g cm}^{-3}$  (Mullins et Sommers, 1986b). Le logiciel d'intégration de surface, utilisé dans le cas du tabouret, calcule directement cette valeur.

#### 2.4.4.4. Demi distance entre les racines, $r_1$

La demi distance entre les racines  $r_1$  a été déduite de  $L$  et du volume de sol. Elle est calculée à partir de la formule suivante (Mullins *et al.*, 1986) :

$$\text{Eq 2.9 : } r_1 = \frac{1}{\sqrt{\pi L_v}},$$

où  $L_v$  est la longueur de racine par unité de volume de terre. Par exemple pour le maïs, la masse de terre est de 3000 g par pot et la densité apparente a été estimée à  $1,17 \text{ g cm}^{-3}$ , on a donc  $L_v = L / (3000 / 1,17)$ .

#### 2.4.4.5. Paramètres cinétiques de l'absorption

Il s'agit des trois paramètres suivant :  $I_{max}$  ( $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), l'absorption maximale de cadmium par la plante quand la concentration en cadmium dans la solution,  $C_l$ , est élevée ;  $C_{min}$  ( $\mu\text{mol cm}^{-3}$ ), la concentration minimum de l'ion en solution en dessous de laquelle la plante ne prélève pas l'élément ;  $K_m$  ( $\mu\text{mol cm}^{-3}$ ), la constante de Michaelis-Menten, qui est égale à la concentration en solution lorsque l'influx net,  $I_n$ , est égal à  $I_{max} / 2$ . Ces trois paramètres ont été repris des travaux de Mullins et Sommers (1986a) pour le maïs et de Lombi *et al.* (2001) pour le tabouret calaminaire (Tableau 2-3).



**Tableau 2-3. Paramètres cinétiques de l'absorption racinaire utilisés pour la modélisation.**

Paramètres	$I_{max}$ ( $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{mol cm}^{-3}$ )	$C_{min}$ ( $\mu\text{mol cm}^{-3}$ )
<i>Zea mays</i>	$4 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-5}$ (12 jours) $1 \cdot 10^{-4}$ (22 jours)	0
<i>T. caerulea ganges</i>	$1,6 \cdot 10^{-7}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$	0

## 2.5. Analyse des données

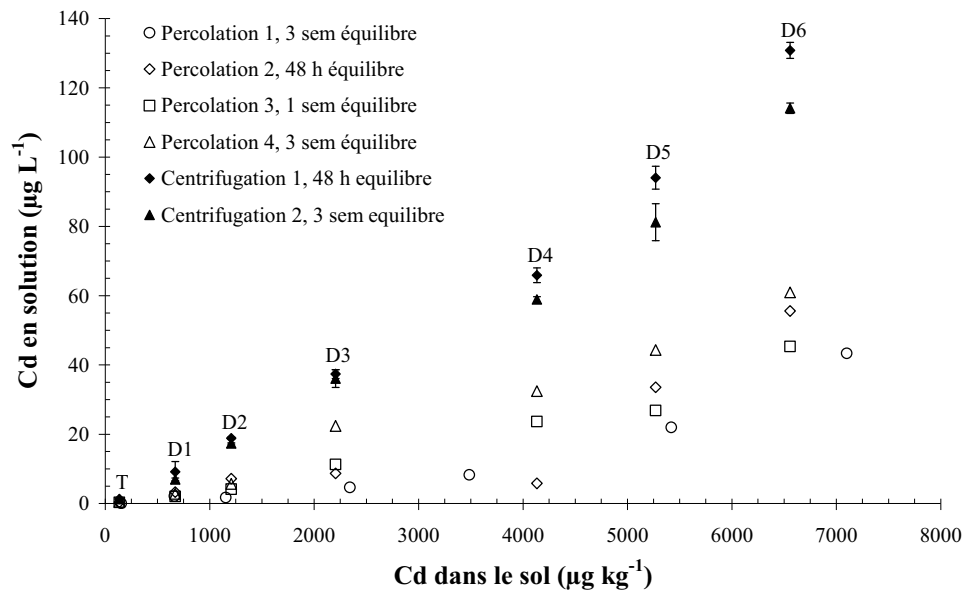
Les données ont été traitées statistiquement par des analyses de variances (ANOVA) et par comparaisons des moyennes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). Nous avons utilisé le logiciel Statbox<sup>®</sup> pour les calculs.

## 3. Résultats

### 3.1. Effets des traitements sur les paramètres du modèle

#### 3.1.1. Concentration initiale de la solution du sol

Les valeurs de  $C_{li}$  sont présentées dans la Figure 2-2. La percolation 1 a été réalisée sur les terres avant la culture du maïs, alors que toutes les autres modalités (percolations 2 à 4 et centrifugations) ont été mise en œuvre avec les terres après la culture du maïs et avant la culture du tabouret. Les valeurs de  $C_{li}$  augmentent de façon linéaire avec la contamination en Cd et sont multipliées d'un facteur 1,6 à 4,3 entre les estimations par déplacement d'eau et par centrifugation du sol. La concentration mesurée avant la culture de maïs est en moyenne 2,7 fois inférieure à celle mesurée sur les terres après la culture (Figure 2-2, percolations 1 et 4). La valeur de  $C_{li}$  de chaque traitement est étroitement corrélée au cadmium total des sols ( $r^2 = 0,76$  pour centrifugation 2 ;  $r^2 = 0,89$  pour centrifugation 1 et  $r^2 > 0,98$  pour toutes les autres mesures).



**Figure 2-2. Concentration de cadmium en solution en fonction des traitements (T à D6) pour deux méthodes d'évaluation, la percolation et la centrifugation. Une seule mesure a été effectuée pour la percolation 1 (figuré 'o'). sem : semaine.**

L'effet du temps de mise à l'équilibre semble moins important que celui de l'humidité ou de la méthode d'extraction de la solution. Nous avons utilisé les  $C_{li}$  obtenues après une mise à l'équilibre de trois semaines, qui correspond à la période de mise à l'équilibre des sols en vase de végétation avant la culture pour le maïs et le tabouret. Par ailleurs, nous avons retenu les valeurs produites par centrifugation, (voir 4.1.1) car les conditions d'humidité des terres semblent plus proches de celles utilisées pour les cultures.

Les valeurs de  $C_{li}$  considérées pour la modélisation seront donc celles de la centrifugation 2 (Figure 2-2) pour les cultures du maïs et du tabouret.

### 3.1.2. Pouvoir tampon

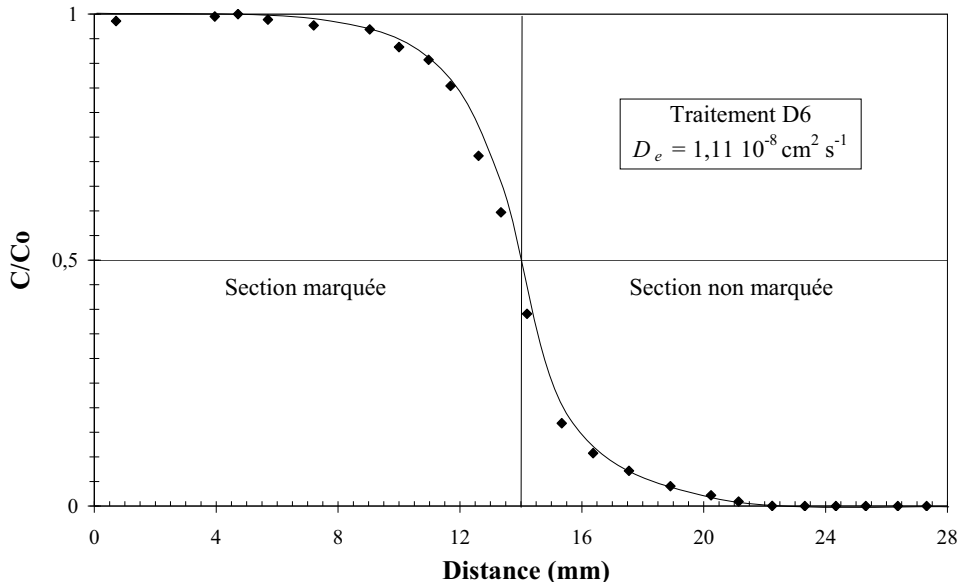
Les valeurs de  $Q_{Cd}$  mesurées par l'extraction au  $CaCl_2$  sont fortement corrélées au Cd total du sol ( $r^2 = 0,997$ ). Selon les traitements, le Cd extractible représente entre 15 et 18 % du Cd total. Les valeurs de  $b$  sont données dans le Tableau 2-4. Le pouvoir tampon est généralement considéré comme constant au cours du temps et en fonction de la concentration de l'élément dans le sol. Ici, la relation entre  $Cd_C$  et  $C_{li}$  n'est pas linéaire, le rapport diminue avec l'augmentation de la quantité de Cd dans le sol.

**Tableau 2-4. Valeurs moyennes et coefficient de variation (cv, %) du facteur capacité ( $b$ ), du coefficient de diffusion ( $D_e$ ,  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) et de l'influx d'eau dans la racine ( $v_0$ ,  $\text{cm}^3 \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Les valeurs de  $D_e$  en italique sont interpolées des valeurs mesurées. Les moyennes suivies d'une même lettre dans une même colonne NK, ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ).**

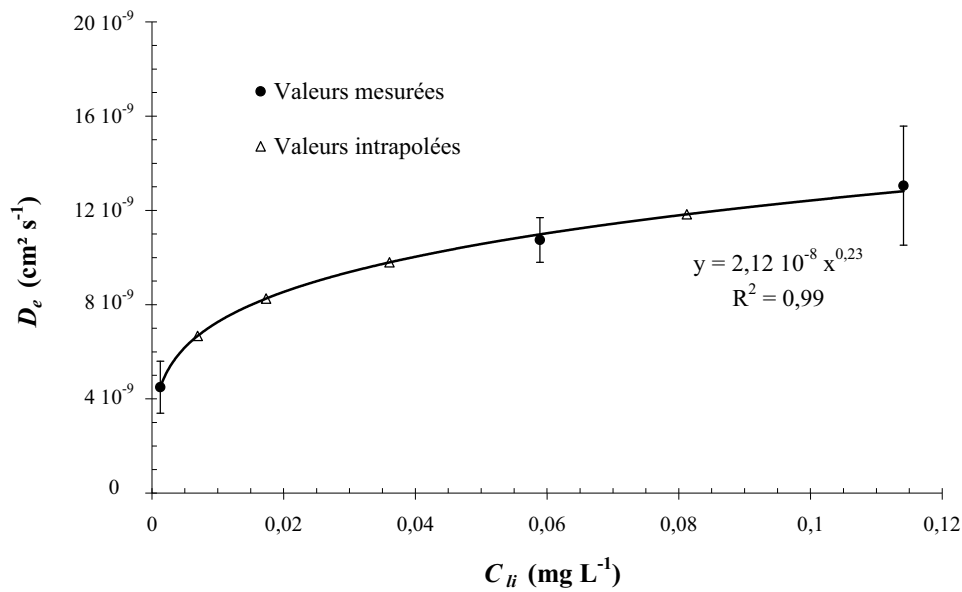
Cd ajouté $\text{mg kg}^{-1}$	$b$	$D_e$ (n=3)	cv	Maïs (n=4)						Tabouret (n=6)		
				12 j			24 j			79 j		
				$v_0$	NK	cv	$v_0$	NK	cv	$v_0$	NK	cv
0	15,6	$4,48 \cdot 10^{-9}$	24,5	$1,20 \cdot 10^{-6}$	a	9,8	$8,58 \cdot 10^{-7}$	a	12,4	$3,50 \cdot 10^{-10}$	a	49,7
0,5	14,1	<i><math>6,67 \cdot 10^{-9}</math></i>		$9,72 \cdot 10^{-7}$	a	4,5	$8,51 \cdot 10^{-7}$	a	11,1	$5,72 \cdot 10^{-10}$	a	76,6
1	10,8	<i><math>8,26 \cdot 10^{-9}</math></i>		$1,14 \cdot 10^{-6}$	a	9,1	$8,80 \cdot 10^{-7}$	a	9,1	$6,10 \cdot 10^{-10}$	a	25,8
2	10,2	<i><math>9,80 \cdot 10^{-9}</math></i>		$1,07 \cdot 10^{-6}$	a	4,8	$8,71 \cdot 10^{-7}$	a	4,7	$3,90 \cdot 10^{-10}$	a	48,2
3	11,7	$1,10 \cdot 10^{-8}$	8,8	$1,05 \cdot 10^{-6}$	a	9,8	$9,80 \cdot 10^{-7}$	ab	13,2	$1,60 \cdot 10^{-10}$	a	131,8
5	11,2	<i><math>1,18 \cdot 10^{-8}</math></i>		$1,12 \cdot 10^{-6}$	a	12,6	$1,07 \cdot 10^{-6}$	b	4,5	$3,95 \cdot 10^{-10}$	a	31,8
7	10,3	$1,28 \cdot 10^{-8}$	19,4	$9,98 \cdot 10^{-7}$	a	10,4	$8,47 \cdot 10^{-7}$	a	6,3	$4,52 \cdot 10^{-10}$	a	84,5

### 3.1.3. Coefficient de diffusion

Un exemple de distribution de la radioactivité entre les deux sections de terre placées dans la chambre de diffusion pendant trois semaines, est donné dans la Figure 2-3. Les valeurs de coefficient de diffusion semblent augmenter légèrement avec la quantité de Cd dans le sol. Une très forte corrélation de type puissance ( $r^2=0.9987$ ) entre la  $C_{li}$  et le coefficient de diffusion, nous a permis d'intrapoler les valeurs intermédiaires de  $D_e$  pour les traitements D1, D2, D3 et D5 (Figure 2-4). Les  $D_e$  pour les différents traitements sont donnés au Tableau 2-4.



**Figure 2-3. Exemple de distribution de la radioactivité dans les deux sections.  $C_0$  et  $C$  sont respectivement les concentrations initiales et finales en  $^{109}\text{Cd}$  ( $\text{cpm g}^{-1}$  de terre).**



**Figure 2-4. Courbe ajustée de la relation  $C_{ii}$ - $D_e$  permettant d'intrapoler les valeurs intermédiaires (en figuré '△') du coefficient de diffusion.**

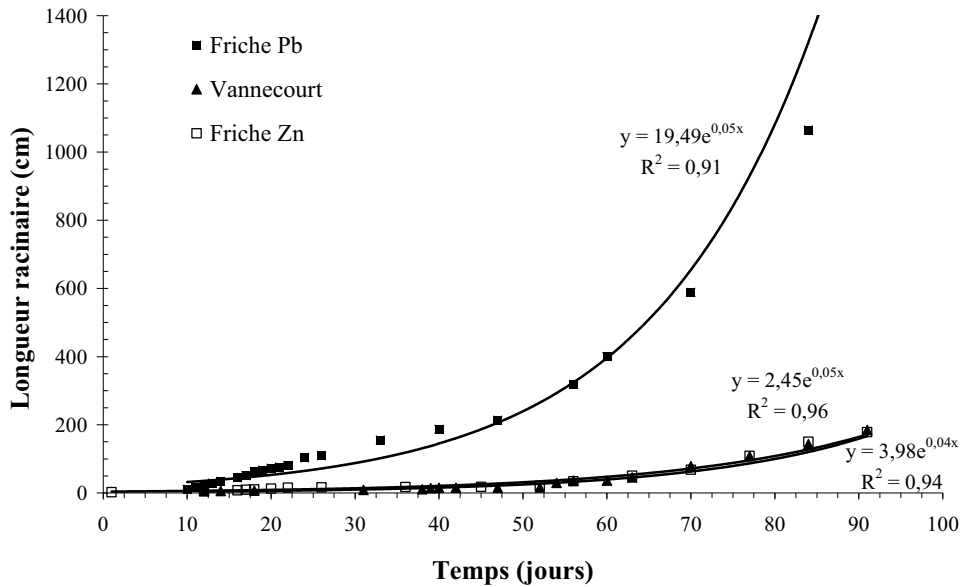
### 3.1.4. Paramètres liés à la plante

#### 3.1.4.1. Vitesse de transfert de l'eau

Ce paramètre est révélateur du flux de masse, processus responsable des transferts des éléments du sol vers la surface racinaire, il dépend de la transpiration foliaire de la plante. L'analyse des variances pour les valeurs de  $\nu_0$  ne montre pas de différence significative nette au seuil 5 % entre les traitements, ceci pour les deux plantes étudiées (Tableau 2-4).

#### 3.1.4.2. Taux de croissance des racines

La longueur totale du système racinaire  $L$ , du maïs est estimée sur une aliquote du poids total de racine. L'allure de la courbe de croissance racinaire du maïs est de type exponentielle (Mullins et Sommers, 1986a). En ce qui concerne le tabouret, la Figure 2-5 montre quelques exemples de cinétiques de croissance dans différentes conditions édaphiques. Deux répétitions par traitement ont montré les mêmes allures de courbes. Nous avons donc considéré une croissance exponentielle également pour le tabouret, et calculé  $k$  grâce à Eq 2.7.



**Figure 2-5. Courbe de croissance pour 3 mois, des racines du tabouret calaminaire sur des sols d'origines diverses. Friche Pb = site d'ancienne fonderie de plomb, friche Zn = site d'ancienne fonderie de zinc.**

Aucune différence significative nette (au seuil 5 %) n'a été observée pour les valeurs de  $k$  du tabouret pour les traitements d'un même temps de culture (Tableau 2-5). Ce paramètre est également constant pour le maïs en fonction du niveau de contamination du sol excepté pour  $Cd_C = 7 \text{ mg kg}^{-1}$  après 24 jours de culture. Les valeurs de  $k$  du maïs diminuent de 40 % entre les deux temps de culture. Au cours du deuxième temps de culture le maïs a donc limité son expansion racinaire par rapport au modèle exponentiel prévu.

### 3.1.4.3. Paramètres géométriques du système racinaire

Dans le cas du maïs, la longueur racinaire tend à diminuer lorsque  $Cd_C$  dépasse  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  et pour les deux temps de culture, mais aucune variation significative n'a été observée pour l'hyperaccumulateur (Tableau 2-5).

Le rayon moyen racinaire du maïs,  $r_0$  semble diminuer légèrement après 1 et 2  $\text{mg Cd kg}^{-1}$  de sol respectivement pour 12 et 24 jours de culture selon les traitements. En revanche aucune diminution ne s'observe pour le tabouret (Tableau 2-5). La demi-distance moyenne entre les racines ( $r_1$ ) de maïs en 12 jours de culture semble augmenter de manière significative, au seuil 5 %, pour  $Cd_C \geq 5 \text{ mg kg}^{-1}$  par à rapport à  $Cd_C \leq 1 \text{ mg kg}^{-1}$  alors que  $r_1$  diffère uniquement pour  $Cd_C = 7 \text{ mg kg}^{-1}$  après 24 jours de culture (Tableau 2-5). Ce paramètre ne varie pas significativement dans le cas l'hyperaccumulateur. La variabilité (cv) des paramètres est beaucoup plus importante dans le cas du tabouret que dans celui du maïs.

En conclusion, la croissance racinaire du maïs semble être légèrement affectée négativement pour des teneurs croissantes de Cd dans le sol. En revanche, parmi les paramètres du sol, seuls  $D_e$  et  $C_{li}$  sont nettement influencés par les quantités de Cd apportées.

## 3.2. Effet de la contamination sur le prélèvement du cadmium

### 3.2.1. Maïs

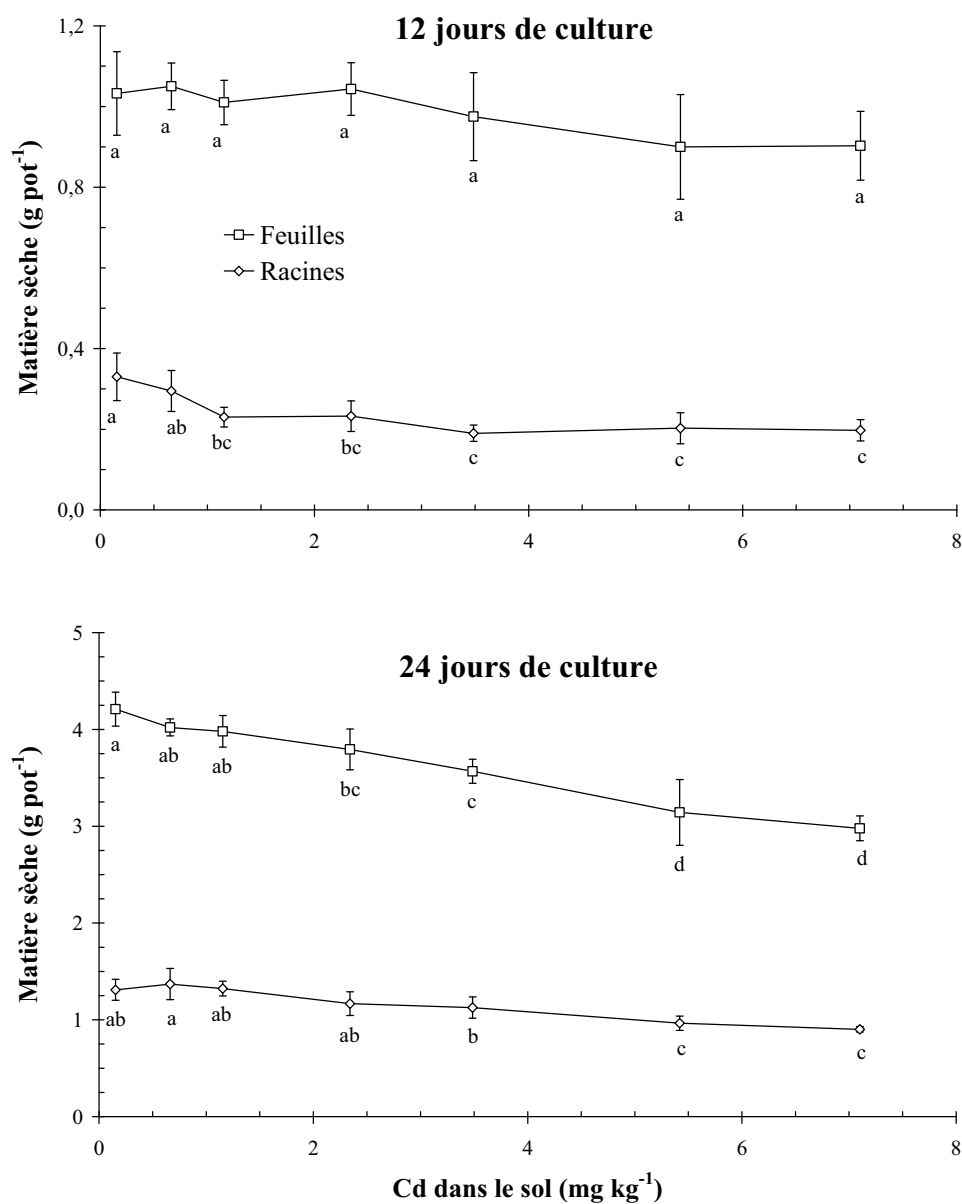
Les biomasses fraîches et sèches ont diminué avec l'augmentation du Cd du sol, pour les deux temps de culture, mais plus spécialement après 24 jours de culture (Figure 2-6). Toutefois la teneur en eau est restée la même dans les racines et dans les parties aériennes, quelle que soit la valeur de  $Cd_C$ . Les biomasses racinaires ont diminué de manière plus importante que les biomasses foliaires, soit de 41 % en moyenne lorsque  $Cd_C \geq 3 \text{ mg kg}^{-1}$ , après 12 jours de culture et de 29 % en moyenne lorsque  $Cd_C \geq 5 \text{ mg kg}^{-1}$ , après 24 jours.

La concentration de Cd était plus importante dans les racines que dans les feuilles (Figure 2-7), et ceci notamment après 24 jours de culture (3,3 fois plus concentrée en moyenne). Les concentrations foliaires des plants de 12 jours sont 20 % supérieures à celles des plants âgés de 24 jours. En revanche si les concentrations racinaires des plants âgés de 12 jours sont supérieures à celles des plants de 24 jours lorsque  $Cd_C \leq 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ , les concentrations racinaires sont en moyenne 40 % supérieures après 24 jours de culture pour les traitements suivants.

Les quantités prélevées après 12 jours de culture sont majoritairement localisées dans les racines pour les deux premiers traitements puis deviennent dominantes dans les feuilles à partir de  $Cd_C = 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ . Après 24 jours de culture les quantités mesurées dans les feuilles et les racines étaient similaires. La quantité de cadmium accumulée était nettement supérieure après 24 jours de culture par rapport à 12 jours (jusqu'à 15 fois pour les racines et 3 fois en moyenne pour les feuilles), ce qui s'explique en partie par le développement exponentiel des racines. Le prélèvement a ralenti lorsque  $Cd_C$  dépassait  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ , pour atteindre un plateau (Figure 2-8), et ceci plus particulièrement pour les parties aériennes. Ce plateau est plus prononcé à 24 jours de culture qu'à 12 jours de culture.

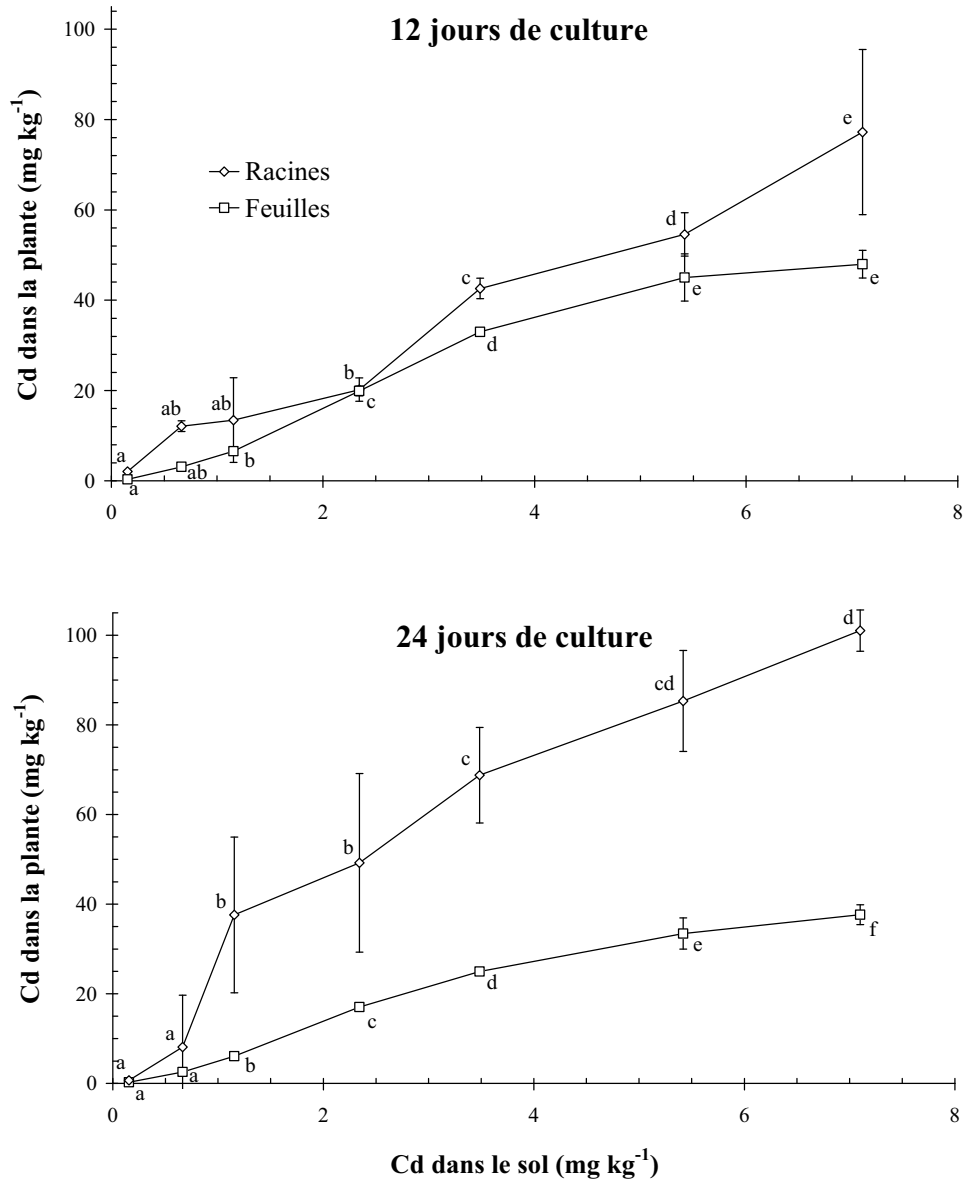
**Tableau 2-5. Valeurs moyennes de 4 répétitions de la longueur racinaire ( $L$ , cm), du taux de croissance racinaire ( $k$ ,  $s^{-1}$ ), du rayon moyen ( $r_0$ , cm) et de la demi-distance racinaire moyenne ( $r_1$ , cm). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil 5 %.**

Cd ajouté mg kg <sup>-1</sup>	Maïs, 12 j (n = 4)											
	$L$	NK	cv	$r_0$	NK	cv	$r_1$	NK	cv	$k$	NK	cv
0	5430	ab	16,7	0,018	a	2,8	0,391	a	8,8	$5,91 \cdot 10^{-6}$	a	5,3
0,5	6502	ab	4,5	0,017	a	3,3	0,354	ab	2,3	$6,12 \cdot 10^{-6}$	a	2,1
1	5757	ab	10,1	0,014	b	8,6	0,378	ab	5,0	$5,83 \cdot 10^{-6}$	a	5,0
2	5637	ab	4,7	0,014	b	8,0	0,381	abc	2,3	$6,01 \cdot 10^{-6}$	a	2,5
3	4988	bc	11,5	0,015	b	6,4	0,406	bcd	6,3	$5,99 \cdot 10^{-6}$	a	2,7
5	4293	c	15,0	0,015	b	3,4	0,439	cd	7,4	$5,85 \cdot 10^{-6}$	a	2,0
7	4415	c	8,7	0,015	b	7,3	0,431	d	4,4	$5,68 \cdot 10^{-6}$	a	4,0
	Maïs, 24 j (n = 4)											
	$L$	NK	cv	$r_0$	NK	cv	$r_1$	NK	cv	$k$	NK	cv
0	26809	a	12,4	0,016	ab	1,4	0,175	a	6,0	$3,69 \cdot 10^{-6}$	ab	0,7
0,5	25716	a	11,8	0,017	ab	6,5	0,179	a	5,5	$3,63 \cdot 10^{-6}$	bc	2,9
1	27308	a	9,3	0,016	abc	5,1	0,173	a	4,7	$3,74 \cdot 10^{-6}$	a	2,3
2	30620	a	5,5	0,014	c	3,1	0,163	a	2,8	$3,77 \cdot 10^{-6}$	a	1,1
3	27138	a	20,9	0,014	c	7,4	0,176	a	10,8	$3,73 \cdot 10^{-6}$	a	4,4
5	23819	a	3,3	0,015	c	6,4	0,185	a	1,6	$3,68 \cdot 10^{-6}$	ab	1,1
7	19160	b	8,1	0,015	bc	1,8	0,207	b	4,3	$3,52 \cdot 10^{-6}$	c	2,7
	Tabouret calaminaire, 79 j (n=6)											
	$L$	NK	cv	$r_0$	NK	cv	$r_1$	NK	cv	$k$	NK	cv
0	13206	a	50,6	0,013	a	10,6	0,215	a	17,9	$1,72 \cdot 10^{-6}$	a	3,5
0,5	4113	a	84,8	0,012	a	9,5	0,470	a	43,6	$1,51 \cdot 10^{-6}$	a	9,0
1	5749	a	30,8	0,012	a	2,8	0,318	a	17,5	$1,60 \cdot 10^{-6}$	a	3,1
2	7630	a	43,2	0,012	a	1,7	0,279	a	16,6	$1,64 \cdot 10^{-6}$	a	3,3
3	6447	a	34,9	0,012	a	2,6	0,301	a	17,8	$1,62 \cdot 10^{-6}$	a	3,2
5	5981	a	61,0	0,011	a	6,7	0,355	a	39,1	$1,58 \cdot 10^{-6}$	a	7,1
7	5559	a	15,6	0,012	a	5,0	0,315	a	8,1	$1,60 \cdot 10^{-6}$	a	1,5

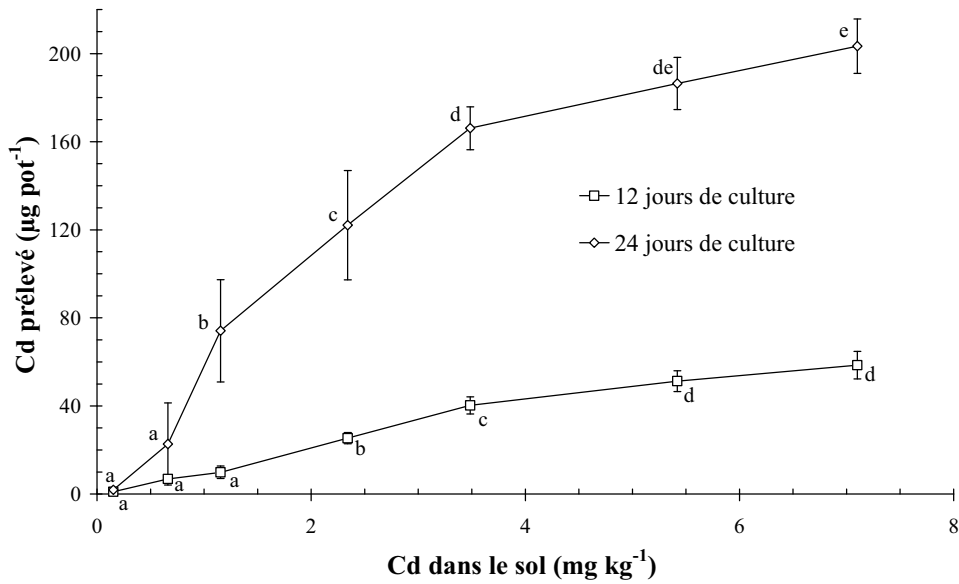


**Figure 2-6. Matières sèches racinaires et foliaires produites par le maïs en 12 et 24 jours de culture selon les différents niveaux de contamination. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ).**





**Figure 2-7. Concentration de Cd dans les tissus de maïs (sur base de matière sèche) en fonction des niveaux de contamination du sol en Cd pour les deux temps de culture. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05$  %).**



**Figure 2-8. Prélèvement du Cd par le maïs en fonction des niveaux de contamination du sol en Cd pour les deux temps de culture. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05 \%$ ).**

### 3.2.2. Tabouret calaminaire

Nous n'avons pas observé de différence de biomasse entre les individus développés sur la gamme de contamination cadmiée (Tableau 2-6). Contrairement au maïs, le Cd était deux à trois fois plus concentré dans les feuilles que dans les racines. La concentration de Cd racinaire du tabouret représentait sept fois celle du maïs et la concentration foliaire, 46 fois celle observée pour le maïs. Les quantités de Cd prélevées dans les feuilles étaient entre 16 et 42 fois supérieures à celles dans les racines. Bien que les quantités de Cd mesurées dans les racines du maïs âgées de 24 jours fussent deux fois supérieures à celles mesurées dans les racines du tabouret, le prélèvement total du tabouret était en moyenne 30 et 9 fois supérieur à ceux des maïs âgés de 12 et 24 jours respectivement. Pour un même niveau de contamination du sol, une très forte variabilité du niveau de Cd dans les plantes a été observée (Tableau 2-6). La concentration moyenne dans les plants et la quantité prélevée ont augmenté de façon linéaire avec la quantité de Cd dans le sol excepté pour le dernier niveau ( $Cd_C = 7 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

**Tableau 2-6. Moyennes (*m*) et coefficients de variation (cv, %) de la matière sèche, de la concentration de Cd, et de la quantité de Cd prélevé dans les racines et les parties aériennes du tabouret. Les moyennes dans une même colonne NK suivie d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ).**

Cd ajouté mg kg <sup>-1</sup>	Matière sèche				Concentration en Cd, mg kg <sup>-1</sup> MS				Prélèvement de Cd, µg pot <sup>-1</sup>						
	Racines		Feuilles		Racines		Feuilles		Racines		Feuilles		Plante entière		
	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	<i>m</i>	NK cv	% $Q_{Cd}$ CaCl <sub>2</sub>
0	0,20	a 24,3	1,68	a 31,8	13	a 28,6	28	a 45,1	2,6	a 39,9	42	a 35,0	45	a 34,5	108
0,5	0,07	a 68,0	1,32	a 27,5	85	b 45,4	114	a 71,1	6,2	a 59,2	161	a 74,8	167	a 73,8	130
1	0,09	a 34,3	1,30	a 23,5	103	b 22,7	296	b 31,5	9,9	ab 42,5	389	ab 36,1	399	ab 36,0	98
2	0,16	a 45,7	1,29	a 56,4	153	b 19,1	496	c 9,4	25,5	b 57,8	666	b 59,4	692	b 57,4	105
3	0,12	a 42,1	1,48	a 17,2	267	c 7,1	803	d 19,1	27,8	b 79,5	1165	c 11,8	1193	c 12,2	80
5	0,11	a 56,8	1,44	a 31,1	407	d 23,7	937	d 30,7	44,6	c 57,0	1391	c 48,2	1435	c 48,2	83
7	0,12	a 8,7	1,30	a 24,3	473	e 24,7	831	d 20,3	53,7	c 15,1	1058	c 16,2	1112	c 14,7	44

### 3.3. Simulation du prélèvement de Cd par le modèle de Barber-Cushman

Les quantités de cadmium absorbées ont été calculées grâce au programme informatique Barber-Cushman Nutrient Uptake Model (Educational Version 3.5) développé par Oates et Barber (1984). Les valeurs obtenues sont alors comparées avec les valeurs mesurées dans la plante.

#### 3.3.1. Simulation du prélèvement du maïs

La Figure 2-9 présente la relation entre la quantité mesurée de Cd absorbé dans la plante et cette même quantité calculée par le modèle. Le modèle semble estimer correctement l'absorption par la plante pour l'ensemble des traitements de Cd après 12 jours de culture. Dans le cas du maïs de 24 jours, les résultats montrent une surestimation de 64 %. Cette surestimation a lieu notamment au delà de 2 mg Cd kg<sup>-1</sup>. Ainsi les corrélations entre les prélèvements simulés et mesurés ont été réalisées également sur la gamme de  $Cd_C$  comprise entre 0 et 2 mg kg<sup>-1</sup> (Tableau 2-7). Dans ce cas, le modèle fournit une très bonne estimation du prélèvement (pente de 1,06). De bonnes corrélations ont été obtenues entre les prélèvements mesurés et calculés pour les deux temps de culture ( $r^2$  compris entre 0,86 et 0,97).

#### 3.3.2. Simulation du prélèvement du tabouret calaminaire

Le prélèvement simulé moyen s'est révélé plus de dix fois inférieur à celui mesuré dans les plantes (Figure 2-10), bien que la corrélation entre les prélèvements simulés et mesurés soit étroite ( $r^2 = 0,75$ ) (Tableau 2-7).

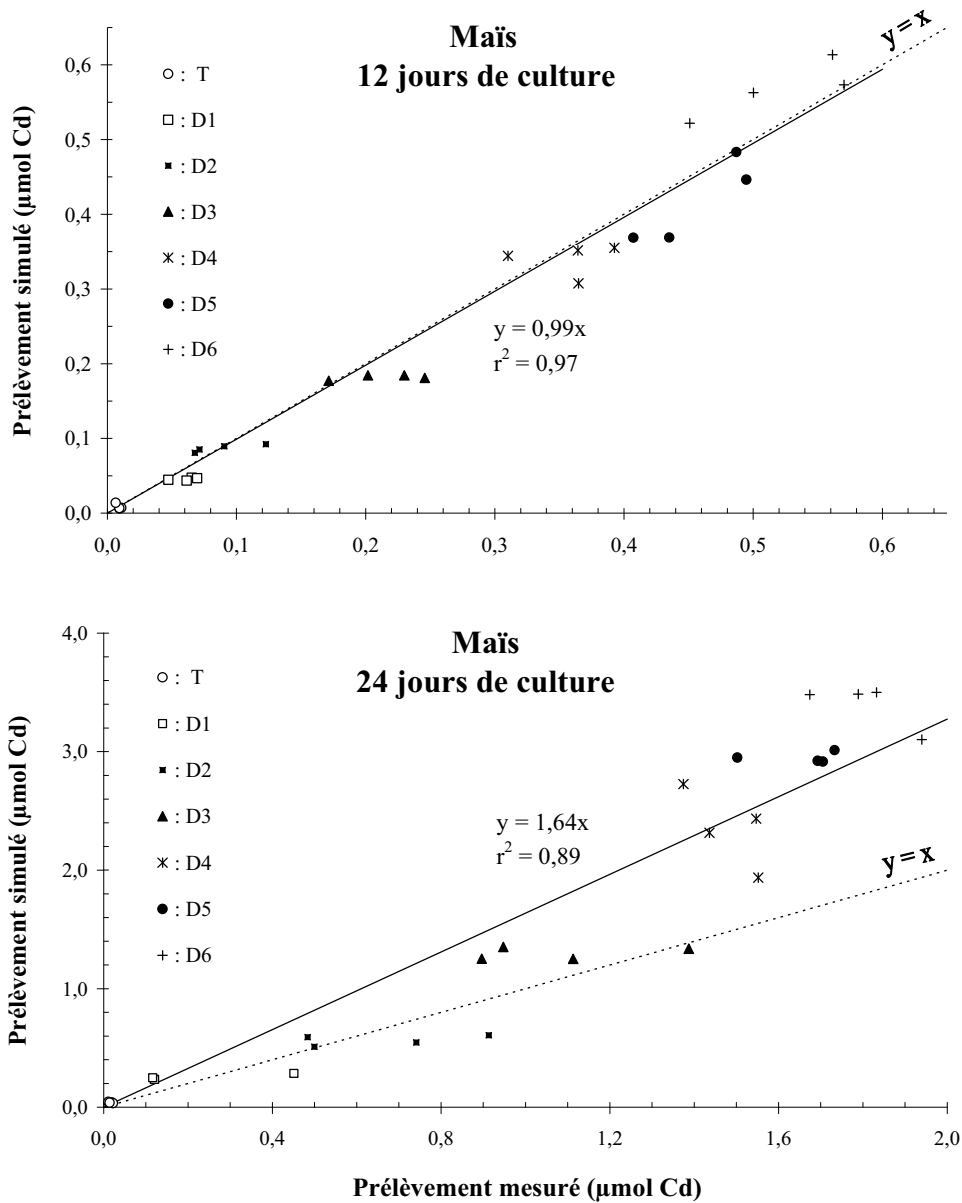
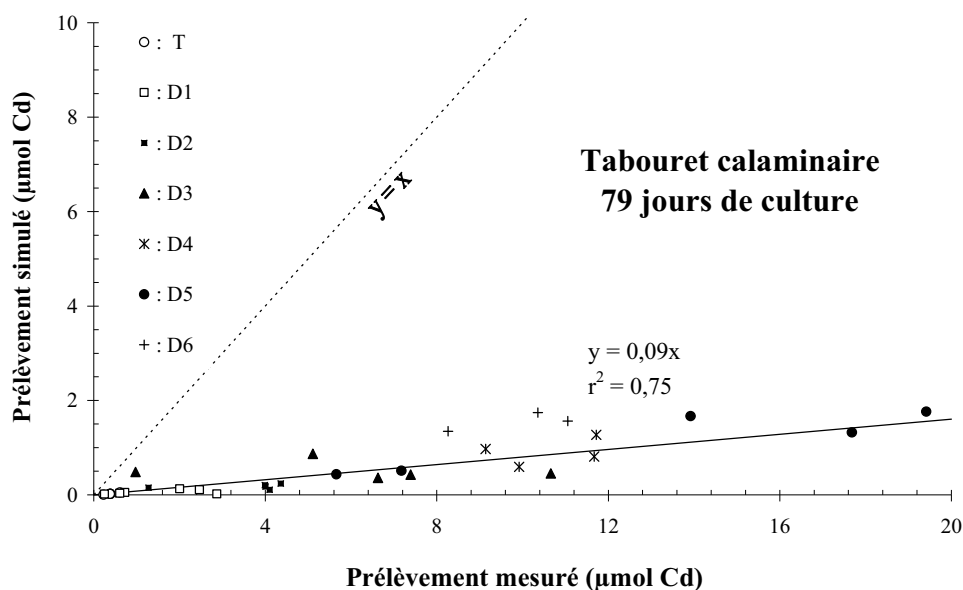


Figure 2-9. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle et mesurés dans la plante ( $\mu\text{mol pot}^{-1}$ ) pour les deux temps de culture du maïs.

Tableau 2-7. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements de Cd mesurés et calculés. L'ordonnée à l'origine a été fixée à zéro ;  $a$  est la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination.

Gamme de contamination	Maïs				Tabouret calaminaire	
	12 j		24 j		79 j	
	$r^2$	$a$	$r^2$	$a$	$r^2$	$a$
0 à 7 $\text{mg kg}^{-1}$	0,97	0,99	0,89	1,64	0,75	0,09
0 à 2 $\text{mg kg}^{-1}$	–	–	0,86	1,06	–	–



**Figure 2-10. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle et mesurés dans la plante ( $\mu\text{mol pot}^{-1}$ ) pour le tabouret calaminaire.**

### 3.4. Analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité a consisté à faire varier chaque paramètre individuellement d'un facteur de 0,5 à 2 et de calculer à chaque fois le prélèvement par le modèle. Pour des facteurs supérieurs (notamment à partir de dix) il arrive que le modèle fournisse des valeurs incohérentes. Cette démarche adoptée par les auteurs ayant travaillé sur ce modèle (Silberbush et Barber, 1983b ; Mullins *et al.*, 1986 ; Wu, 1989 ; Janot, 1990 ; Adhikari et Rattan, 2000) ne fournit en aucun cas une valeur réelle de prélèvement. De plus, les paramètres du modèle ne sont pas indépendants entre eux. Il existe des relations entre les paramètres du sol, mais également entre ceux de la géométrie du système racinaire. En outre, les conditions du sol orientent la physiologie de la plante et rétroactivement. L'analyse de sensibilité des paramètres  $L$  et  $L_0$  a donc consisté à faire varier conjointement les paramètres  $k$ ,  $r_1$  et  $v_0$ . Ces réserves prises en compte, l'analyse de sensibilité reste utile pour dégager les paramètres les plus influents dans le calcul du prélèvement et les hiérarchiser, ainsi que pour évaluer l'impact d'une erreur de mesure d'un paramètre.

#### 3.4.1. Maïs

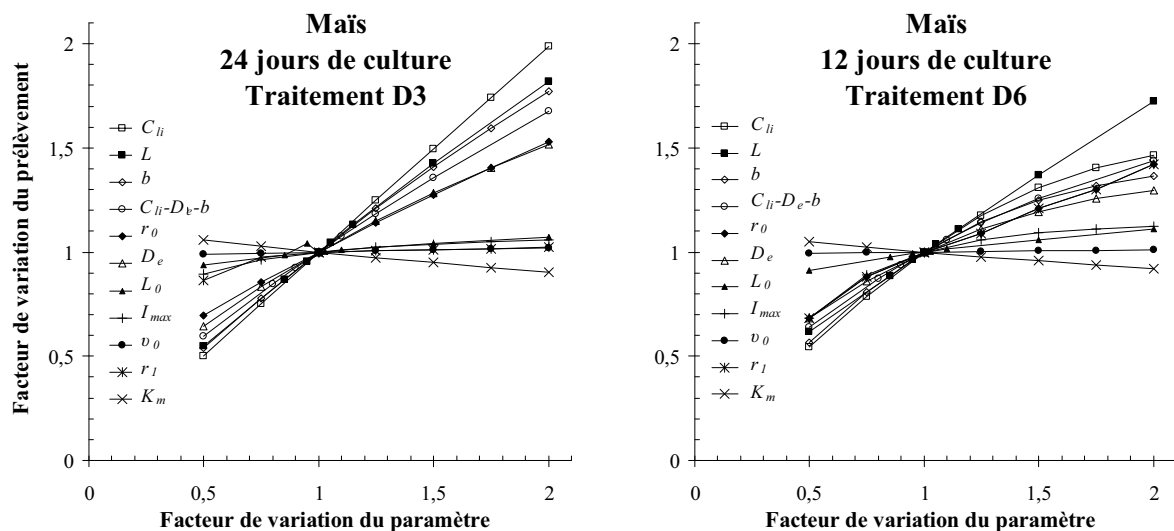
Les paramètres du modèle les plus influents sont ceux liés au sol :  $C_{li}$ ,  $b$ , et dans une moindre mesure  $D_e$ . Lorsque ces paramètres ont été doublés le prélèvement a été multiplié respectivement par 1,99 ; 1,77 et 1,51 (Figure 2-11, 24 j - D3). Parmi les facteurs liés à la plante,  $k$  et  $r_0$  ont été les plus influents. Ainsi lorsque  $r_0$  double le prélèvement a été multiplié par 1,52. Le paramètre  $k$  n'a pas été représenté pour des problèmes d'échelle, puisque lorsque celui-ci double (ce qui multiplie  $L$  par 2300), le prélèvement est multiplié par un facteur 1500 en moyenne. De plus, une telle variation est fortement irréaliste, c'est pourquoi nous avons fait varier la valeur de longueur totale du système racinaire,  $L$  et recalculé  $k$ . La valeur de  $L$ ,

utilisée dans le calcul de  $v_0$ ,  $r_1$  et  $k$ , a aussi été retenue comme un paramètre très influent, montrant qu'une surestimation de 50 % de  $L$  aurait augmenté le prélèvement simulé de près de 40 % (Figure 2-11, 12 et 24 j). La longueur initiale  $L_0$  a très peu d'influence sur le calcul du modèle. Les paramètres  $C_{li}$ ,  $b$ , et  $D_e$  sont également liés par le calcul par les relations

$$b = \frac{\alpha}{C_{li}} \text{ et } D_e = \frac{\beta}{b}, \text{ où } \alpha \text{ et } \beta \text{ sont des constantes (Nye et Marriott, 1969). Ainsi lorsque } C_{li} \text{ est}$$

multipliée d'un facteur deux,  $D_e$  est multiplié par deux et  $b$  est divisé par deux. Dans ce cas le prélèvement calculé est multiplié par un facteur 1,68 (Figure 2-11, 24 j - D3).

Les paramètres de la cinétique d'absorption ( $I_{max}$  et  $K_m$ ), la demi-distance racinaire ( $r_1$ ) et le flux d'eau dans la racine ( $v_0$ ) ont une influence relativement faible sur le calcul du prélèvement racinaire. L'augmentation de  $I_{max}$  a un effet légèrement plus important sur le prélèvement lorsque  $C_{li}$  est plus élevée (Figure 2-11 D3-D6).

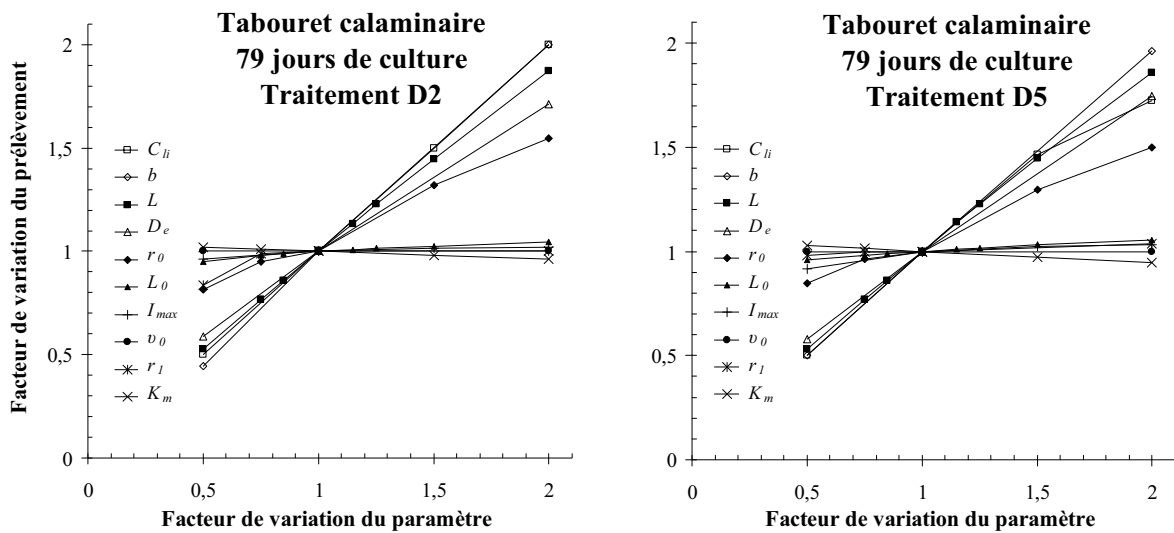


**Figure 2-11. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour chaque paramètre du modèle pris individuellement. L'analyse de sensibilité de  $L$  et  $L_0$  a impliquée également les paramètres dépendants de ces valeurs ( $k$ ,  $r_1$ ,  $v_0$ ). Chaque paramètre d'entrée a varié d'un facteur 0,5 à 2. Dans cet exemple, l'analyse est effectuée sur la moyenne des paramètres des traitements D3 et D6 pour les temps de culture de 24 et 12 jours.**

Pour illustrer de nouveau l'influence de chacun des paramètres dans la modélisation, nous avons simulé le prélèvement de la plante d'un traitement D3 avec chaque paramètre moyen de D6 pris individuellement (Tableau 2-8). La  $C_{li}$  apparaît comme le facteur le plus influent pour expliquer l'augmentation du prélèvement entre deux plantes développées sur des niveaux de contamination différents, tandis que  $k$  tend à le diminuer, en intégrant une infime partie des effets de la phytotoxicité.

**Tableau 2-8. Influence de chacun des paramètres moyens du traitement D6 dans le prélèvement calculé pour une plante du traitement D3.**

Paramètres	$k$	$v_0$	$r_1$	$r_0$	$L_0$	$D_e$	$b$	$C_{li}$
Prélèvement de Cd calculé (nmol) (Prélèvement initial en D3 : 183)	135	182	185	185	203	218	185	582
Différence de prélèvement (nmol) (Prélèvement moyen en D6 : 573)	-48	-1	+2	+2	+20	+35	+2	+399



**Figure 2-12. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le tabouret calaminaire pour chaque paramètre du modèle pris individuellement. Chaque paramètre d'entrée a varié d'un facteur 0,5 à 2. L'analyse de sensibilité de  $L$  et  $L_0$  a impliquée également les paramètres dépendants de ces valeurs ( $k$ ,  $r_1$ ,  $v_0$ ). Dans cet exemple, l'analyse est effectuée sur un individu pour les traitements D2 et D5.**

### 3.4.2. Tabouret calaminaire

Le prélèvement simulé de Cd pour le tabouret est sensible aux mêmes paramètres que ceux cités pour le maïs. Lorsque  $b$ ,  $D_e$ ,  $C_{li}$  et  $r_0$  sont doublés le prélèvement simulé est multiplié respectivement par 1,96 ; 1,75 ; 1,73 et 1,50 (Figure 2-12, D2). Les autres paramètres sensibles sont  $L$  et  $r_0$ . La sensibilité de  $C_{li}$  semble diminuer entre D2 et D5 (Figure 2-12) comme observé pour le maïs.

## 4. Discussion

### 4.1. Paramètres d'entrée relatifs au sol

#### 4.1.1. Concentration initiale en solution

La différence entre les mesures effectuées par déplacement et centrifugation provient certainement du fait des variations d'humidité pour les deux méthodes de mesure. En effet, la centrifugation a été réalisée avec un sol à 70 % d'humidité alors que le sol était à la capacité au champ pour le déplacement. Ceci est en accord avec les résultats de Wu (1989), pour qui la concentration en solution diminue à mesure que les rapports sol/eau augmentent. De plus, pour le cas du Cd, Lorenz *et al.* (1994), montrent que les concentrations en solution obtenues après centrifugation sont soit égales soit supérieures (jusqu'à 2,4 fois) à celles obtenues après déplacement. Contrairement aux éléments comme le Ca ou le Mg qui ont tendance à s'accumuler à la surface de la racine, les éléments tels que K, Zn ou Cd sont largement prélevés dans la rhizosphère et forment un gradient du sol à la racine. Lorsque l'humidité du sol reste importante, les racines se développent en priorité dans les pores les plus gros, c'est cette eau qui est collectée par déplacement (Lorenz *et al.*, 1994). Ces auteurs ont montré que le pH de la solution collectée par déplacement est inférieur au pH du sol, alors que la centrifugation fournit des pH plus proches de ceux du sol. La centrifugation échantillonne toute l'eau du sol et la porosité la plus fine également. Cette méthode convient donc pour estimer la concentration au voisinage d'un système racinaire qui puise, du fait du flux de masse et de la diffusion, dans la solution présente dans toute la porosité. Le choix entre ces deux méthodes d'évaluation reste cependant difficile à faire. Nous avons retenu la méthode de centrifugation car elle a été réalisée dans des conditions d'humidité de sol plus proches de celles des cultures.

La spéciation du Cd dans la solution du sol a été réalisée grâce au logiciel de spéciation WHAM (Tipping, 1994). Cette étude a montré qu'une caractérisation approfondie de la matière organique est souhaitable pour la spéciation du Cd. Toutefois la compensation entre les paramètres  $C_{li}$  et  $b$  (Eq 2.1) est telle que l'influence de la spéciation (et des formes suspectées absorbables par la plante) sur le prélèvement est assez modérée (Annexe II).

#### 4.1.2. Coefficient de diffusion

La gamme des coefficients mesurés et leur tendance à l'augmentation avec la teneur en Cd dans le sol sont deux aspects qui sont en accord avec les observations de Janot (1990) et Wu (1989).

Dans notre étude, les coefficients de diffusion ont été calculés par Eq 2.5 (Figure 2-4). Ce calcul a été utilisé par d'autres chercheurs (Janot, 1990 ; Wu, 1989). Toutefois, il existe d'autres calculs permettant d'évaluer la diffusion effective à partir de nos données obtenues avec les cellules de diffusion. Nous discutons ici des autres méthodes.

Le coefficient de diffusion peut être également calculé à partir de la formule suivante (Jost, 1952, p 22) :



$$\text{Eq 2.10 : } D'_e = \frac{M_t^2 \times \pi}{A^2 (C_2 - C_1)^2 \times t}$$

où  $M$  représente la quantité totale de Cd qui a diffusé en un temps  $t$  dans la portion non marquée initialement (cpm),  $C_1-C_2$  la différence de concentration entre le compartiment marqué et le compartiment non marqué,  $A$  la surface de contact entre les deux sols,  $t$  le temps de contact. Ce formalisme utilisé par Bhadoria *et al.* (1991) pour le P est également préconisé par Barber (1995). Les valeurs obtenues pour les traitements T, D4 et D6 sont près de 75 fois inférieures à celles calculées par l'Eq 2.5 (Tableau 2-9).

D'après Crank, (1975) les problèmes de diffusion peuvent également être décrit par la fonction erreur écrite sous la forme  $erf(z)$ , où

$$\text{Eq 2.11 : } erf\ z = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z \exp\left(-\frac{x^2}{2\sqrt{(Dt)}}\right) dx$$

Nye (1984) a utilisé cette fonction pour estimer le prélèvement de nutriments au voisinage de la racine.

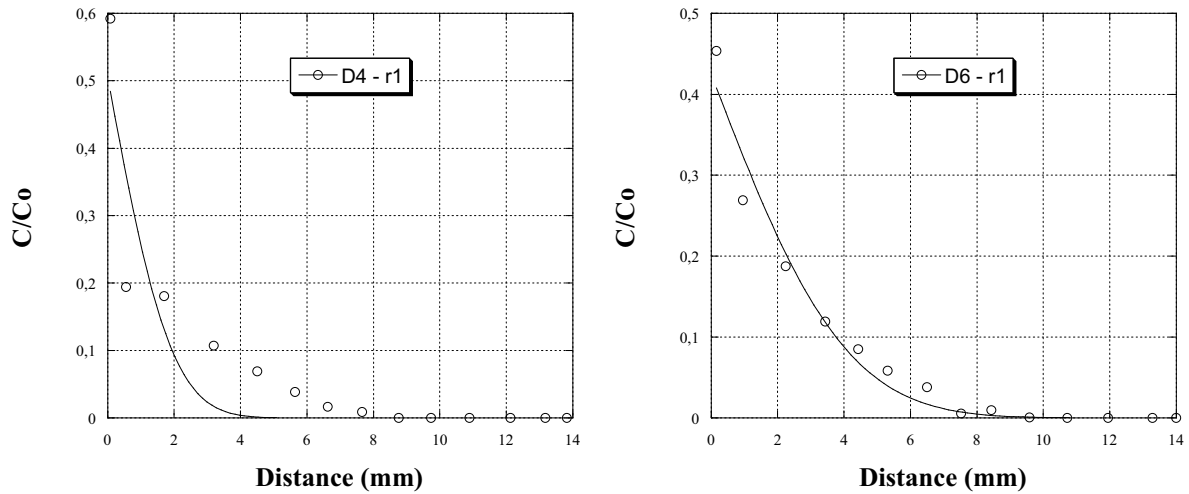
Cette fonction a les propriétés suivantes :

$$erf(-z) = - erf(z) ; erf(0) = 0 ; erf(\infty) = 1 ; 1-erf(z) = erfc(z)$$

La fonction erreur complémentaire  $erfc$  permet d'écrire :

$$\text{Eq 2.12 : } C(x,t) = \frac{1}{2} C_0 \times erfc\left(\frac{x}{2\sqrt{D'_e \times t}}\right)$$

L'ajustement des données par la fonction de l'Eq 2.12 est représenté sur la Figure 2-13. Dans cet exemple, la fonction semble bien modéliser le profil d'une mesure sur le sol D6 sans toutefois couper l'axe des ordonnées à 0,5 ; alors que l'ajustement n'est pas de bonne qualité sur la mesure présentée concernant le sol D4.



**Figure 2-13. Ajustement par l'Eq 2.12 du profil de concentration de Cd diffusant dans le compartiment non marqué initialement pour les sols D4 et D6.**

Dans ce cas les coefficients de diffusion par ce calcul sont plus de 300 fois supérieurs en moyenne à ceux calculés par l'Eq 2.5 (Tableau 2-9).

Nous avons donc calculé le coefficient de diffusion avec les équations Eq 2.5, Eq 2.10 et Eq 2.12 pour les trois traitements T, D4 et D6 étudiés (Tableau 2-9).

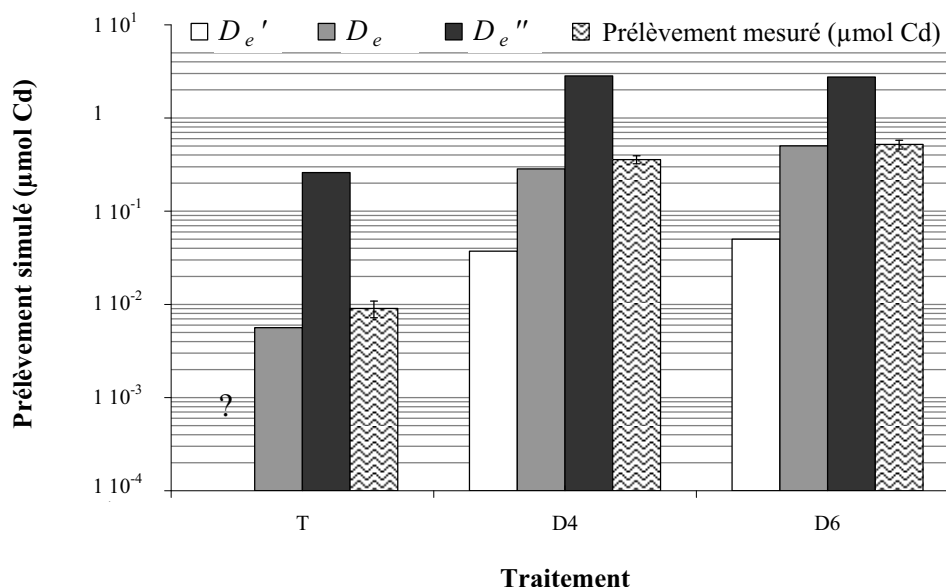
**Tableau 2-9. Valeurs des coefficients de diffusion calculés selon <sup>(1)</sup> Eq 2.5, <sup>(2)</sup> Eq 2.10 et <sup>(3)</sup> Eq 2.12. Les coefficients de variation (cv, %) sont calculés à partir de trois répétitions mesurées avec les cellules de diffusion (voir matériels et méthodes).**

	<sup>1</sup> D <sub>e</sub>	cv	<sup>2</sup> D <sub>e</sub> '	cv	<sup>3</sup> D <sub>e</sub> ''	cv
T	0,448 10 <sup>-8</sup>	24,5	0,533 10 <sup>-10</sup>	26,5	2,414 10 <sup>-6</sup>	69,0
D4	1,099 10 <sup>-8</sup>	8,8	1,385 10 <sup>-10</sup>	9,9	2,803 10 <sup>-6</sup>	35,5
D6	1,282 10 <sup>-8</sup>	19,4	2,228 10 <sup>-10</sup>	30,3	2,047 10 <sup>-6</sup>	36,4

L'équation de Tinker et Nye (2001) définit le coefficient de diffusion par rapport à la diffusion moléculaire en solution, D :

$$\text{Eq 2.13 : } D_e = \frac{D \times f \times \theta}{b}$$

avec  $D = 7,19 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  pour Cd (Horvath, 1985 ; Dobos, 1994),  $b$  le pouvoir tampon,  $f$  facteur de tortuosité et  $\theta$  humidité volumique du sol. Cette application numérique fournit des valeurs du même ordre de grandeur que les  $D_e$  calculés par l'Eq 2.5.



**Figure 2-14. Prélèvements simulés de Cd par le maïs âgé de 12 jours pour les traitements T, D4 et D6. Pour les calculs, les paramètres d'entrée du modèle ont été moyennés dans un même traitement et seul le coefficient de diffusion a varié selon les trois modes de calcul (voir plus haut). « ? » indique une impossibilité de calcul par le modèle.**

L'analyse de sensibilité du paramètre  $D_e$  montre que le choix du mode de calcul est crucial (Figure 2-14). En effet, quels que soient les traitements, les prélèvements calculés avec les différentes valeurs de  $D_e$ , sont en moyenne douze fois supérieurs à ceux calculés avec les valeurs  $D_e'$ . Les prélèvements calculés avec les valeurs  $D_e''$  sont jusqu'à 46 fois plus élevés que ceux calculés avec les deux autres valeurs.

Il semble que la conception théorique de la diffusion dans le cylindre calculé par l'Eq 2.12 ne convienne pas en raison des mauvais ajustements des données expérimentales comme le montre la Figure 2-13. Par ailleurs les solutions du problème de diffusion données par Eq 2.10 et Eq 2.12 sont décrites pour le même système que celui que nous avons utilisé (Figure 2-1) mais pour des conditions aux limites infinies. L'Eq 2.5 est obtenue pour un système aux limites finies, c'est-à-dire que les extrémités du cylindre sont considérées imperméables. Ce calcul était donc probablement le plus adapté.

#### 4.1.3. Vitesse de transfert de l'eau

Janot (1990) a montré une diminution de  $v_0$  de 20 % et 35 % en fonction des doses croissantes de Cd absorbé respectivement pour la laitue et pour le lupin blanc, tous deux développés sur des sols contaminés par des sels de Cd à des teneurs comparables aux nôtres. Nous n'avons pas retrouvé ce résultat. Il reste que la méthode de mesure du flux de masse présente quelques limites qui peuvent expliquer ces différences. Tout d'abord cette méthode nécessite que les flux d'évaporation (E) et de transpiration (T) soient indépendants. Dans notre cas nous pouvons les considérer indépendants car T est nettement inférieur à E, et n'influence donc E que de manière peu significative. D'autre part les mesures d'évaporation doivent être précises et surtout extrapolables à des pots de culture. Cela implique que les

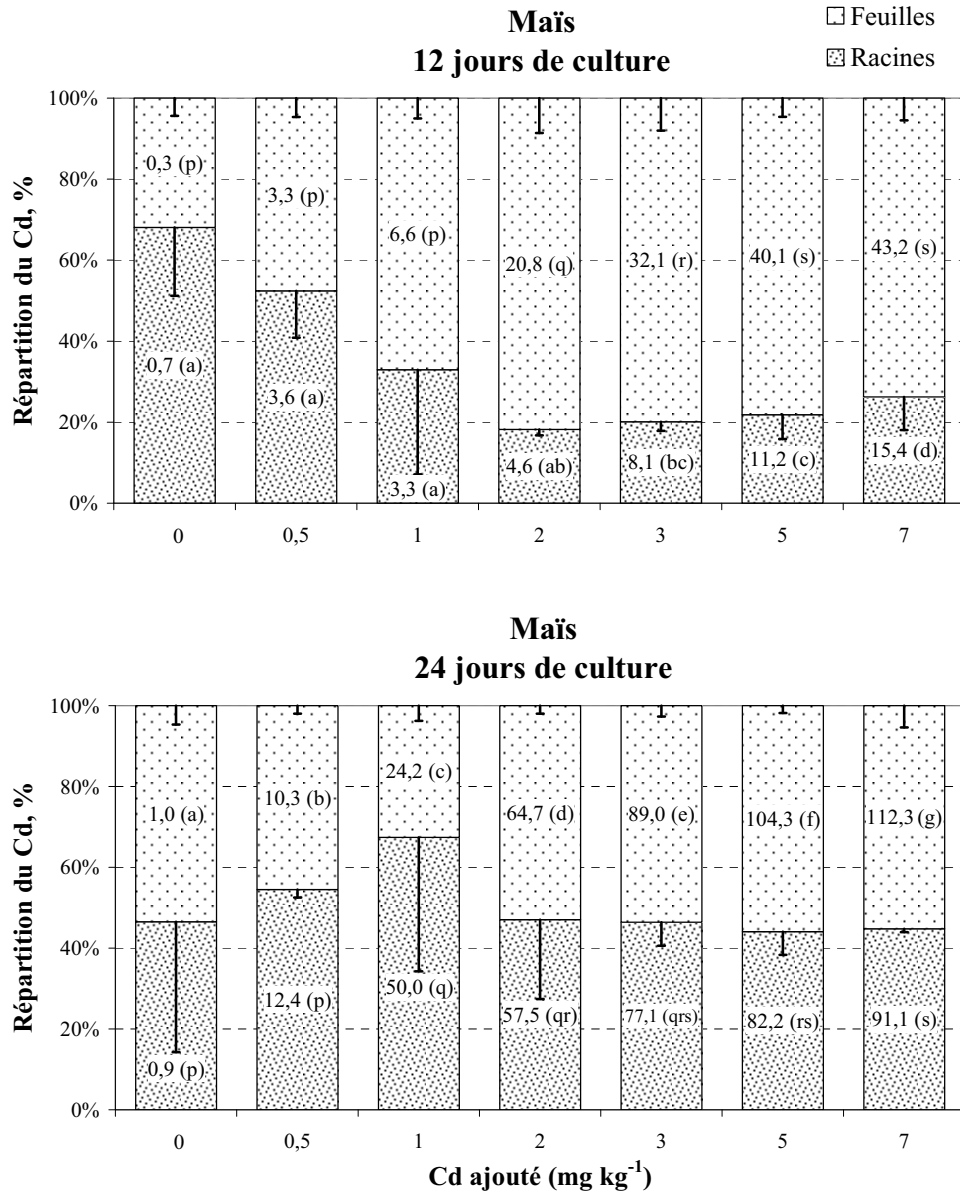
conditions locales d'humidité de l'air (et donc de température) soient proches entre les pots nus et les pots plantés. De même la présence de la plante peut être un frein à l'évaporation notamment avec des plantes à rosette comme le tabouret calaminaire. Quels que soient l'ampleur de ces biais, leur impact est atténué par la faible sensibilité du modèle aux variations de  $v_0$ .

La quantité de Cd transporté par flux de masse peut être estimée en considérant la concentration initiale en solution multipliée par la quantité d'eau absorbée par la plante. Ainsi calculée, la quantité de Cd apporté à la racine par le flux de masse représente 2,5 % et 4,4 % de la quantité totale prélevée par le maïs à 12 et 24 jours de culture respectivement et 0,6 % de la quantité prélevée par le tabouret. Ce calcul démontre la prééminence de la diffusion par rapport au flux de masse pour le transport de l'élément à la racine, comme suggéré par d'autres auteurs (Adhikari et Rattan, 2000 ; Barber, 1995 ; Wu, 1989).

#### 4.2. Absorption du Cd par le maïs

D'après les observations de concentrations et de quantités de Cd dans les racines et les feuilles de la plante, il semblerait que deux processus se sont mis en place concernant le devenir du cadmium dans la plante au cours de la culture. Tout d'abord, le cadmium accumulé dans les racines subit rapidement une translocation vers les parties aériennes dans les premiers temps de la culture (Figure 2-15, 12 jours de culture). Ceci a lieu surtout lorsque  $Cd_C$  dépasse  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ . Les concentrations dans les racines sont similaires à celles des feuilles sauf pour le dernier niveau où le Cd reste plus concentré dans les racines (Figure 2-7, 12 jours de culture). Lorsque les quantités absorbées deviennent plus importantes, on observe à 24 jours de culture un ralentissement de la translocation puisque les quantités sont équivalentes entre parties aériennes et racinaires (Figure 2-15), mais surtout puisque le Cd est essentiellement concentré dans les racines (Figure 2-7, 24 jours de culture).

La décroissance de biomasse et le ralentissement de l'absorption du Cd suggèrent une phytotoxicité lorsque  $Cd_C$  dépasse  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ . Page *et al.* (1981) considéraient qu'une diminution de 25 % de la biomasse foliaire indiquait une phytotoxicité. Dans notre cas, les biomasses aériennes (de matière sèche) du maïs développé sur les niveaux de contamination supérieurs à  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , ont été réduite de 13 % et 27 % en 12 et 24 jours respectivement (comparées aux biomasses respectives des plants du niveau non contaminé). De plus les quantités de Cd mesurées dans les plants développés sur ces deux niveaux de contamination, dépassent la limite de concentration phytotoxique fixée par Page *et al.* (1981) à  $35 \text{ mg kg}^{-1}$  dans les tissus secs. La toxicité semble avoir également réduit la longueur du système racinaire et le rayon moyen racinaire.



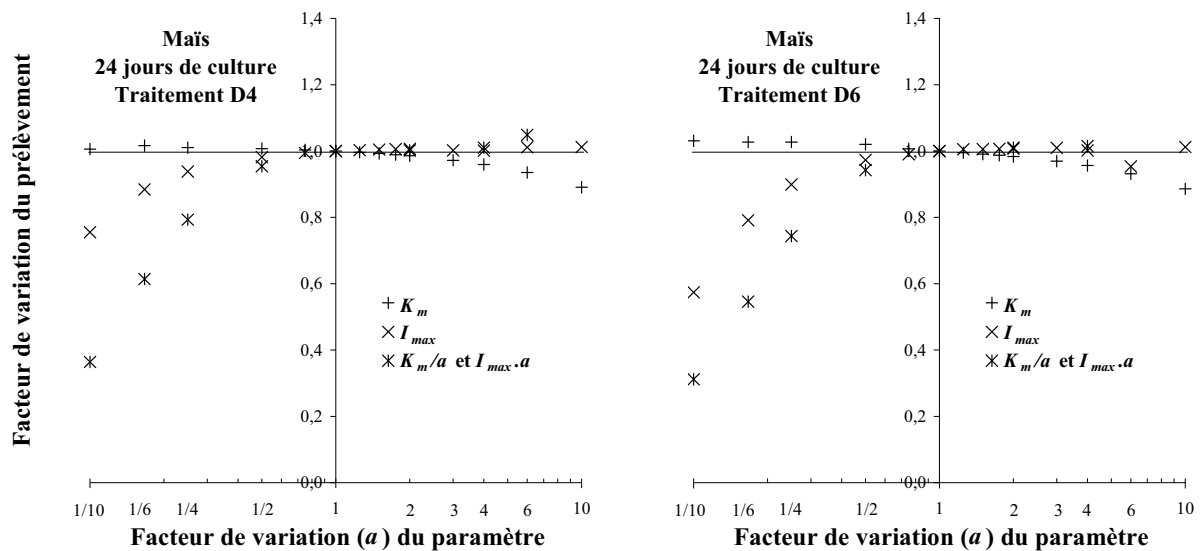
**Figure 2-15.** Pourcentages cumulés des quantités de Cd mesuré dans les racines et dans les parties aériennes de maïs. Les segments verticaux représentent les écarts-types et les chiffres dans les colonnes sont les quantités moyennes prélevées (µg de Cd racinaire ou foliaire pot<sup>-1</sup>). Ces quantités de Cd racinaire ou foliaire ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05$  %) si elles sont suivi d'une même lettre.

#### 4.3. Simulation du prélèvement de Cd par le maïs

Bien que le modèle intègre la réduction de surface racinaire (par la diminution de  $L$  et  $r_0$ ), il a surestimé le prélèvement des plants de 24 jours intoxiqués (développées sur les trois traitements les plus contaminés). Pour expliquer ce phénomène, nous avons émis l'hypothèse que sous l'effet de la toxicité du Cd, les paramètres d'absorption racinaire aient été modifiés, et aient diminués l'influx net, par une réduction de l'influx et/ou une augmentation de l'efflux ou encore la mise en oeuvre d'une stratégie de limitation de la pénétration du Cd, par

exsudation d'un composé complexant, comme le mucilage racinaire (Morel *et al.*, 1986). Des études sont nécessaires pour tester ces hypothèses et pour décrire les probables mécanismes de rétroaction réduisant l'absorption racinaire sous l'effet de la toxicité cadmiée.

Les prélèvements calculés par le modèle pour les traitements D4, D5 et D6 sont en moyenne respectivement 39, 55 et 63 % supérieurs aux prélèvements mesurés après 24 jours de culture (Figure 2-9). La diminution de  $I_{max}$  modifie le prélèvement de manière plus sensible aux fortes concentrations (Figure 2-11, D6 ; Figure 2-16, D6), ainsi une diminution de  $I_{max}$  d'un facteur dix entraîne une réduction du prélèvement calculé d'un facteur deux. Une augmentation importante de  $K_m$  ne suffirait pas à expliquer la surestimation. Une augmentation de  $K_m$  et une diminution conjointe de  $I_{max}$  tous les deux d'un facteur 5, sous l'effet de la toxicité du Cd, pourraient corriger la surestimation dans le traitement D6 (Figure 2-16). L'augmentation de l'influx net ou la diminution de  $K_m$  ont un effet très modéré sur le calcul. Ceci confirme que le sol est le facteur limitant à ces niveaux de concentration de Cd en solution.



**Figure 2-16. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire. Chaque paramètre a varié d'un facteur 0,1 à 10.**

En dessous de la concentration toxique de Cd dans le sol ( $3 \text{ mg kg}^{-1}$ ), le modèle mécaniste a prédit avec précision le prélèvement de Cd par le maïs pour des temps de culture courts. Cela suggère qu'il n'est pas nécessaire de formaliser d'autres processus dans ces conditions expérimentales. Comme il a été observé pour les éléments en traces (Mullins *et al.*, 1986 ; Adhikari et Rattan, 2000 ; Sadana et Claassen, 2000), les facteurs d'entrée du modèle les plus influents sont les paramètres liés au sol :  $C_{li}$ ,  $b$ , et dans une moindre mesure  $D_e$ . L'adéquation du modèle avec le prélèvement mesuré valide donc la méthode de centrifugation utilisée pour la mesure de la concentration initiale de Cd en solution ainsi que l'utilisation du  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  pour estimer  $Q_{Cd}$ . La surestimation du prélèvement de Cd trouvée par Mullins *et al.* (1986) pourrait résulter d'un pouvoir tampon élevé calculé grâce au Cd échangeable au DTPA ou bien d'une mauvaise estimation des paramètres d'absorption racinaire. Les solutions salines non tamponnées, et en particulier la solution de  $\text{CaCl}_2$ , sont connus pour estimer correctement la fraction disponible des éléments en trace du sol (Lee,

1993 ; Lebourg *et al.*, 1996 ; Peijnenburg *et al.*, 2000). La pertinence de ces réactifs a été particulièrement démontrée grâce à des fortes corrélations entre les concentrations en solution d'éléments en traces extraits du sol avec les concentrations mesurées dans les plantes. Cette étude suggère donc que l'extraction au  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  fournisse une estimation du facteur quantité du Cd suffisamment précise pour être utilisée dans une description mécaniste des transferts sol-plante. Toutefois, cela est en contradiction avec l'appréciation qui en est faite ci-après dans le cas du tabouret calaminaire.

#### 4.4. Simulation du prélèvement de Cd par le tabouret calaminaire

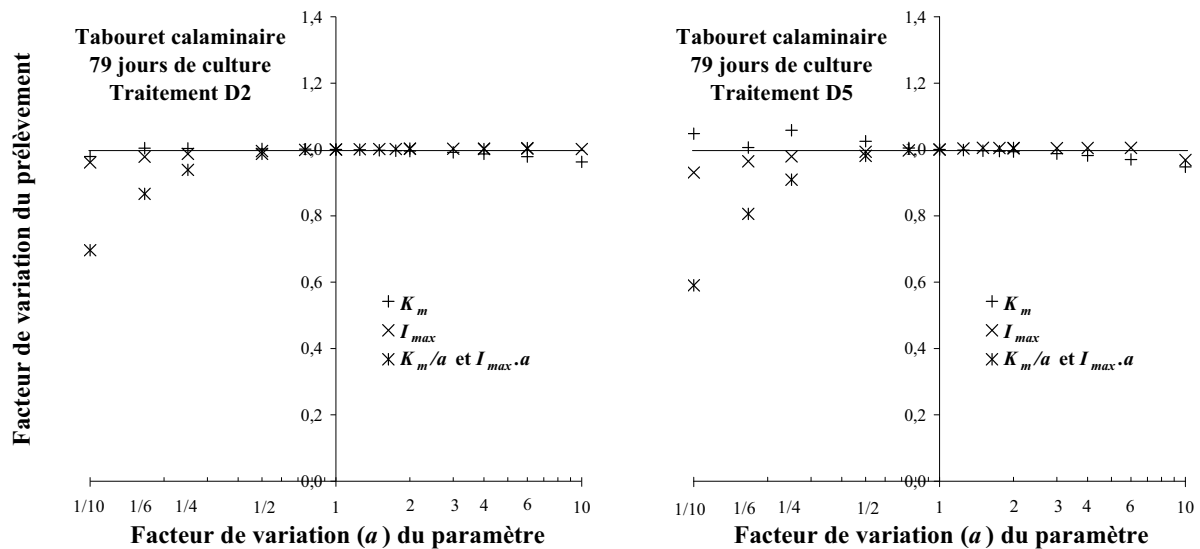
Les concentration de Cd mesurées dans notre étude sont en accord avec les données fournies par Reeves *et al.* (2001). Les concentrations foliaires dans le tabouret calaminaire (écotype Vivez) trouvées dans leur étude égalaient en moyenne  $795 \text{ mg kg}^{-1}$  dans des sols fortement contaminés (28 à  $578 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Environ 45 % des spécimens avaient un contenu supérieur à  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Le prélèvement simulé était plus de dix fois inférieur à celui mesuré. Alors que le maïs a prélevé au maximum 8 % de  $Q_{Cd}$  estimé par l'extraction au  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , le tabouret a puisé en moyenne 90 % de cette quantité. Aux faibles niveaux de contamination ( $Cd_C \leq 2 \text{ mg kg}^{-1}$ ), le prélèvement du tabouret était supérieur à la quantité  $Q_{Cd}$  estimée par extraction du sol au  $\text{CaCl}_2$  (Tableau 2-6). Il est donc fortement probable que le facteur quantité ait été sous-estimé. Par ailleurs, les résultats publiés décrivant les valeurs 'L' et 'E' ne montrent pas d'effet rhizosphérique clair du tabouret calaminaire sur le compartiment labile de Cd ('L'), en particulier sur les sols acides où les résultats sont contradictoires (Gérard, 2000 ; Hutchinson *et al.*, 2000 ; Sterckeman *et al.*, 2005). Knight *et al.* (1997) suggèrent toutefois que l'hyperaccumulateur puisse mobiliser le Cd et le Zn grâce à des exsudats racinaires. Pour corriger la sous-estimation du prélèvement calculé par le modèle et permettre une bonne corrélation entre les prélèvements simulé et mesuré, il est nécessaire d'augmenter les valeurs de pouvoir tampon d'un facteur 15 par rapport à celles calculées avec l'extraction au  $\text{CaCl}_2$ , (Tableau 2-10). Toutefois, ceci conduit à une aberration puisque dans ce cas les valeurs de  $Q_{Cd}$  deviennent supérieures au Cd total du sol. Il est donc probable que le pouvoir tampon ait été sous-estimé et la demande de la plante également. Par ailleurs, les études de Boominathan et Doran (2003a) et de Nedelkoska et Doran (2000) montrent l'importance des poils absorbants pour l'hyperaccumulation du cadmium. La longueur racinaire est un paramètre très sensible dans le modèle, et nécessiterait que les poils absorbants soient pris en compte.

La corrélation entre les prélèvements simulés et mesurés est plus faible que celle observée dans le cas du maïs. Ceci suggère qu'une partie de la variance résiduelle soit attribuée aux facteurs génétiques de la plante sauvage. Certains individus des traitements les plus contaminés ont absorbé des quantités moindres de Cd, par rapport à d'autres qui se sont développés sur des sols moins contaminés. Le Tableau 2-6 et la Figure 2-10 montrent que le prélèvement de Cd du tabouret calaminaire varie à l'intérieur d'un même traitement d'une plante à l'autre. En faisant cette hypothèse cela signifie que pour réduire la variabilité dans la régression, il est nécessaire de mesurer les paramètres de la cinétique d'absorption pour chaque plant. Ces mesures ne sont pas possibles directement et doivent donc passer par la mesure de paramètres intermédiaires.

**Tableau 2-10. Valeurs moyennes pour chaque traitement des pouvoirs tampon calculés pour permettre de corrélérer le prélèvement simulé au prélèvement mesuré du tabouret calaminaire, ainsi que les facteurs quantité correspondants.**

Traitement	$b$ calculé moyen	$Q_{Cd}$ mg kg <sup>-1</sup>	$Q_{Cd}$ % du total
T	312	0,39	301,9
D1	693	4,81	746,7
D2	295	5,11	440,7
D3	174	6,28	294,7
D4	185	10,90	273,8
D5	201	16,32	321,3
D6	82	9,36	148,1
<b>moyenne</b>	<b>277</b>		<b>361</b>



**Figure 2-17. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le tabouret calaminaire pour les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire. Chaque paramètre a varié d'un facteur 0,1 à 10.**

Les paramètres de la cinétique d'absorption ont été repris des travaux de Lombi *et al.* (2001) concernant la population de tabouret calaminaire (écotype Ganges). Les auteurs montrent également les variations de ces paramètres d'une population à une autre. L'influx net maximum  $I_{max}$  était 5 fois supérieur dans la population Ganges par rapport à la population Prayon. Lasat *et al.* (1996) donne un  $K_m$  dix fois supérieur à la valeur proposée par Lombi *et al.* (2001) pour la même population de Prayon. Ceci suggère une variation du paramètre d'affinité soit à l'intérieur d'une même population soit en rapport avec les conditions expérimentales. De plus, d'après Schwartz (1997), la population de Viviez semble accumuler près de dix fois plus que la population de Prayon. Il est donc probable que les paramètres



utilisés soient mal adaptés pour la population utilisée dans notre étude. Ainsi une mauvaise estimation des paramètres de cinétique d'absorption racinaire pourrait expliquer une partie de la variance résiduelle de la corrélation entre les prélèvements simulé et mesuré par l'hyperaccumulateur. Néanmoins ils ne peuvent pas expliquer à eux seuls une sous-estimation d'un facteur dix du prélèvement. En effet, la Figure 2-17 montre que ni l'augmentation de  $I_{max}$  ni la diminution de  $K_m$  ne font augmenter significativement le prélèvement calculé. Ceci semble confirmer de nouveau que l'offre du sol soit nettement sous-estimée.

## 5. Conclusion partielle

La sensibilité du maïs au Cd a été mise en évidence par des diminutions significatives de biomasse et de longueurs racinaires sous l'effet des doses croissantes de Cd. Le prélèvement semble ralentir nettement pour les traitements D5 et D6, notamment après 24 jours de culture. Le prélèvement de Cd par le maïs semble correctement simulé ( $r^2 \geq 0,9$ ) pour des temps courts et sur une gamme de sols non toxiques pour la plante. Toutefois, nous avons observé que le tabouret calaminaire prélevait en moyenne 90 % de la quantité mesurée par l'extraction au  $\text{CaCl}_2$  et parfois même plus, ce qui suggère d'évaluer le Cd biodisponible par d'autres méthodes que le  $\text{CaCl}_2$ . Le pouvoir tampon a probablement été sous-estimé pour la modélisation du prélèvement des deux plantes.

Lorsque le sol contenait plus de  $3 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ , une phytotoxicité s'est exprimée chez le maïs par une chute de 25 % de la biomasse des plants âgés de 24 jours et par un ralentissement du prélèvement de cadmium, qui n'a pas été prédit par le modèle. Ce second mécanisme semblerait induit par une modification de la cinétique d'absorption racinaire de maïs. L'étude de la cinétique de prélèvement racinaire de maïs dans des conditions de concentrations toxiques de Cd est donc nécessaire pour tester cette hypothèse. Ceci fera l'objet du chapitre 4.

Compte tenu de la sous-estimation du pouvoir tampon, il n'est pas étonnant que le modèle ait sous-estimé le prélèvement réel par le tabouret d'un facteur dix en moyenne. Toutefois l'augmentation du facteur capacité n'est pas suffisante pour que le modèle simule correctement le prélèvement de la plante. Il semble donc que la demande de la plante soit également sous-estimée. D'autre part les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire de Cd devraient être mesurés pour la population de notre étude ainsi que leur variabilité d'un individu à l'autre afin de mieux tenir compte de la variabilité génétique de la plante.

La sensibilité du calcul du prélèvement par le modèle, selon les variations des différents paramètres d'entrée, suggère que les méthodes de détermination de ces paramètres doivent être choisies avec la plus grande attention. Il convient en particulier d'utiliser des méthodes qui simulent au mieux les processus à décrire et d'effectuer les mesures dans des conditions expérimentales qui soient les plus proches de celles simulées. Il est difficile à ce stade de savoir si les mécanismes formalisés dans le modèle de Barber-Cushman peuvent convenir pour décrire le prélèvement du Cd. En effet, il apparaît que le pouvoir tampon du sol n'ait pas été correctement évalué. Nous tenterons dans le chapitre suivant d'évaluer ce paramètre à travers différentes méthodologies.



# Chapitre 3. Evaluation du pouvoir tampon du sol vis-à-vis du cadmium

## 1. Introduction

L'approche modélisatrice que nous avons adoptée consiste à identifier et décrire mathématiquement deux principaux types de processus. D'une part, ceux responsables de la modification des équilibres solide/solution par diminution de la concentration de l'élément dans la solution du sol : c'est principalement l'activité d'absorption des racines, les modifications des conditions physico-chimiques par les racines et les microorganismes étant négligées. D'autre part, ce sont les processus, principalement de nature physico-chimique qui tendent à restaurer la concentration en solution. Ces derniers processus sont caractérisés par le coefficient de diffusion et le pouvoir tampon du sol (facteur Capacité) (Barber et Cushman, 1981).

Nous avons vu dans le chapitre 2 qu'un élément comme le Cd, présent en faible quantité dans la solution, était rapidement absorbé par les racines. Les paramètres qui contrôlent la fourniture de l'élément à la racine influencent donc nettement le prélèvement. Le facteur Capacité est un paramètre très sensible dans le calcul du prélèvement par le modèle. Plusieurs études ont démontré cela tant pour des éléments majeurs (Claassen *et al.*, 1986) que pour des oligo-éléments (Silberbush et Barber, 1983b) ou même pour le Cd (Mullins *et al.*, 1986 ; Wu, 1989). Nous avons observé précédemment que le prélèvement simulé de Cd par le tabouret calaminaire était sous-estimé d'un facteur dix en moyenne (Figure 2.10). Dans ce cas, les quantités absorbées par la plante étaient parfois supérieures au Cd labile du sol ( $Q_{Cd}$ ), lorsque celui-ci était estimé par une extraction au  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ . Ceci nous a suggéré que le pouvoir tampon était mal estimé.

Ce dernier est défini comme la dérivée de la teneur en métal adsorbé sur la phase solide (facteur Quantité,  $Q$ ) par rapport à la teneur en solution (facteur Intensité,  $I$ ), soit d'après Barber et Cushman (1981) :

$$\text{Eq 3.1 : } b = \frac{\partial Q}{\partial I}$$

Cette expression peut être simplifiée en étant linéarisée. Le pouvoir tampon est alors défini par le rapport de la concentration par unité de volume de sol du Cd labile du sol, incluant celui en solution ( $Q_{Cd}$ , le facteur Quantité,  $\text{mg L}^{-1}$ ) divisé par la concentration de Cd en solution ( $C_{liv}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$  de solution), soit :

$$\text{Eq 3.2 : } b = \frac{Q_{Cd}}{C_{liv}}$$

De nombreuses méthodes ont permis d'évaluer le Cd labile, c'est-à-dire le Cd susceptible d'être déplacé du sol vers la solution et qui est donc potentiellement absorbable par les plantes (Duquene, 2003 ; Krishnamurti *et al.*, 1995a ; Lee et Zheng, 1994 ; Nolan *et al.*, 2005 ; Sterckeman, 2000). Nous évaluerons alors l'influence de la méthode d'estimation de  $Q$  sur le calcul du pouvoir tampon.

Dans un premier temps, le facteur capacité sera estimé à partir du Cd total ajouté ( $Cd_C$ ), et à partir du Cd extrait par différents extractants. Parmi les résultats publiés, les solutions salines non tamponnées semblent les plus adaptées pour décrire la biodisponibilité du Cd. Nous avons retenu les méthodes les plus utilisées dans le cas de sols pollués (Lebourg *et al.*, 1996) c'est-à-dire celles employant le  $\text{CaCl}_2$  0,01 et 0,001 mol  $\text{L}^{-1}$ , le  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  et le DTPA pour son pouvoir chélateur. Enfin nous évaluerons  $Q_{Cd}$  grâce aux cinétiques d'échange isotopique à 1 min. La méthode des cinétiques d'échange isotopique permettra également de mesurer le pouvoir tampon grâce au Cd labile extrapolé aux durées des cultures des deux plantes.

Par ailleurs, nous comparerons ces méthodes à celles utilisant des isothermes d'adsorption ou de désorption en vue de tester l'hypothèse de linéarité du pouvoir tampon du sol en Cd. L'isotherme d'adsorption constitue une méthode classique de mesure du pouvoir tampon (Barber, 1995), et a été peu réalisée à des valeurs basses de concentrations de Cd en solution. La courbe de désorption constitue également une approche intéressante, les désorptions successives mimant le prélèvement de la plante.

Ces différentes mesures de pouvoir tampon seront utilisées pour simuler de nouveau les prélèvements du maïs et du tabouret calaminaire.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Sol utilisé

Nous avons utilisé la même terre que dans le chapitre 2, c'est-à-dire la partie superficielle (0-7,5 cm) de l'horizon de surface d'un sol agricole (Vannecourt, 57). Nous disposons également de la terre contaminée par du sulfate de cadmium selon les sept niveaux utilisés dans cette première étude. Chaque échantillon a été séché à l'air et tamisé à 2 mm avant la réalisation des extractions chimiques, des cinétiques d'échange isotopique ou des isothermes d'adsorption et de désorption. Pour les isothermes de désorption, nous avons utilisé des échantillons de la terre contaminée initialement à 2 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$  (D3) et 7 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$ .

### 2.2. Détermination du Cd labile par extractions chimiques

La mesure du Cd labile du sol,  $Q_{Cd}$ , a été estimée par des extractions chimiques à l'aide de molécules chélatantes, de solutions salines plus ou moins concentrées permettant un échange d'ion (et parfois une complexation en solution), ainsi que par minéralisation du sol total. Les suspensions de terre ont été filtrées sur filtre en acétate de cellulose (0,02  $\mu\text{m}$ ) puis le Cd en solution a été dosé par spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite (ETAAS, Spectra AA Zeeman 220, avec correction Zeeman, Varian, Inc, Palo Alto,

California, USA) ou par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-OES, Liberty RL, Varian, Inc, Palo Alto, California, USA) selon le niveau de concentration.

### 2.2.1. Extraction du Cd total

Nous avons considéré dans un premier temps  $Q_{Cd}$  comme la quantité totale de Cd du sol,  $Cd_T$ , comme indiqué par Steingrobe *et al.* (2000) pour un sol fertilisé par K. La quantité de Cd du sol a été dosée après incinération des terres à 450 °C puis minéralisation par HF et HClO<sub>4</sub> (ISO, 2001).

### 2.2.2. Extractions modérées

Le compartiment du Cd assimilable a également été estimé par extraction du Cd du sol par des chélateurs ou des sels échangeurs (Tableau 3-1) :

- Extraction au DTPA (ISO, 2002 ; Lindsay et Norwell, 1978), également utilisée par Mullins *et al.* (1986) pour déterminer le Cd labile.
- Extraction au CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> et 0,001 mol L<sup>-1</sup>, proposée par Novozamsky *et al.* (1993) et adaptée par Lebourg *et al.* (1998).
- Extraction au NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> proposée par Symeonides et McRae (1977) et adaptée par Lebourg (1996).

**Tableau 3-1. Description des protocoles d'extraction adoptés.**

	DTPA (TEA, CaCl <sub>2</sub> , DTPA)	CaCl <sub>2</sub> 0,01 mol L <sup>-1</sup>	CaCl <sub>2</sub> 0,001 mol L <sup>-1</sup>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 1 mol L <sup>-1</sup>
Prise d'essai	10 g	5 g	5 g	10 g
Volume de solution	20 ml	50 ml	50 ml	25 ml
Agitation (20°C)	2 h (15 tr min <sup>-1</sup> )	2 h (15 tr min <sup>-1</sup> )	2 h (15 tr min <sup>-1</sup> )	2 h (15 tr min <sup>-1</sup> )
Centrifugation	10 min à 3000 g	10 min à 3000 g	10 min à 3000 g	10 min à 1500 g
Filtration	0,02 µm	0,02 µm	0,02 µm	0,02 µm
Acidification	1 % HNO <sub>3</sub>	1 % HNO <sub>3</sub>	1 % HNO <sub>3</sub>	1 % HNO <sub>3</sub>

## 2.3. Evaluation du Cd disponible par la méthode des cinétiques d'échange isotopique

Le compartiment labile a également été estimé par des cinétiques d'échange isotopique. Cette méthode a été mise au point pour le Cd par Gérard (2000). Elle consiste à marquer la solution du sol avec du <sup>109</sup>Cd<sup>2+</sup>, et de mesurer, à différents temps, la quantité de <sup>109</sup>Cd en solution, c'est à dire sa disparition par échange avec le Cd froid adsorbé.

Des suspensions de terre sont réalisées, pour chaque traitement, en introduisant 25 g de terre dans 49 ml d'eau ultra-pure et sont agitées par retournement pendant 20 h afin d'atteindre l'équilibre chimique et une concentration constante de Cd<sup>2+</sup> en solution. Un

millilitre d'une solution de  $^{109}\text{Cd}^{2+}$  avec une activité de 530 Bq est injecté au temps  $t_0$  dans la suspension agitée par un barreau aimanté. Plusieurs aliquotes de la solution sont prélevées à l'aide d'une seringue après 1, 4, 10 et 40 minutes et filtrées immédiatement sur des filtres en nitrate de cellulose de porosité 0,025  $\mu\text{m}$  (Schleicher & Schuell). La radioactivité en solution est mesurée par  $\gamma$ -spectrométrie.

La radioactivité totale introduite au temps  $t_0$  est mesurée en prenant en compte la quantité de  $^{109}\text{Cd}^{2+}$  adsorbée sur le matériel. Pour cela, une solution témoin est préparée à partir d'une suspension de 50 g de terre dans 99 ml d'eau ultra-pure. La suspension est agitée pendant 20 h, puis centrifugée à 5 000 g pendant 20 min et filtrée sur des filtres en nitrate de cellulose (porosité de 0,025  $\mu\text{m}$ ) de manière à obtenir 49 ml de solution. Un millilitre de la solution source de  $^{109}\text{Cd}^{2+}$  est introduit dans cette solution et quelques millilitres sont prélevés et filtrés après les mêmes temps d'échange que précédemment.

Le même protocole sans  $^{109}\text{Cd}$  (rapport terre/eau =  $\frac{1}{2}$ , agitation, centrifugation et filtration) est utilisé pour évaluer la concentration de Cd dans la phase aqueuse de la suspension de sol qui sera dosée en spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite.

La radioactivité en solution diminue au cours du temps  $t$  selon la relation suivante Fardeau *et al.* (1985) :

$$\text{Eq 3.3 : } \quad \frac{r(t)}{R_s} = \left( \frac{r(1)}{R_s} \right) \left[ t + \left( \frac{r(1)}{R_s} \right)^{\frac{1}{n}} \right]^{-n} + \frac{r(\infty)}{R_s},$$

où  $R_s$  est la radioactivité totale introduite dans la suspension (Bq),  $r(t)$  la radioactivité restante (Bq) en solution au temps  $t$  (min). La dilution maximale de l'isotope ajouté,  $\frac{r(\infty)}{R_s}$ , est approximée de la façon suivante (Fardeau, 1993) :

$$\text{Eq 3.4 : } \quad \frac{r(\infty)}{R_s} = \frac{Cd_s}{Cd_T},$$

où  $Cd_s$  est la quantité de  $\text{Cd}^{2+}$  stable dans la solution (en mg Cd  $\text{kg}^{-1}$  terre) et  $Cd_T$  la concentration totale de Cd dans le sol (mg  $\text{kg}^{-1}$ ). Les paramètres  $\frac{r(1)}{R_s}$  et  $n$  ont été estimés

grâce à une régression linéaire entre  $\log\left(\frac{r(1)}{R_s}\right)$  et  $\log(t)$  pendant les 40 premières minutes de l'échange isotopique (Fardeau *et al.*, 1985). Suivant le rapport terre/eau utilisé, la valeur de  $Cd_s$  vaut :

$$\text{Eq 3.5 : } \quad Cd_s = \frac{V_{\text{eau}}}{m_{\text{terre}}} \times C_{Cd}$$

avec  $C_{Cd}$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ), la concentration de Cd dans la phase aqueuse de la suspension et  $m_{terre}$ , la masse de terre. Cette méthode repose sur l'hypothèse que l'élément stable a le même comportement que l'isotope radioactif dans le système, et que quel que soit le temps  $t$ , l'activité spécifique des ions dans la solution du sol est identique à celle des ions échangés isotopiquement dans le système terre/solution. Le facteur quantité ( $Q_{Cd}$ ), considéré comme le compartiment de  $\text{Cd}^{2+}$  isotopiquement échangeable après un temps  $t$ , est calculé pour chaque temps de culture en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Eq 3.6 : } Q_{Cd} = E(t) = Cd_s \frac{R_s}{r(t)} = 2C_{Cd} \frac{R_s}{r(t)}.$$

Nous avons donc pu calculer, grâce à cette modélisation de  $r(t)/R_s$ , la quantité isotopiquement échangeable,  $E(t)$  pour le temps d'une culture végétale. Le facteur Quantité  $Q_{Cd}$  a ainsi été déterminé pour  $t = 12$  j et  $t = 24$  j, correspondant aux temps de culture du maïs, et  $t = 79$  j, temps de culture du tabouret.

Le pouvoir tampon est alors calculé de la manière suivante :

$$\text{Eq 3.7 : } b_{CEI}(t) = \frac{E(t)}{Cd_s} = \frac{R_s}{r(t)}.$$

La valeur  $b_{CEI}(t)$  a été calculée pour  $t$  correspondant aux temps de culture et pour  $t = 1$  min, ce temps étant celui qui, dans le cas du phosphore permet la meilleure appréciation du pouvoir tampon (Fardeau, 1981).

Enfin, le facteur capacité ( $b$ ) a également été estimé par la formule suivante, proposée par Fardeau (1993) pour P et adaptée par Echevarria *et al.* (1998) pour Ni :

$$\text{Eq 3.8 : } b = \frac{E(1 \text{ min})}{C_{Cd}} \text{ (L kg}^{-1}\text{)}.$$

## 2.4. Isothermes d'adsorption et de désorption du Cd

### 2.4.1. Détermination du temps d'équilibre

Dans un premier temps, nous avons voulu déterminer la durée nécessaire pour qu'un équilibre s'établisse entre les quantités de Cd dans les phases solide et liquide des suspensions de sol.

Des suspensions de 4 g de sol dans 10 ml de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,01 mol  $\text{L}^{-1}$  (rapport 1 : 2,5) ont été préparées et différenciées en trois traitements (Filius *et al.*, 1998). Ces derniers correspondent, selon l'ajout de sulfate de cadmium ( $3(\text{CdSO}_4) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), à des concentrations finales dans la suspension de 0 – 0,5 – 100  $\mu\text{mol Cd L}^{-1}$ .

Les suspensions ont été agitées par rotation (15 t/min) à 20 °C pendant des temps croissants : 10 min – 30 min – 2 h – 10 h – 24 h – 48 h – 5 j puis centrifugées à 2 500 g pendant 4 minutes et enfin filtrées sur disques en acétate de cellulose (Sartorius, 0,02 $\mu\text{m}$ ).

Pour chaque temps d'équilibre, nous avons effectué 4 répétitions. Le Cd dans les solutions a été déterminé par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite ou en spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif.

#### 2.4.2. Adsorption du Cd

##### 2.4.2.1. Adsorption du Cd à partir d'une solution de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

L'adsorption du cadmium a été déterminée par la méthode décrite précédemment après une agitation de 2 heures. Le cadmium a été ajouté sous forme de sulfate de cadmium pour obtenir les niveaux suivants de Cd en solution : 0 – 0,1 – 0,5 – 1 – 5 – 10 – 50 – 100 – 500 – 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Chaque niveau de concentration a été répété 5 fois. Les échantillons ont été centrifugés, filtrés, et les extraits ont été dosés par spectrométrie.

##### 2.4.2.2. Adsorption du Cd à partir d'une solution d'eau ultra-pure

Une adsorption à l'eau a également été réalisée pour se rapprocher des conditions au champ. Ainsi les quantités suivantes ont été ajoutées au sol : 0 – 0,5 – 1 – 2 – 3 – 5 – 7 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$ . Le sol est resté à la capacité au champ durant 3 semaines d'incubation, puis nous avons appliqué la méthode de Adams (1974) pour mesurer la concentration de Cd en solution pour chaque niveau de contamination du sol.

#### 2.4.3. Désorption du Cd

##### 2.4.3.1. Désorption dans $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

La désorption du Cd du sol a été déterminée par la répétition de la séquence suivante : mise à l'équilibre des suspensions de terre, suivi du prélèvement intégral de la solution et du remplacement de la solution (Gray *et al.*, 1998). Cette séquence a été répétée 50 fois à partir de deux échantillons.

Ces suspensions de terre (5 g dans 20 ml) ont été préparées avec une solution de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  à 0,01 M, et agitées durant 1 h à 20 °C (Gray *et al.*, 1998). Chaque échantillon a alors été centrifugé à 2500 g pendant 4 minutes. Puis le surnageant a été prélevé à l'aide d'une seringue, filtré à 0,02  $\mu\text{m}$ , pesé et analysé en spectrométrie d'absorption atomique. Le culot de terre a été remis en suspension dans du  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  à 0,01 M dans le rapport sol/solution initial. Il a été vérifié que la perte de terre à la fin des désorptions successives ne dépassait pas 3 %.

Nous avons expérimenté deux niveaux de contamination du même sol selon l'ajout initial de  $\text{Cd}(\text{SO}_4)$  : D3 = 2 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$  et D6 = 7 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$ . Par ailleurs, trois temps de mise à l'équilibre du sol avec le Cd ont été testés : 2 h, 3 semaines et 2 ans et demi.

##### 2.4.3.2. Désorption dans $\text{CaCl}_2$

Afin de mesurer l'influence de l'extractant sur l'allure de la désorption, les désorptions du Cd ont été effectuées dans les mêmes conditions que précédemment avec une solution de  $\text{CaCl}_2$  0,01 M. Dans ce cas, le nombre de désorptions successives a été limité à 30, à partir de trois échantillons de la terre contaminée 2,5 ans auparavant.



## 2.4.4. Analyse statistique

Les données ont été traitées statistiquement par des analyses de variances (ANOVA) et par comparaisons des moyennes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ) grâce au logiciel Statbox<sup>®</sup> 6.4.

## 2.4.5. Détermination du pouvoir tampon

Différentes définitions du terme pouvoir tampon, basées sur la mesure d'isothermes d'adsorption ou de désorption, ont été proposées dans la littérature (Van Rees *et al.*, 1990) : (I) la quantité d'ion diffusible (sorbé et en solution) par unité de volume de sol nécessaire pour augmenter la concentration en solution d'une unité (Eq 3.9) (Nye, 1966 ; Claassen et Barber, 1976), ou (II) la relation entre la variation des concentrations des ions sorbés sur la phase solide et celles des ions en solution (Eq 3.10) (Mullins *et al.*, 1986 ; Silberbush et Barber, 1983b).

$$\text{Eq 3.9 : } b_F = \theta + \rho K_d = \frac{\partial C_T}{\partial C_l},$$

$$\text{Eq 3.10 : } b' = \rho K_d = \rho \left( \frac{\partial C_s}{\partial C_l} \right),$$

où  $b$  est le pouvoir tampon,  $\theta$  l'humidité volumique,  $\rho$  la densité apparente du sol,  $C_T$  la quantité totale d'ion diffusible (sorbé et en solution) par unité de volume de sol,  $C_l$  la concentration en solution,  $C_s$  la quantité sorbée d'ion diffusible par unité de masse de terre,  $K_d$  le coefficient de distribution de l'ion entre les phases solide et liquide ( $K_d = \partial C_s / \partial C_l$ ). Ainsi, la quantité de Cd labile correspond dans un cas au Cd sorbé sur le sol additionné du Cd en solution, dans l'autre uniquement au Cd sorbé sur le sol.

L'Eq 3.9 est préconisée pour le calcul du pouvoir tampon requis dans les modèles mécanistes pour décrire le réapprovisionnement de la solution du sol et calculer  $D_e$ , la diffusion effective (Van Rees *et al.*, 1990). L'Eq 3.10 est valide lorsque les quantités sorbées diffusibles ( $\rho K_d$ ) sont nettement supérieures à celles en solution, c'est-à-dire  $\rho K_d > 15 \times \theta$  (Van Rees *et al.*, 1990).

Les quantités de Cd sorbé étaient très nettement supérieures à celles en solution et donc les calculs de  $b_F$  et de  $b'$  étaient très proches. Nous avons donc conservé uniquement le calcul de  $b_F$ , plus en accord avec la définition de Barber. En pratique, le pouvoir tampon sera calculé par dérivation des fonctions ajustant les isothermes obtenues ( $C_T$  en fonction de  $C_l$ ). De même, nous évaluerons la linéarité du pouvoir tampon en ajustant les isothermes par une régression linéaire:

$$\text{Eq 3.11 : } b_l = \frac{C_T - c}{C_l} \quad (c, \text{ constante}).$$

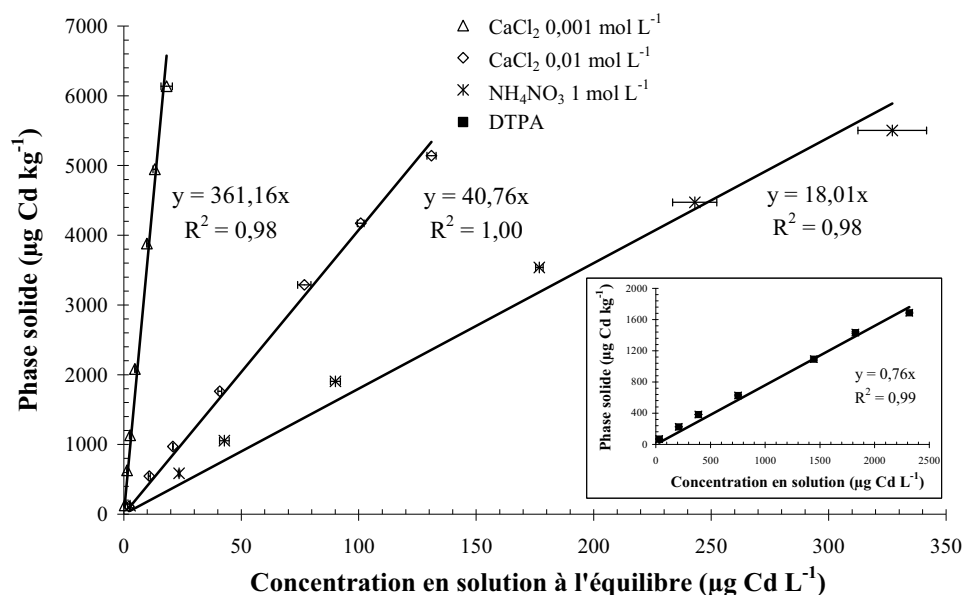
### 3. Résultats

#### 3.1. Extractions chimiques

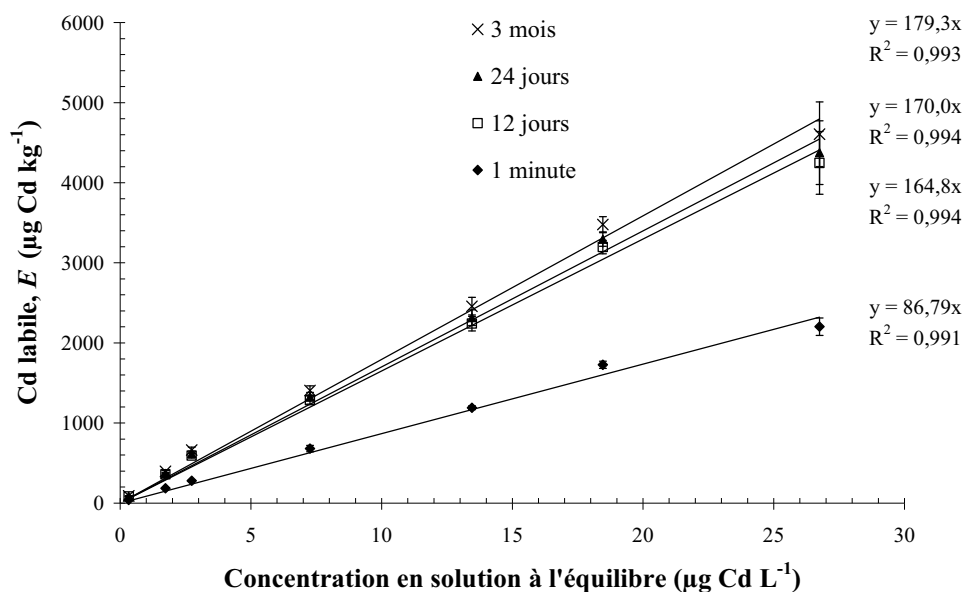
A l'équilibre, les concentrations de Cd en solution étaient proportionnelles aux concentrations de Cd dans le sol (Figure 3-1). Les quantités extraites par le DTPA dépassaient les quantités restantes dans le sol. Les concentrations extraites par  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol L<sup>-1</sup> étaient en moyenne neuf fois supérieures à celles extraites par le  $\text{CaCl}_2$  0,001 mol L<sup>-1</sup>. Les quantités extraites par le  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol L<sup>-1</sup> étaient 60 % supérieures à celles extraites au  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 mol L<sup>-1</sup>, bien que les concentrations dans la phase aqueuse fussent supérieures avec cet extractant (en raison d'un rapport sol/solution plus élevé) pour un même niveau de contamination du sol (Figure 3-1).

#### 3.2. Cinétiques d'échange isotopique

Les cinétiques d'échange isotopique évaluent le compartiment de Cd isotopiquement échangeable au cours du temps,  $E(t)$ , qui est assimilé au Cd labile. La corrélation entre le Cd labile et le cadmium total pour chaque modalité de sol, est hautement significative ( $r^2=0,995$ ). Le Cd labile en une minute représente le tiers du Cd total et la moitié du Cd disponible durant les différentes cultures (Figure 3-2). En 3 mois, nous pouvons considérer que plus de 69 % (CV = 9,5 %) du cadmium est labile quelque soit le niveau de contamination. Les quantités estimées après 12 j, 24 j ou 3 mois n'étaient pas sensiblement différentes.



**Figure 3-1.** Relations à l'équilibre entre les quantités de Cd en solution et les quantités résiduelles sur la phase solide, après extraction par les différents extractants ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  et DTPA). Les segments horizontaux représentent deux écarts types.



**Figure 3-2. Relations entre les concentrations de Cd labile pour les différentes modalités de sol et les concentrations de Cd en solution. Les valeurs de  $E$  ont été calculées après 1 minute d'échange isotopique et ont été extrapolées pour les temps correspondants à la durée des cultures de maïs et de tabouret. Les segments verticaux représentent deux écarts types.**

### 3.3. Isothermes

#### 3.3.1. pH et temps d'équilibre

Le pH à l'eau pour le sol de Vannecourt est de 5,7. Les pH des suspensions dans le  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  réalisées pour la mesure d'adsorption avoisinaient pH 5,8 ( $\pm 0,06$ ) quel que soit les quantités de Cd en solution. Les pH des suspensions réalisées pour la mesure des désorptions étaient similaires pour les deux extractants. Au cours des désorptions successives, les pH mesurés avaient légèrement diminués jusqu'à des valeurs de 5,5 environ (après 50 désorptions). Les forces ioniques des solutions de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  et de  $\text{CaCl}_2$  à 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$  étaient du même ordre de grandeur (0,030 et 0,031 mol  $\text{L}^{-1}$  respectivement) que celle de la solution du sol après équilibre dans les conditions naturelles (entre 0,027 et 0,034).

Les isothermes d'adsorption n'ont de sens que si un état d'équilibre chimique entre phase solide et phase liquide est atteint. La détermination préalable de la cinétique d'adsorption est donc indispensable. Les concentrations dans les suspensions n'évoluaient plus significativement après deux heures d'agitation (Figure 3-3). Quels que fussent les ajouts de Cd en solution, nous avons donc réalisé les isothermes d'adsorption après deux heures d'équilibre.

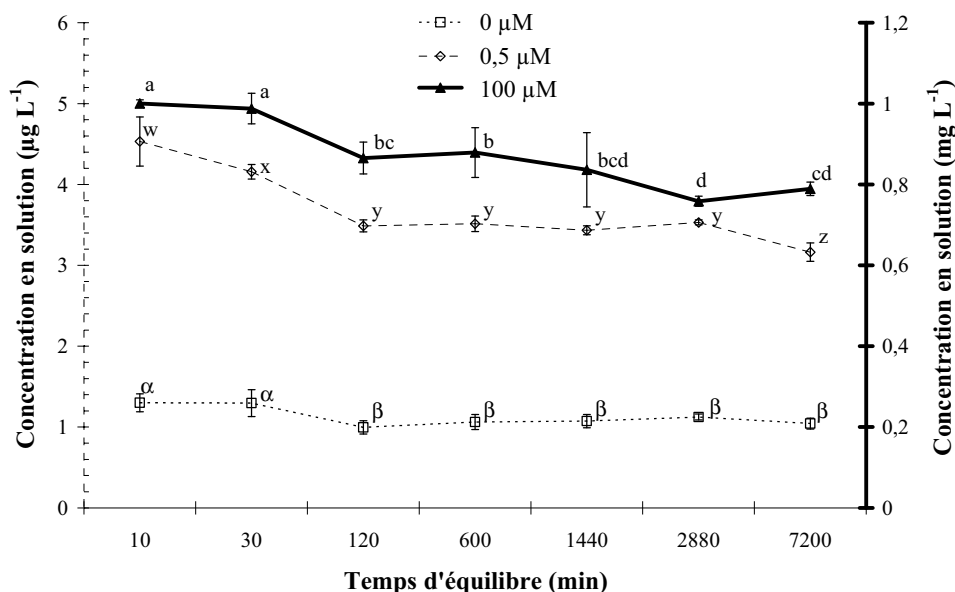


Figure 3-3. Evolution des concentrations de Cd dans  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  pour différents temps de mise à l'équilibre des suspensions de sol et selon trois ajouts de Cd en solution ( $0 - 0,5 - 100 \text{ µmol L}^{-1}$ ). Les segments verticaux représentent deux écarts types. Les points suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (Newman-keuls,  $\alpha = 5 \%$ )

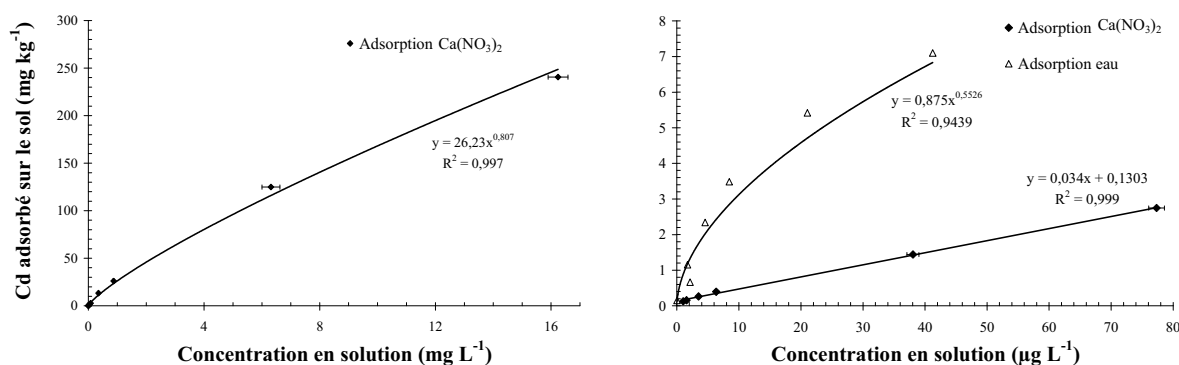
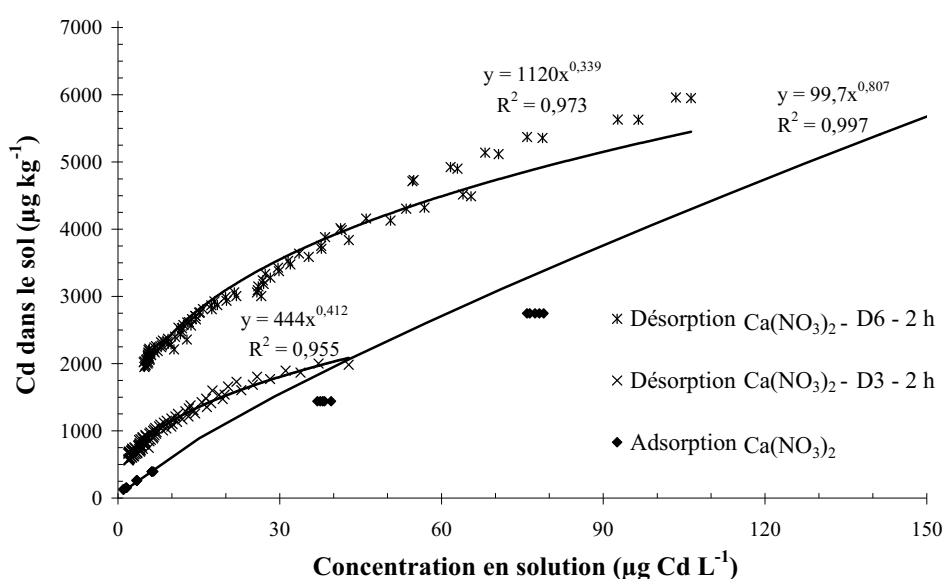


Figure 3-4. Isotherme d'adsorption dans l'eau (à droite) et dans  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  sur une large gamme de contaminations en Cd (à gauche) et aux basses concentrations (à droite). Les segments horizontaux représentent deux écarts types.

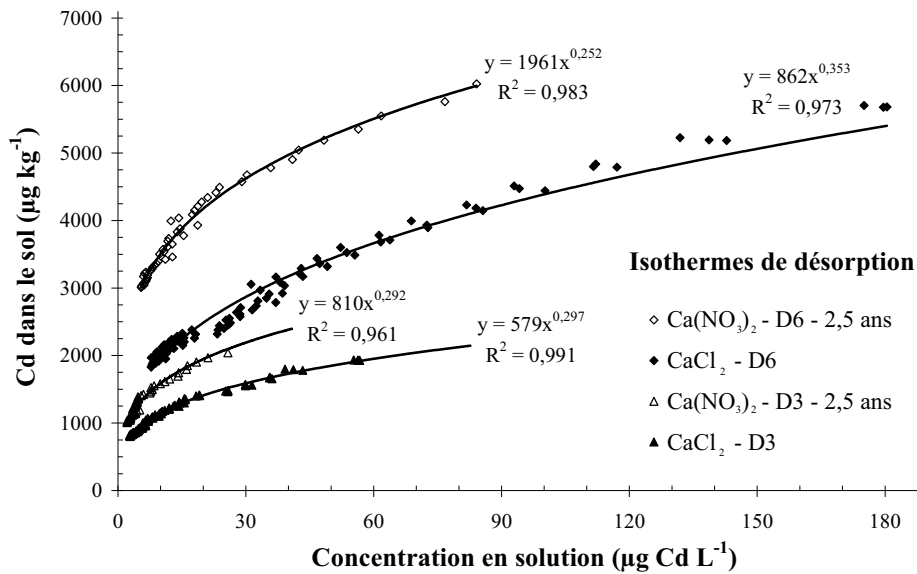
### 3.3.2. Adsorption du Cd sur le sol

Une isotherme d'adsorption du cadmium à partir d'une solution de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a été réalisée sur une large gamme de contaminations. Les données ont pu être modélisées par une isotherme de Freundlich (Figure 3-4-gauche). Toutefois, l'isotherme présentait une allure linéaire dans les basses concentrations ( $0-100 \text{ µg L}^{-1}$ , Figure 3-4-droite). L'ordonnée à l'origine correspond à la quantité de Cd de la phase solide qui ne serait pas désorbable.

Les quantités de Cd adsorbé sur le sol représentaient 91 % en moyenne de l'ajout en solution. Toutefois une partie du Cd présent dans la terre avant sa mise en suspension (Cd résiduel) a été désorbé en solution, ce qui a eu pour effet de sous-estimer le calcul des quantités de Cd sorbé aux basses concentrations, c'est-à-dire pour les trois premiers niveaux d'ajout (0,1 – 0,5 – 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). En considérant que la quantité désorbée de Cd résiduel (estimée d'après la modalité sans ajout de Cd) a été identique pour tous les niveaux, le Cd sorbé dépasserait 95 % de l'ajout aux faibles concentrations en solution. Les valeurs de coefficient de distribution ( $K_d$ , Cd sorbé sur le sol divisé par le Cd dans la solution à l'équilibre) mesurées durant l'expérience d'adsorption s'étaient entre 15 et 123  $\text{L kg}^{-1}$  en fonction des ajouts de 0 à 1000  $\mu\text{mol Cd L}^{-1}$ . Lorsque l'adsorption a été réalisée dans l'eau, plus de 99 % du Cd a été fixé par la phase solide. Les données ont pu également être modélisées par une isotherme de Freundlich (Figure 3-4)



**Figure 3-5. Isothermes d'adsorption et de désorption réalisées deux heures après la contamination des sols par le Cd.**



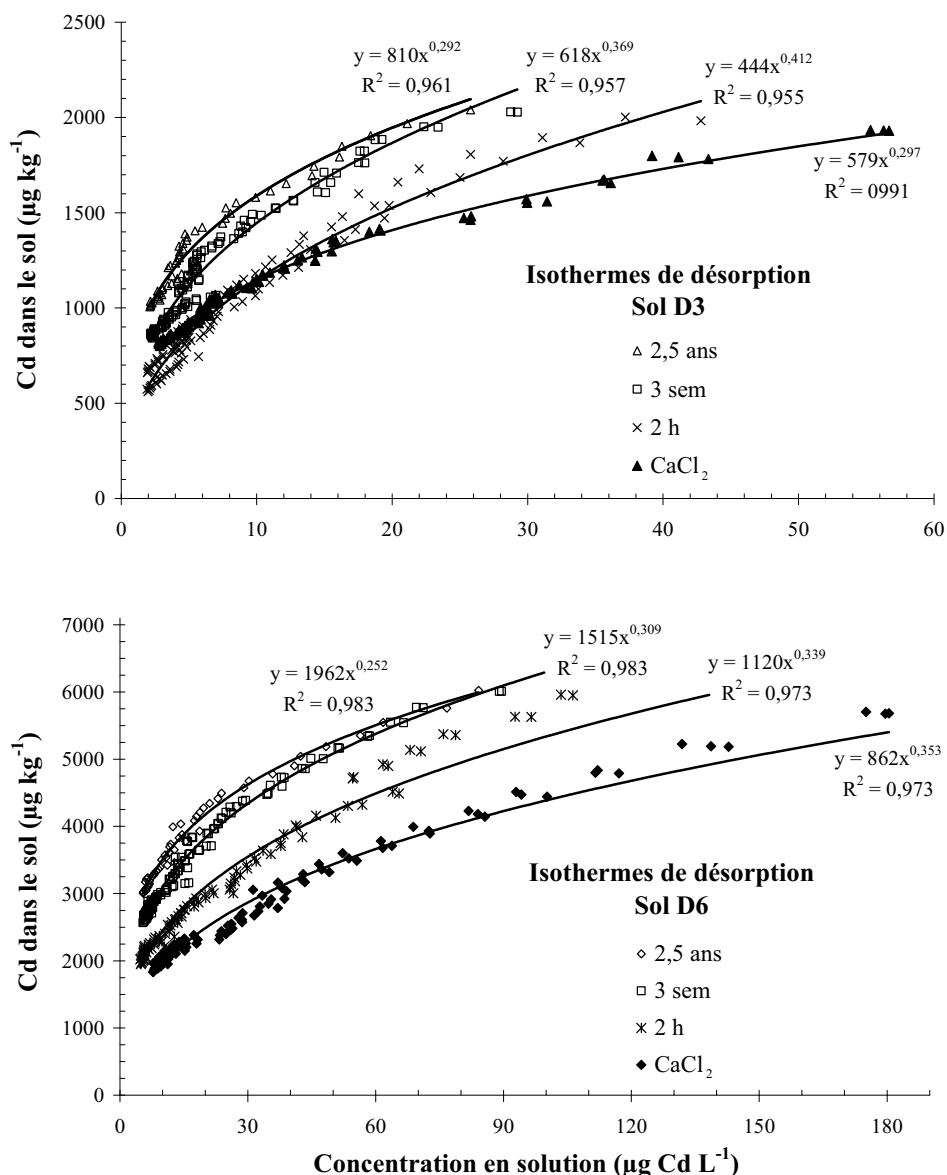
**Figure 3-6. Isothermes de désorption pour les sols D3 (2,1 mg Cd kg<sup>-1</sup>) et D6 (6,3 mg Cd kg<sup>-1</sup>) réalisées avec une solution de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ou une solution de CaCl<sub>2</sub>.**

### 3.3.3. Désorption du Cd

Une hystérésis apparaissait entre les isothermes de désorption réalisées sur les sols D3 et D6 et l'isotherme d'adsorption avec la solution de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Figure 3-5) : le  $K_d$  était plus élevé en désorption qu'en adsorption. Pour un même niveau de concentration de Cd en solution, les quantités de Cd sur la phase solide étaient nettement supérieures (jusqu'à deux fois plus) pour le sol D6 (contamination plus élevée) que pour le sol D3 (Figure 3-5, Figure 3-6).

La Figure 3-6 présente les résultats de la désorption de Cd pour les sols D3 et D6 contaminés par du Cd depuis deux ans en fonction de deux types de solution d'extraction. Après la première extraction, les quantités extraites atteignaient 9,6 % du Cd total des sols avec le CaCl<sub>2</sub> contre 4,4 % avec le Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. La désorption de Cd dans CaCl<sub>2</sub> était jusqu'à deux fois supérieure à celle réalisée dans Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Après 50 désorptions successives, les quantités de Cd extrait par le Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> restaient inférieures à celles obtenues après 30 désorptions avec le CaCl<sub>2</sub>, ceci notamment pour le sol D6.

La Figure 3-7 présente les courbes de désorption du Cd selon l'âge des contaminations pour les niveaux D3 et D6. Les quantités de Cd désorbé étaient plus importantes lorsque l'âge de la contamination de la terre était moindre. Pour les sols D3 et D6, les isothermes de désorption semblaient similaires pour des contaminations de 3 semaines et de 2,5 ans. Toutefois après 50 désorptions successives, les quantités de Cd désorbé étaient 13 % supérieures pour la contamination de 3 semaines. De même, une différence de 33 % en moyenne a été observée entre les sols contaminés depuis 2,5 ans et depuis 2 heures. Les quantités finales désorbées sont résumées dans le Tableau 3-2.



**Figure 3-7.** Isothermes de désorption pour les sols D3 ( $2,1 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ) et D6 ( $6,3 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ) réalisées avec une solution de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  après 2,5 ans, 3 semaines, ou 2 h de vieillissement.

Les données de désorption ont été décrites par des équations de Freundlich du type  $Q = K \times C^n$ , où  $Q$  est la quantité absorbée sur la phase solide ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ),  $C$  la concentration en solution ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $K$  et  $n$  des constantes empiriques. Les ajustements par l'équation de Langmuir ont fourni des coefficients de détermination légèrement inférieurs.

**Tableau 3-2. Quantités de Cd désorbé, après 30 ou 50 désorptions successives dans CaCl<sub>2</sub> ou Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> respectivement, exprimées en pourcentage du Cd total initial du sol, pour les deux niveaux de contamination testés.**

Cd ajouté au sol	Cd désorbé (% du total)			
	CaCl <sub>2</sub>	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		
	2,5 ans	2 h	3 sem	2,5 ans
D3 : 2 mg kg <sup>-1</sup>	62	71	60	53
D6 : 7 mg kg <sup>-1</sup>	70	69	59	52

**Tableau 3-3. Facteurs Quantité moyens ( $Q_{Cd}$ ) exprimés en pourcentage du Cd total du sol pour les différentes modalités de contamination du sol et déterminés par les méthodes des cinétiques d'échange isotopique ou d'extraction (CV, Coefficients de Variation, exprimés en %).**

Cd initial ajouté mg kg <sup>-1</sup>	Cd <sub>DTPA</sub>		Cd <sub>CaCl<sub>2</sub></sub> (0,01 M)		Cd <sub>CaCl<sub>2</sub></sub> (0,001 M)		Cd <sub>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></sub>	
	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV
0	45,5	12,0	14,5	26,8	2,6	76,2	4,9	8,9
0,5	62,6	0,4	14,6	3,7	2,0	1,3	8,8	1,4
1	64,4	0,2	15,6	0,6	2,2	11,0	8,9	4,8
2	68,1	0,9	16,7	1,9	2,1	2,1	10,2	2,3
3	69,8	0,9	16,7	3,7	2,4	0,8	10,7	0,9
5	69,2	0,6	17,2	1,4	2,5	5,8	11,5	3,9
7	70,7	0,3	18,0	1,5	2,8	13,2	12,5	4,5
Moyenne	64,3	2,2	16,2	5,6	2,4	15,8	9,6	3,8

Cd initial ajouté mg kg <sup>-1</sup>	E (1 min)		E (12 j)		E (24 j)		E (79 j)	
	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV	$Q_{Cd}$ , %	CV
0	29,6	3,4	60,5	3,4	62,6	3,3	66,4	3,2
0,5	27,5	1,4	53,5	3,6	55,4	3,7	59,0	3,9
1	23,2	2,3	49,1	4,9	51,1	5,1	54,9	5,4
2	30,9	5,9	58,3	3,9	60,2	4,0	63,8	4,2
3	28,8	2,0	54,2	4,1	56,0	4,2	59,5	4,4
5	32,8	2,5	60,7	2,6	62,5	2,7	66,0	2,9
7	33,6	4,9	64,8	9,2	66,7	9,1	70,3	8,8
Moyenne	29,5	3,2	57,3	4,5	59,2	4,6	62,8	4,7



### 3.4. Facteurs Quantité mesurés

Les extractions chimiques et les cinétiques d'échange isotopique, nous ont permis de déterminer le facteur Quantité ( $Q_{Cd}$ ). Celui-ci variait considérablement suivant la méthode utilisée pour le déterminer. La valeur de  $Q_{Cd}$  s'étalait de 100 % du Cd total du sol, lorsqu'il était mesuré avec  $Cd_T$  à 2,4 % en moyenne lorsqu'il était mesuré par extraction au  $CaCl_2$  0,001 M (Tableau 3-3). Parmi les extractants testés, le DTPA a engendré les valeurs de  $Q_{Cd}$  les plus élevées (jusqu'à 30 fois plus importantes par rapport aux valeurs fournies par le  $CaCl_2$  0,001). Les quantités labiles mesurées étaient classées dans l'ordre décroissant suivant :  $Cd_T > Cd_{DTPA} > E(79 \text{ j}) \approx E(24 \text{ j}) \approx E(12 \text{ j}) > E(1 \text{ min}) > Cd_{CaCl_2}(0,01 \text{ M}) > Cd_{NH_4NO_3} > Cd_{CaCl_2}(1 \text{ mM})$ .

Il est intéressant de comparer ces valeurs à celles absorbées par les plantes. Alors que les plants de maïs âgés de 12 jours et de 24 jours avaient prélevé respectivement 0,3 % et 1,3 % en moyenne du Cd total du sol, le tabouret en avait absorbé jusqu'à 19 % (Tableau 3-4).

### 3.5. Pouvoir tampon

#### 3.5.1. Détermination par extractions chimiques et cinétiques d'échange isotopique

Pour le calcul de  $b$ , nous avons utilisé les valeurs de concentration en solution,  $C_{lv}$ , obtenues par centrifugation du sol (voir chapitre 2, 2.4.1.), sauf pour les calculs des  $b_{CEI}$ , qui utilisent les valeurs de  $C_{Cd}$ . La variabilité du facteur Quantité du sol pour les diverses mesures effectuées entraînait une grande amplitude des valeurs de pouvoir tampon (Tableau 3-5). Celui-ci, calculé à partir de  $b_{CEI}(79j)$  était en moyenne 66 fois supérieur aux valeurs déterminées en utilisant  $Cd_{CaCl_2}$  1 mmol L<sup>-1</sup>.

#### 3.5.2. Détermination par les isothermes d'adsorption ou de désorption

L'adsorption et la désorption de Cd sont classiquement décrites par des isothermes de Freundlich (Christensen, 1984a ; Gray *et al.*, 1998 ; Springob *et al.*, 2001). Nous avons dérivé ces fonctions pour obtenir les valeurs de pouvoir tampon ( $b_F$ ) qui ont ensuite été représentées en fonction de la concentration en solution à l'équilibre (Figure 3-8). Les valeurs sont reportées dans le Tableau 3-6. Les pouvoirs tampons ont été intrapolés (valeurs en caractères noirs) aux teneurs de Cd dans nos différents niveaux de contamination, grâce à un ajustement entre les teneurs en solution et les pouvoirs tampons. Lorsque ces teneurs n'étaient pas observées sur les isothermes, nous les avons extrapolées (valeurs en caractères grisés) pour calculer des valeurs de pouvoir tampon. Nous avons également calculé le pouvoir tampon constant ( $b_l$ ) obtenu par régression linéaire sur l'ensemble des points des désorptions et sur les basses concentrations (0 – 80 µg Cd L<sup>-1</sup>) de l'isotherme d'adsorption (Tableau 3-6, Figure 3-8).

**Tableau 3-4. Prélèvements mesurés, par le maïs et le tabouret, exprimés en pourcentage du Cd total du sol pour les différentes modalités de contamination du sol (CV, Coefficients de Variation, exprimés en %).**

Cd initial ajouté mg kg <sup>-1</sup>	Maïs (12 j)		Maïs (24 j)		Tabouret (79 j)	
	% prélevé	CV	% prélevé	CV	% prélevé	CV
0	0,22	20,2	0,41	29,8	15,4	34,5
0,5	0,35	15,8	1,15	82,0	19,0	73,8
1	0,29	28,7	2,16	31,3	15,3	36,0
2	0,29	9,9	1,74	20,4	17,6	57,4
3	0,39	9,6	1,60	5,9	13,4	12,2
5	0,32	9,2	1,15	6,4	14,4	48,2
7	0,28	10,8	0,96	6,1	7,9	14,7
Moyenne	0,30	14,9	1,31	26,0	14,7	39,5

**Tableau 3-5. Différents calculs du pouvoir tampon adaptés selon les méthodes de détermination de  $Q_{Cd}$  pour les différentes modalités de contamination du sol.**

Pouvoir tampon	Cd initial ajouté, mg kg <sup>-1</sup>						
	0	0,5	1	2	3	5	7
$b_{CEI}$ (1 min)	71	73	65	56	66	62	51
$b_{CEI}$ (12 j)	164	124	146	121	102	101	96
$b_{CEI}$ (24 j)	170	127	152	124	104	103	99
$b_{CEI}$ (79 j)	180	134	163	131	109	108	104
$E$ (1 min)/ $C_{liv}$	37	37	21	23	30	28	24
$E$ (12 j)/ $C_{liv}$	85	62	46	49	46	46	45
$E$ (24 j)/ $C_{liv}$	88	64	48	50	48	47	46
$E$ (79 j)/ $C_{liv}$	93	67	52	53	50	49	49
$Cd_T/C_{liv}$	142	112	78	76	69	78	73
$Cd_{DTPA}/C_{liv}$	57	71	52	49	57	53	47
$Cd_{CaCl_2}(0,01\text{ M})/C_{liv}$	18	17	13	12	14	13	12
$Cd_{CaCl_2}(1\text{ mM})/C_{liv}$	3	2	2	2	2	2	2
$Cd_{NH_4NO_3}/C_{liv}$	6	10	7	7	9	9	8

Dans le cas de l'isotherme d'adsorption dans le  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , la valeur de  $b_l$  était proche de celles de  $b_F$ , sauf aux basses concentrations où  $b_F$  était légèrement supérieur. En revanche, la linéarisation du pouvoir tampon est hasardeuse dans le cas des désorptions et de l'adsorption à l'eau, étant donné les divergences entre  $b_F$  et  $b_l$  (Figure 3-8). En effet, les valeurs extrapolées variaient jusqu'à un facteur 10 par rapport aux valeurs intrapolées. L'adsorption de Cd à l'eau donne les valeurs du pouvoir tampon les plus élevées. D'une manière générale, les pouvoirs tampons mesurés à partir de l'expérience d'adsorption étaient légèrement inférieurs à ceux mesurés lors des désorptions avec le  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , notamment aux

basses concentrations. Les quantités de Cd extraites au  $\text{CaCl}_2$  étant plus importantes que celles extraites au  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , par conséquent le pouvoir tampon était en moyenne légèrement inférieur lorsqu'il était estimé à partir des suspensions de  $\text{CaCl}_2$ . Les valeurs de pouvoir tampon n'étaient pas statistiquement différentes en fonction des différents âges de la contamination.

### 3.6. Simulations du prélèvement de Cd

Nous avons entrepris de nouvelles simulations du prélèvement de Cd par les deux plantes à partir des nouveaux pouvoirs tampons calculés dans cette étude. En raison de la grande variabilité des pouvoirs tampons obtenus, seules les valeurs les plus pertinentes ont été retenues. Dans le chapitre précédant, nous avons montré que les quantités de cadmium prélevées par le tabouret dépassaient parfois les quantités estimées par une extraction au  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ . Cela signifie que la fraction labile doit être supérieure à celle évaluée par l'extractant et par conséquent ne peut être évaluée par les valeurs  $\text{Cd}_{\text{CaCl}_2}$  (10 et 1 mM) et  $\text{Cd}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$ . Les désorptions ont montré par ailleurs qu'une partie du Cd de notre sol n'est pas susceptible de passer en solution, nous avons donc écarté le pouvoir tampon exprimé par  $\text{Cd}_T/\text{C}_{\text{liv}}$ . Finalement, les méthodes de mesure retenues pour évaluer le facteur Quantité sont les cinétiques d'échange isotopique et l'extraction au DTPA.

Enfin nous avons observé d'après les isothermes de désorption, que pour les deux niveaux de contamination du sol D6 et D3, les quantités de Cd sur le sol étaient différentes pour un même niveau de Cd dans la solution du sol. Ceci suggère que les ratios de Cd sol/solution ne sont pas extrapolables d'un niveau de contamination à l'autre du même sol. Or les mesures effectuées avec les isothermes de désorption impliquent d'extrapoler des valeurs de pouvoir tampon pour plusieurs traitements systématiquement. Nous avons donc choisi uniquement les valeurs d'adsorption dans  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  et dans l'eau ainsi que  $b_I$  obtenu par adsorption dans  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ .

**Tableau 3-6. Valeurs de pouvoir tampon ( $b_F$ ) intrapolé (en caractères noirs) et extrapolé (en caractères grisés) pour chaque niveau de contamination du sol selon les différentes isothermes réalisées. Les valeurs  $b_I$  correspondent aux pentes des droites d'ajustements linéaires des différentes isothermes.**

Pouvoir tampon	Adsorption $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Adsorption eau	Désorption $\text{CaCl}_2$		Désorption $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - D3			Désorption $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - D6		
			D3	D6	2 h	3 sem	2,5 ans	2 h	3 sem	2,5 ans
Cd initial ajouté, $\text{mg kg}^{-1}$	$b_F$									
0	50	614	134	148	176	279	299	148	268	246
0,5	44	263	47	71	69	79	70	84	114	101
1	41	167	27	48	42	40	32	63	72	63
2	39	116	17	35	28	23	17	49	50	43
3	38	91	13	29	21	16	11	42	39	33
5	37	78	11	25	18	13	9	38	33	28
7	36	65	9	22	15	10	6	34	28	24
	$b_I$									
	40	191	27	29	50	61	57	50	55	48

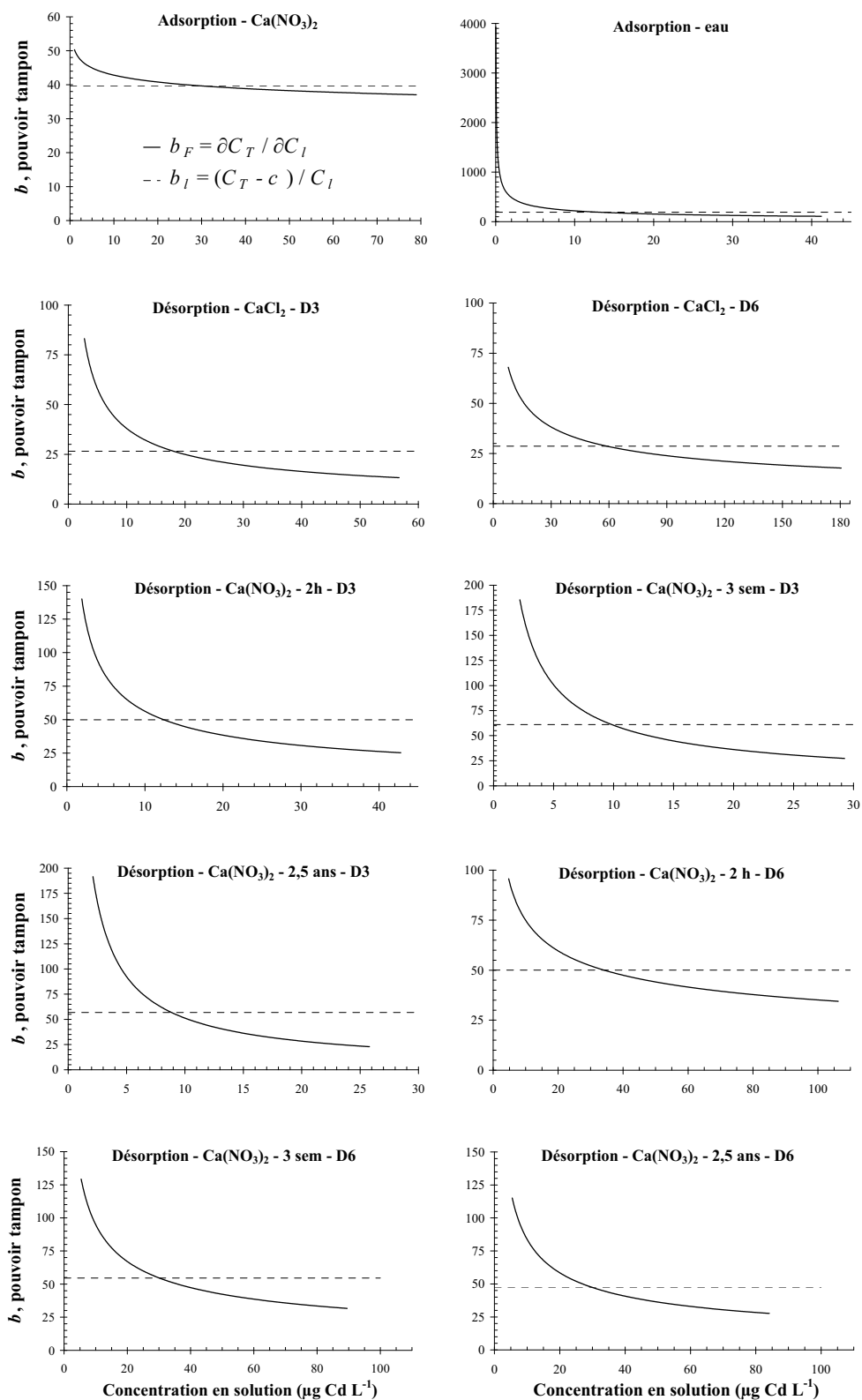


Figure 3-8. Evolution du pouvoir tampon,  $b$ , en fonction de la concentration en solution à l'équilibre selon la mesure des différents isothermes d'adsorption ou de désorption (Voir matériels et méthodes pour les calculs de  $b$ ). En plein, valeur obtenue par dérivation de l'isotherme de Freundlich ajustée ( $b_F$ ) et en pointillé, pente de la droite ajustée ( $b_l$ ).

Nous avons repris la modélisation du chapitre 2, à titre de comparaison. Pour chacune des valeurs de pouvoir tampon testé, les coefficients de détermination des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et simulés étaient très significatifs (Tableau 3-7). Comme nous l'avons observé dans le chapitre précédant, une phytotoxicité s'est exprimée chez le maïs âgés de 24 jours de telle manière que le modèle surestimait le prélèvement. Nous avons donc également réalisé les ajustements sur la gamme basse de concentration (0 à 2 mg kg<sup>-1</sup>) pour la culture de maïs de 24 jours.

Concernant les cultures de maïs, les pentes proches de un ont été obtenues uniquement pour des pouvoirs tampons mesurés avec le CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Nous avons repris ces valeurs à titre de comparaison, bien que cette mesure ne convienne pas pour les raisons citées dans le chapitre précédant. Conceptuellement, le pouvoir tampon de notre sol est une caractéristique intrinsèque indépendante des plantes et donc identique pour les différentes cultures.

D'une manière générale, il apparaît que les prélèvements simulés sont surestimés pour les cultures de maïs de facteurs 2 à 9 environ avec  $E(1 \text{ min})/C_{liv}$  et  $b_{CEI}(t)$  respectivement. A l'inverse, les prélèvements simulés du tabouret sont sous-estimés de 25 % avec  $b_{CEI}(t)$  et jusqu'à un facteur 5 avec le pouvoir tampon  $E(1 \text{ min})/C_{liv}$ . Si nous considérons les simulations sur la gamme basse de contamination, il reste que la surestimation par le modèle est en moyenne 30 % supérieure chez les plants de maïs âgés de 24 jours par rapport à ceux de 12 jours. Les prélèvements simulés avec les valeurs de  $b_{CEI}$  (pour 1 minute ou le temps de culture) étaient en moyenne près de 2 fois supérieurs aux prélèvements simulés avec les valeurs  $E(1 \text{ min ou } t)/C_{liv}$ . Les prélèvements simulés avec  $Cd_{DTPA}/C_{liv}$  et  $E(t)/C_{liv}$  étaient similaires, conduisant à des surestimations de facteurs supérieurs à 3 et 5 dans le cas des maïs de 12 et 24 jours respectivement. La simulation du prélèvement du tabouret était sous-estimée de 65 % environ.

L'estimation de  $Q_{Cd}$  par les cinétiques d'échange isotopique conduit à utiliser des temps d'échange isotopique inférieurs à la minute pour les deux cultures de maïs, alors que l'augmentation du pouvoir tampon ne suffit pas à simuler correctement le prélèvement du tabouret. Les prélèvements simulés avec  $b_F$ , mesuré par adsorption, étaient similaires à ceux mesurés avec  $b_l$  (par adsorption également).

**Tableau 3-7. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction de la méthode de détermination du facteur capacité. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination.  $^{\ddagger}$  t correspond au temps de culture : 12 j, 24 j ou 79 j.**

Pouvoir tampon	Gamme de contamination simulée	Maïs				Tabouret	
		12 jours		24 jours		79 jours	
		$r^2$	$a$	$r^2$	$a$	$r^2$	$a$
$Cd_{CaCl_2(0,01 M)}/C_{liv}$	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,97	0,98	0,89	1,64	0,75	0,09
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,86	1,06	-	-
$Cd_{DTPA}/C_{liv}$	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,97	3,39	0,91	5,62	0,76	0,37
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,86	3,89	-	-
$b_{CEI}$ (1 min)	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,98	3,71	0,91	6,19	0,79	0,42
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,88	4,47	-	-
$b_{CEI}$ (t) $^{\ddagger}$	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,94	5,17	0,94	9,00	0,73	0,75
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,89	8,77	-	-
$E$ (1 min)/ $C_{liv}$ $^{\ddagger}$	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,97	1,88	0,88	3,15	0,77	0,19
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,83	1,86	-	-
$E(t)/C_{liv}$ $^{\ddagger}$	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,96	3,10	0,90	5,26	0,72	0,35
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,85	3,89	-	-
$b_F$ adsorption à l'eau	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,81	4,69	0,90	8,01	0,70	0,57
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,83	8,77	-	-
$b_F$ adsorption Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,95	2,57	0,90	4,30	0,73	0,27
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,87	3,15	-	-
$b_I$ adsorption Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,95	2,76	0,89	4,58	0,72	0,29
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,86	3,17	-	-

## 4. Discussion

### 4.1. Estimation du Cd labile

#### 4.1.1. Méthodes d'extractions chimiques

La fraction la plus rapidement assimilable par les organismes est la fraction labile, représentée par les composés solubles (ions libres ou complexés) (Bolan *et al.*, 2003). Parmi les extractants que nous avons utilisé, il est connu que le DTPA possède un pouvoir d'extraction plus fort que celui des solutions salines (Gupta et Aten, 1993 ; Jackson et Alloway, 1991). Le DTPA permettrait de solubiliser en partie les métaux présents dans les oxydes ferromanganiques (Shuman, 1988). Une étude sur le tabouret calaminaire âgé de 3 mois montre que la plante prélève le Cd dans le compartiment extractible au  $\text{NaNO}_3$  (compartiment échangeable) ainsi qu'une grande proportion du Cd lié à la matière organique, mais également celui lié aux oxydes de manganèse (Hammer et Keller, 2002). En revanche, l'osier blanc, espèce tolérante aux métaux et accumulatrice de Cd, prélevait uniquement dans le compartiment échangeable. L'extractant a permis d'établir une corrélation sol-plante pour le Cd dans le cas du maïs (sol neutre à alcalin, Street *et al.*, 1977), la laitue, la pomme de terre (Roca et Pomares, 1991) ou encore le ray-grass (Juste et Tauzin, 1992). Toutefois, aucune corrélation n'a été mise en évidence chez l'avoine ou le ray-grass (Brown *et al.*, 1989) ou chez la bette (Kuo, 1990). La prise en compte du pH, de la teneur de matières organiques ou du pourcentage d'argile permet d'améliorer la corrélation sol-plante (Krishnamurti *et al.*, 2000 ; Kuo, 1990 ; Morel et Guckert, 1984). Bien que la méthode normalisée d'extraction soit restreinte à l'étude de sols peu contaminés à pH légèrement acides à basiques et pour des éléments métalliques autres que le Cd, il est fortement probable que cette mesure permette une bonne évaluation du pouvoir tampon du sol.

Si l'on considère que la DTPA estime correctement le Cd labile, le modèle surestime de 340 à 390 % le prélèvement de Cd par le maïs aux basses teneurs. Mullins *et al.* (1986) avaient également estimé le facteur Quantité avec une extraction au DTPA, et avaient surestimé de 41 % le prélèvement de Cd par le maïs. Par ailleurs, il semblerait dans cette étude que la « demande » en Cd par la plante, estimée par une fonction de Michaelis-Menten, soit mal formalisée. En effet il se pourrait que l'ajustement médiocre des données (Mullins et Sommers, 1986a) ait conduit à des paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  erronés. Ces mêmes paramètres utilisés pour réaliser nos simulations peuvent être à l'origine de la surestimation du prélèvement, lors de l'estimation du facteur Quantité avec le DTPA. Il serait nécessaire de vérifier que la demande de la plante en Cd ait pu être surestimée pour la variété de maïs utilisé dans notre étude.

#### 4.1.2. Cinétiques d'échange isotopique

Les ordres de grandeur des rapports entre les valeurs de Cd labile estimé par les cinétiques d'échange isotopique et les quantités mesurées par les extraction sont en accord avec les données de Fujii et Corey (1986), Gray *et al.* (2003) et Nakhone et Young (1993). Le calcul de  $b_{CEI}(t)$  a été adapté d'après Fardeau (1993) (i.e.  $E(1\text{min})/C_{Cd}$ , Eq 3.8), pour le calcul du pouvoir tampon. Ce paramètre rendu sans dimension ainsi que l'utilisation de temps d'échange isotopique correspondant aux temps de cultures conduisent tous les deux à une surestimation du prélèvement par le maïs et une sous-estimation du prélèvement par le

tabouret. La légère augmentation de  $b_{CEI}(t)$  avec le temps (de 12 j à 24 j et même à 79 jours) est en accord avec les résultats de Gérard *et al.* (1999) montrant que le plupart du Cd du sol est rapidement échangeable. La concentration en solution à l'équilibre ( $Cd_s$ ) avec le sol est en moyenne 2,3 fois supérieure à la valeur de  $C_{liv}$ . Ainsi les pouvoirs tampons obtenus par les deux modes de calcul diffèrent du même facteur. Si nous considérons le calcul du facteur capacité par le ratio de  $E(t)/C_{liv}$ , la taille du compartiment échangeable avec la solution est potentiellement la même pour les temps de cultures des deux plantes ( $E(12\text{ j}) \approx E(24\text{ j}) \approx E(79\text{ j})$ ).

Le modèle décrivant l'évolution du compartiment isotopiquement échangeable ne serait pas satisfaisant pour extrapoler les données expérimentales à des temps plus longs (Kah, 2003). Toutefois le calcul montre que le Cd labile ne varie que de 13 % entre 5 jours et 3 mois (la fonction  $E=f(t)$  est de type puissance). L'échange isotopique réalisé avec des solutions salines après des temps d'échange de 24 h (Gray *et al.*, 2003) ou de 7 jours (Smolders *et al.*, 1999) a estimé des quantités de Cd labile identique aux quantités estimées par l'extraction au  $\text{CaCl}_2$  molaire, bien que quelque fois supérieures après 7 jours d'échange (Gray *et al.*, 2003 ; Srayeddin, 2004). Ces résultats restent à confirmer avec d'autres plantes, mais la méthode des cinétiques d'échange isotopique constitue un outil intéressant pour la mesure du Cd disponible pour la plante (Gray *et al.*, 2004).

### 4.2. Adsorption et désorption

Le pH n'a pas évolué au cours des différents essais d'adsorption/désorption. Cette vérification était nécessaire pour pouvoir comparer les différentes isothermes. Les effets du pH sur l'adsorption du Cd sont bien connus et sont très présents dans la littérature. L'adsorption de Cd peut être dans certaines conditions multipliée par 2 ou 3 pour une augmentation de pH d'une unité (Christensen et Haung, 1999).

#### 4.2.1. Isotherme d'adsorption

La méthode la plus classique pour déterminer le pouvoir tampon est la mesure par une isotherme d'adsorption (Barber, 1995). Les isothermes de désorption de Cd ont permis d'estimer le Cd désorbable du sol et ont permis d'alimenter un modèle mécaniste (Wu *et al.*, 1994). Alors que les méthodes d'extractions chimiques deviennent de plus en plus standardisées, les protocoles expérimentaux pour la détermination des isothermes d'adsorption ou de désorption sont nombreux et ne permettent pas de comparaisons entre les différentes études (Harter et Naidu, 2001). Les mesures d'isothermes d'adsorption sont beaucoup plus fréquentes dans la littérature par rapport à celles qui traitent de désorption. L'adsorption est un processus important car il gouverne la persistance et le transport du Cd dans les différents compartiments du sol. Bien que les isothermes d'adsorption de Cd aient été utilisées avec succès pour décrire le passage en solution de l'élément métallique du sol (Filius *et al.*, 1998 ; Springob et Böttcher, 1998), ce mécanisme semble mieux appréhendé par la mesure d'isotherme de désorption (Christensen, 1984a) comme réalisé par Wu *et al.* (1994).

Une isotherme d'adsorption du cadmium a été réalisée sur une large gamme de contamination. Son allure est linéaire aux basses concentrations de cadmium (Figure 3-4), ce qui a été observé dans plusieurs sols et chez de nombreux auteurs (Garcia-Miragaya et Page, 1978 ; Gray *et al.*, 1998 ; Kuo, 1990). Cette linéarité indique que le coefficient de répartition du Cd reste constant entre les phases solide et liquide. Les valeurs de  $K_d$  obtenues par



adsorption dans  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  sont en accord avec celles obtenues par Christensen (1989) et Gray *et al.* (1998). Il n'est donc pas étonnant que les simulations réalisées avec  $b_F$  différaient peu de celles réalisées avec  $b_I$ . Ceci démontre que dans ce cas le pouvoir tampon peut être simplifié à une valeur constante pour l'ensemble des traitements de contamination du sol.

#### 4.2.2. Isotherme de désorption

Concernant les expériences de désorption, pour un même niveau de concentration de Cd en solution, les quantités de Cd sur la phase solide sont nettement supérieures (jusqu'à deux fois plus) pour le sol D6 (contamination plus élevée) par rapport au sol D3 (Figure 3-5, Figure 3-6). Après 30 désorptions successives au  $\text{CaCl}_2$  du sol D6, les quantités de Cd dans le sol sont comparables à celles dans le sol D3 (Figure 3-6), alors que les concentrations en solution sont plus de 5 fois inférieures. La répartition du Cd dans le sol semble différente malgré des teneurs égales. Ceci traduit, une nouvelle fois, l'existence de nombreuses phases porteuses avec des cinétiques de désorption contrastées. Il convient donc de mesurer les pouvoirs tampons à partir de désorptions réalisées pour chacun des niveaux de contamination du sol.

##### 4.2.2.1. Solution de désorption et rapports sol/solution

Au cours des essais de désorption, nous avons observé des différences notables entre les solutions de  $\text{CaCl}_2$  et de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (Figure 3-6). L'ajout de sels échangeurs, même à des concentrations faibles, peut modifier substantiellement la désorption. Par ailleurs, Wu *et al.* (2004) ont observé que les quantités de Cd dans des solutions de désorptions de  $\text{CaCl}_2$  étaient trois fois supérieures à celles obtenues dans de l'eau distillée.

Les quantités de Cd désorbé dans la solution de  $\text{CaCl}_2$  ne représentaient que 56 % de celles obtenues durant l'extraction chimique. Ceci indique que la différence de rapport sol/solution entre les deux expériences est très influente quant aux quantités échangées, et que notre sol dispose d'un fort pouvoir tampon. Plus le système sol/solution est dilué plus la dispersion des agrégats est forte. Ceci conduit à une accessibilité accrue du Cd aux sites d'échange de la phase solide. Dans la littérature, une gamme large de rapports sol/solution a été utilisée pour la mesure des isothermes d'adsorption et de désorption (1:1 à 1:1000) des métaux lourds du sol. Les réactions d'adsorption dépendent intrinsèquement du nombre de sites sur le sol, capables d'accepter les ions (Harter et Naidu, 2001). Autrement dit l'augmentation du rapport sol/solution peut entraîner après équilibre, soit une augmentation du Cd sorbé (cas d'un horizon Bt de sol brun), soit une diminution (cas de sols ferrallitiques par exemple). Les réactions de désorption sont affectées de la même manière. En conséquence le pouvoir tampon mesuré est qualifié de pouvoir tampon apparent en raison de sa dépendance au rapport sol/solution. Ceci pose alors la question suivante : quel rapport sol/solution utiliser lors des isothermes d'adsorption/désorption pour estimer le pouvoir tampon dans les conditions réelles de culture ? Aux basses concentrations, Christensen (1984a) a toutefois remarqué que l'équilibre sol/solution n'affectait pas l'isotherme d'adsorption. La sensibilité des désorptions à la nature et la concentration du réactif utilisé soulignent l'importance de mesurer les désorptions dans des conditions les plus proches possibles de celles modélisées (Molina Millan *et al.*, 2006).

### 4.2.2.2. Effet du temps de contact

La diminution de la désorption de Cd en fonction du temps de contact entre le Cd et le sol, ou vieillissement, mesuré dans notre étude, est en accord avec les résultats de Gray *et al.* (1998) qui ont obtenu des quantités de Cd désorbées entre 16 et 52 % inférieures après 70 jours de temps de contact comparées à celles obtenues après 5 jours. Bien que l'adsorption de Cd sur les surfaces du sol soit considérée comme un phénomène rapide et donc peu dépendant du temps de contact (Christensen, 1984a), d'autres études montrent que l'augmentation du temps de contact accroît la désorption subséquente de Cd depuis le sol (McBride, 1989 ; Filius *et al.*, 1998). Nos terres étaient relativement bien pourvues en matières organiques (horizon de surface) et contenaient des oxydes de fer et de manganèse (non quantifiés mais appréciés au cours des tamisages par la présence de nodules). Or ces compartiments sont capables d'adsorber le Cd irréversiblement (Backes *et al.*, 1995) et il est probable qu'entre quelques heures et deux années, une diffusion de l'ion ait opéré à l'intérieur des oxydes par exemple. Les ions peuvent être redistribués vers des sites de plus forte énergie de liaison ou des sites d'adsorption moins accessibles (Bruemmer *et al.*, 1986). Christensen (1984b) a considéré que le temps de contact n'avait pas d'influence sur l'adsorption de Cd sur le sol, bien que les concentrations en solution diminuaient de 11 % après 35 semaines. Il est donc probable que l'effet du vieillissement ne soit réellement appréciable qu'au cours des désorptions subséquentes à l'adsorption de Cd. Plusieurs études intégrant la plante n'ont pas clairement montré la diminution de la phytodisponibilité du Cd au cours du temps (Christensen et Haug, 1999 ; Eriksson *et al.*, 1996), alors que les expérimentations menées par Hamon *et al.* (1997) et Hooda et Alloway (1993) aboutissent à la thèse inverse. Au vu de ces études, il semble que la disponibilité au cours du temps dépende nettement des minéraux présents dans les sols (phosphates, oxydes) et de la capacité des plantes à puiser dans ces compartiments.

## 4.3. Pouvoir tampon du sol

### 4.3.1. Les isothermes pour décrire le pouvoir tampon ?

Le type de fonction pour décrire le pouvoir tampon (sous forme d'une isotherme ou bien d'un pouvoir tampon constant) n'influence pas les résultats de la modélisation du prélèvement de K (Steingrobe *et al.*, 2000). Concernant le Cd, si les isothermes d'adsorption peuvent être linéarisées, une formalisation non linéaire du pouvoir tampon semble préconisée pour les isothermes de désorption au vu des écarts entre  $b_F$  et  $b_I$ . Le pouvoir tampon est calculé à partir du rapport des quantités de Cd sur la phase solide à celles dans la solution du sol. Or l'utilisation d'une solution saline dans nos expériences a augmenté les quantités dans la solution et a contribué probablement à sous-estimer  $b$ . Ces méthodes ne sont donc pas adaptées pour simuler la mobilisation du Cd car elles ne reflètent pas les conditions réelles. La méthode de désorptions successives semble pourtant mimer les processus qui ont lieu au cours d'une culture sous l'influence de l'absorption. Ainsi il faudrait envisager des désorptions successives à l'eau, plus proches de la réalité, mais cette méthode peut être très longue. Des désorptions avec des rapport solution/sol croissants pourraient être équivalents (Molina Millan *et al.*, 2006). Il convient toutefois de réaliser des désorptions à partir d'une teneur de Cd initiale dans le sol identique à celle des conditions simulées.

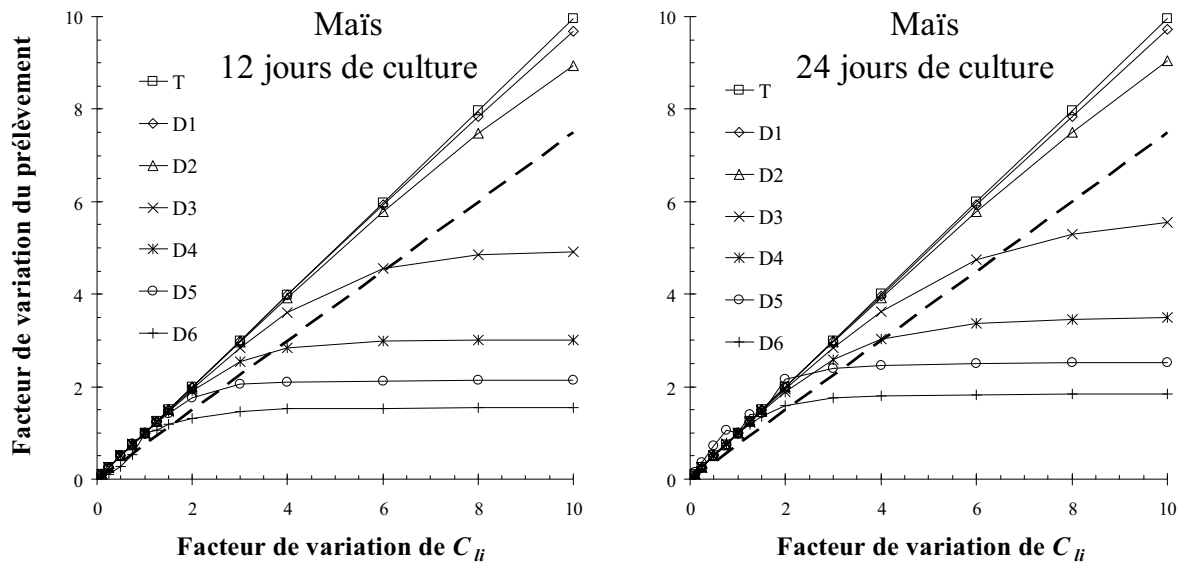
#### 4.3.2. Choix des valeurs de pouvoir tampon

L'extraction du Cd du sol par une solution de  $\text{CaCl}_2$  ne peut pas convenir pour estimer le pouvoir tampon, car les quantités extraites étaient parfois inférieures à celles absorbées par le tabouret calaminaire. Conceptuellement, les valeurs les mieux adaptées pour estimer le pouvoir tampon semblent être les valeurs de  $E(t)/C_{liv}$ . La valeur  $E(t)$  représente en effet le compartiment des ions en solution et surtout de ceux de la phase solide en équilibre avec ceux en solution. L'extraction au DTPA qui donne des valeurs proches de  $E(t)/C_{liv}$  semble également bien adaptée. Ces grandeurs sont tout à fait cohérentes avec la physico-chimie du Cd de nos terres. En effet, l'apport de Cd sous forme de sulfates dans les terres des différents traitements rend ce dernier très labile, car présent principalement sous forme d'ions adsorbés (complexes de sphère externe). Toutefois les cinétiques d'échange isotopique du Cd présentent peu d'intérêt car les valeurs de  $E$  sont presque identiques lorsqu'elles sont extrapolées pour 12 jours ou 79 jours. Les méthodes de mesure du facteur Quantité par dilution isotopique pour des temps d'échange de plusieurs jours (Smolders *et al.*, 1999 ; Young *et al.*, 2000) pourraient donc convenir également. L'utilisation du DTPA étant restreinte à des conditions particulières de sols, nous retiendrons la valeur  $E(t)/C_{liv}$  pour estimer le pouvoir tampon.

Si ce pouvoir tampon conduit à une surestimation du prélèvement par le maïs, c'est peut être parce que sa demande est mal paramétrée dans le modèle. L'ajustement de la fonction d'absorption obtenue dans les travaux de Mullins et Sommers (1986a) est douteux, et il se peut que ces paramètres surestiment la demande du maïs. Il est également envisageable que l'absorption soit limitée sous l'effet d'une exsudation racinaire de composés chélatant le Cd, accentuée par l'intoxication, ou bien encore suite à une augmentation du pH rhizosphérique. De même si nous faisons l'hypothèse que l'offre du sol est correctement décrite par le modèle, alors la sous-estimation du prélèvement pour le tabouret indiquerait que les paramètres d'absorption racinaire sont mal décrits.

#### 4.4. Analyse de sensibilité

Nous avons réalisé une analyse de sensibilité en utilisant la nouvelle valeur de pouvoir tampon choisie dans l'étude. La  $C_{li}$  peut être considérée comme un des paramètres les plus sensibles du modèle, c'est pourquoi nous l'avons fait varier pour tester la sensibilité de l'offre du sol. Dans le cas du traitement T (sans ajout de Cd), le prélèvement calculé du maïs varie linéairement avec la  $C_{li}$  : multipliée par dix, elle multiplie le prélèvement par dix (Figure 3-9). Cependant, pour les autres modalités, l'analyse de sensibilité montre une diminution de la sensibilité du paramètre dans le calcul du prélèvement au fur et à mesure que la concentration augmente. Lorsque la  $C_{li}$  dépasse la valeur de  $K_m$  ( $3 \cdot 10^{-5} \mu\text{mol cm}^{-3}$ ) et devient supérieure à  $2 \cdot 10^{-3} \mu\text{mol cm}^{-3}$ , la variation de  $C_{li}$  d'un facteur donné entraîne une variation du prélèvement inférieure à 75 % de ce même facteur. Ceci correspond, dans la Figure 3-9, aux concentrations situées en dessous de la ligne en pointillés. La plante commence à devenir le facteur limitant du prélèvement. Ceci concorde avec l'hypothèse d'une surestimation des paramètres d'absorption racinaire de Mullins pour notre étude. Bien que nous n'ayons pas ajusté dans cet exemple les modifications du pouvoir tampon en relation avec la  $C_{li}$  (afin de simplifier l'explication), le phénomène est conservé lors d'une variation conjointe des deux paramètres.



**Figure 3-9.** Analyse de sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour le paramètre  $C_{li}$  pour chacun des traitements. Dans cet exemple pour le maïs âgé de 12 jours, le paramètre  $C_{li}$  a varié d'un facteur 0,1 à 10, tous les autres facteurs restant constants ont été moyennés à partir des quatre répétitions d'un même traitement. Les points situés sur la droite en pointillés correspondent à la relation :  $\text{facteur de variation du prélèvement} = 0,75 \times \text{facteur de variation de } C_{li}$ .

## 5. Conclusion partielle

Le réapprovisionnement, depuis la phase solide, d'ions prélevés dans la solution par les racines des plantes constitue un aspect important de la nutrition minérale des plantes. Le pouvoir tampon du sol permet de décrire ces processus. Nous avons évalué le pouvoir tampon par le biais d'extractions chimiques, des cinétiques d'échange isotopique et enfin grâce à la mesure d'isothermes d'adsorption ou de désorption. Les valeurs calculées de pouvoir tampon s'évaluaient alors sur plusieurs ordres de grandeur.

Les isothermes présentent l'avantage de décrire l'évolution du pouvoir tampon en fonction de la concentration et de la diminution du Cd du sol. Toutefois il est nécessaire de réaliser les désorptions dans des conditions proches de celles du sol. Le temps de contact entre le sol et le Cd avant la désorption est important ainsi que la concentration initiale dans le sol. Les isothermes d'adsorption et de désorption, mesurées dans les conditions de notre étude, n'ont pas permis de décrire correctement le pouvoir tampon. L'utilisation de désorptions successives à l'eau est peut-être une voie à envisager pour décrire le pouvoir tampon du sol.

Parmi les méthodes utilisées, nous avons retenu celles qui permettaient d'approcher au mieux le pouvoir tampon d'un point de vue conceptuel. Il s'agit de décrire le compartiment labile grâce à l'échange isotopique ou par une extraction au DTPA. Dans la suite de l'étude, nous utiliserons cette première méthode pour l'estimation de  $b$  pour les simulations. Toutefois, ceci nous amène à remettre en question la demande en Cd par le maïs qui semble

surestimée par les paramètres d'absorption de Mullins et Sommers (1986a). Pour tester cette hypothèse, il est nécessaire de décrire l'influx racinaire de Cd en fonction de sa concentration en solution pour la variété de maïs utilisée dans notre étude. Il en va de même pour le tabouret, pour qui la demande semble sous-estimée. Ceci fera l'objet des deux chapitres suivants.



## Chapitre 4. Mesure des paramètres de la cinétique d'absorption racinaire du Cd par le maïs

### 1. Introduction

Le cadmium n'a pas de fonction connue chez les plantes (Page *et al.*, 1981). Il peut leur être toxique, et ceci même à des teneurs relativement basses (Page *et al.*, 1981 ; Das *et al.*, 1997). Toutefois plusieurs auteurs ont mesuré une accumulation de l'élément chez de nombreuses espèces végétales tant en hydroponie qu'en culture en sol (Haghiri, 1973 ; Hinesly *et al.*, 1978 ; Page *et al.*, 1981). La concentration de Cd dans les parties consommées des plantes peut être affectée par de nombreux facteurs physiologiques et en particulier l'absorption racinaire en solution. Les mécanismes d'absorption du Cd par les racines ne sont pas complètement élucidés. L'influx de Cd dans les cellules racinaires a souvent été décrit avec une composante saturable (ou multiphasique, Cataldo *et al.*, 1983a) aux activités basses de  $\text{Cd}^{2+}$  dans la solution en contact avec les racines (Costa, 1992 ; Mullins et Sommers, 1986a ; Salt et Wagner, 1993 ; Smeyers-Verbeke *et al.*, 1978). Cette composante saturable est parfois associée à une composante linéaire aux plus hautes activités de  $\text{Cd}^{2+}$ , elle-même attribuée à une sorption apoplasmique de Cd (Hart *et al.*, 1998 ; Lombi *et al.*, 2000 ; Lombi *et al.*, 2001 ; Zhao *et al.*, 2002) ou bien à une absorption passive (Salt *et al.*, 1995b). Il semble évident que la composante saturable de la cinétique d'absorption à travers la membrane plasmique reflète un transport facilité grâce à un système de protéine contribuant au transport. Toutefois il n'est pas clairement établi si les ions  $\text{Cd}^{2+}$  sont absorbés activement par des transporteurs non spécifiques comme par exemple ceux pour Zn, Cu, Fe (Cataldo *et al.*, 1983b ; Costa, 1992) ou bien si les cations entrent dans la cellule grâce à des transporteurs spécifiques (Lombi *et al.*, 2001 ; Zhao *et al.*, 2002). Dans les travaux mentionnés ici, la composante linéaire de l'influx de Cd est attribuée à une sorption sur les parois cellulaires. Cependant ces études n'ont pas vérifié que cette composante pouvait être due à un mouvement diffusif de l'ion à travers des canaux cationiques membranaire tels que ceux existant pour  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  (Kochian *et al.*, 2002 ; Marschner, 1995 ; Zhao *et al.*, 2002). Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes basiques contrôlant l'absorption racinaire du Cd est nécessaire afin de limiter son accumulation dans les plantes cultivées ou au contraire d'améliorer son extraction dans les sols pollués.

L'excès de Cd dans les tissus cause de nombreux symptômes différents chez les plantes (Prasad, 1995). Généralement des symptômes précoces d'intoxication de la plante au métal peuvent être révélés par la mesure de marqueurs biochimiques bien avant le suivi des paramètres de croissance (Lagriffoul *et al.*, 1998 ; Vangronsveld et Clijsters, 1994). Le taux de prélèvement peut en particulier diminuer lorsque la teneur de Cd en solution est toxique (Haghiri, 1973 ; Sterckeman *et al.*, 2004). Néanmoins, les effets de la toxicité du Cd sur sa propre absorption par les racines n'ont jamais été étudiés. Dans le chapitre 2, nous avons simulé le prélèvement de Cd par le maïs en utilisant un modèle mécaniste. Le prélèvement simulé pour la culture de 24 jours pourrait avoir été surestimé en raison d'une phytotoxicité lorsque la concentration de Cd dans la solution du sol dépassait  $300 \text{ nmol L}^{-1}$ . Comme la

réduction de surface racinaire résultant de l'intoxication des plantes a été prise en compte par le modèle, nous avons donc fait l'hypothèse que la toxicité du Cd peut avoir affecté les paramètres de l'absorption racinaire.

Les paramètres cinétiques d'absorption du Cd dans la littérature sont rares et peu fiables. En effet dans le seul article publié fournissant des paramètres cinétiques d'absorption du Cd pour le maïs (Mullins et Sommers, 1986a), l'ajustement des données expérimentales par une fonction Michaelis-Menten n'est pas convainquant (Figure 5 de cet article). De plus les résultats des précédents chapitres suggèrent que la fonction d'absorption du maïs n'est pas bien formalisée. Nous avons donc voulu vérifier que la fonction de la cinétique d'absorption du Cd par les racines de maïs est de type Michaelis-Menten. La modélisation du prélèvement de Cd implique que les paramètres introduits dans le modèle reflètent la situation qui est simulée. Dans le cas de l'absorption de Cd, les paramètres cinétiques disponibles ont été obtenus pour de jeunes plants, des temps d'absorption de deux heures ou moins et dans une solution très différente de celle du sol. Nous avons donc voulu évaluer également l'effet de l'âge de la plante, de la composition de la solution et de la durée de l'absorption sur les mesures de cinétiques.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériel végétal et culture

Des graines de maïs (*Zea mays* L., cv INRA MB862) calibrées ( $0,25 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ ) ont été immergées dans de l'eau distillée pendant deux heures, afin de ramollir les téguments et faciliter la germination. Elles ont ensuite germé à  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  dans l'obscurité sur du papier filtre humidifié pendant trois jours. Des plantules de même taille ont été transférées individuellement dans des béciers de 600 ml de solution nutritive. Les plantes ont été disposées sur des flotteurs en polystyrène dans les béciers recouverts d'aluminium pour éviter le développement d'algues et conserver les racines à l'obscurité. Toutes les solutions ont été aérées par injection d'air comprimé.

Cinq cultures différentes ont été mises en place afin de caractériser l'absorption de Cd en fonction de la différence d'apport en micronutriments dans la solution, de l'âge de la plante, de la durée d'absorption ou encore de la présence ou non de Cd durant la pré-culture (et donc la présence ou non de Cd dans la plante ; Tableau 4-1). Les plantes se sont développées en chambre de culture dans les conditions suivantes : photopériode de 16 h, humidité relative de 70 %, intensité lumineuse de  $350 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  et des températures de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  le jour et  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  la nuit. Les solutions nutritives ont été renouvelées en accord avec l'augmentation des besoins nutritionnels du maïs (Arnon et Stout, 1939 ; André *et al.*, 1978 ; Warncke et Barber, 1974).

Deux solutions nutritives différentes ont été utilisées. La première ( $S_1$ ) avait la composition suivante (en  $\text{mmol L}^{-1}$ ) : 3  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  ; 0,25  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  ; 0,5  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ; 1  $\text{MgSO}_4$  ; 1,5  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ; et (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) 4,6  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ; 0,3  $\text{CuSO}_4$  ; 7,5  $\text{FeSO}_4$  ; 9  $\text{MnSO}_4$  ; 0,8  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  ; 0,8  $\text{ZnSO}_4$  (Moritsuka *et al.*, 2001 ; Mullins et Sommers, 1986a ; Warncke et Barber, 1974). La seconde solution ( $S_2$ ) contient des quantités inférieures de micronutriments, comme celle utilisée par Costa et Morel (1993), alors que la quantité d'éléments majeurs est similaire à  $S_1$ . Sa composition était la suivante (en  $\text{mmol L}^{-1}$ ) : 3  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  ; 0,25  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  ; 2  $\text{KCl}$  ; 1  $\text{MgSO}_4$  ; 1,5  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ; et (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) 3  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ; 0,3  $\text{CuSO}_4$  ; 0,02



FeSO<sub>4</sub> ; 2 MnSO<sub>4</sub> ; 0,01 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> et 0,1 ZnSO<sub>4</sub>. Le pH a été ajusté à 5,7 ( $\pm$  0,1) avec KOH 0,1 N.

**Tableau 4-1. Caractéristiques des différentes cultures hydroponiques pour la mesure des paramètres cinétiques de maïs.**

Culture	Age de la plante (j)	Cd en solution durant la culture	Temps d'absorption (h)	Solution nutritive
H1	12		24	S <sub>2</sub>
H2	12	0,01 nmol L <sup>-1</sup> à	24	S <sub>1</sub>
H3	24	100 $\mu$ mol L <sup>-1</sup>	24	S <sub>1</sub>
H4	12		2	S <sub>1</sub>
H5	12	pas de Cd	2	S <sub>1</sub>

Durant la culture, les plantes ont été séparées en huit niveaux de contamination de Cd (apporté sous forme 3(CdSO<sub>4</sub>).8H<sub>2</sub>O) correspondants aux concentrations en solution suivantes : 0,01 – 0,1 – 1 – 10 – 100 – 1 000 – 10 000 et 100 000 nmol L<sup>-1</sup>. Dans chaque niveau nous avons effectué quatre répétitions. Nous avons ajouté 4 niveaux supplémentaires dans la culture H4, correspondant aux concentrations de Cd suivantes : 0,05 – 0,5 – 2 et 5 nmol L<sup>-1</sup>, ceci afin de mieux décrire la cinétique aux bas niveaux de concentration. Les concentrations de Cd en solution représentent des situations de sol non contaminés jusqu'à des contaminations très importantes voire irréalistes même en référence à des sols très contaminés. Un essai préalable nous a permis de vérifier que la fréquence de renouvellement des solutions (solution nutritive et ajout de sulfate de cadmium) maintenait les concentrations de Cd stables durant la culture. La spéciation du Cd et des autres éléments dans les solutions hydroponiques a été estimée par le model Chess (van der Lee, 1998). La culture H5 n'a pas reçu de Cd avant la mesure de la cinétique. Les plantes ont été cultivées durant 12 jours hormis celles de la culture H3 qui se sont développées durant 24 jours.

## 2.2. Absorption de Cd

Au terme de la culture, les racines (non séparées des parties aériennes) ont été lavées à l'eau distillée et replacées dans une solution nutritive renouvelée marquée avec 1 ml de <sup>109</sup>Cd sous forme de chlorure (sans entraîneur ; Amersham Biosciences, Freiburg, Germany). La radioactivité totale ajoutée atteignait entre 8 et 25 kBq L<sup>-1</sup>. Les quantités apportées n'ont pas modifié significativement les concentrations de Cd en solution déjà présentes. Ces concentrations étaient les mêmes que celles durant la culture de la plante et ont été également appliquées à H5 qui n'avait pas reçu de Cd pendant la culture. Le pH a été de nouveau ajusté à 5,7 avec du KOH 1 N. Après 2 h ou 24 h de temps d'absorption, les racines ont été rincées avec de l'eau distillée puis transférées dans des solutions de 80 ml contenant 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> et du CdCl<sub>2</sub> froid 20 fois plus concentré que la concentration du niveau d'absorption correspondant (Cataldo *et al.*, 1983a ; Rauser, 1987). Cette étape de désorption a été conduite pendant 30 min à 4 °C avec trois renouvellements des solutions de 80 ml. Une étude préliminaire avec du Cd radioactif a été menée afin de vérifier que tout le matériel utilisé (polystyrène et verre) n'a pas adsorbé le Cd durant l'expérimentation.

### 2.3. Mesures racinaires et foliaires

La longueur racinaire ( $L$ ) au moment de la récolte a été déterminée par analyse d'images des racines numérisées et grâce au logiciel WinRHIZO<sup>®</sup> (Arsenault *et al.*, 1995) qui fournit également des valeurs de rayon moyen de racine ( $r_0$ ) et de surface racinaire ( $SR$ ). Nous avons également suivi la surface foliaire ( $SF$ ) grâce au logiciel WinFOLIA<sup>®</sup> (Aas *et al.*, 1994).

### 2.4. Analyse des plantes

Les racines et les parties aériennes ont été séchées séparément à 70 °C pendant 48h, puis pesées et broyées finement avec un broyeur en agate (Retsch, Allemagne). Les tissus végétaux ont été minéralisés en réacteurs fermés en utilisant un mélange de HNO<sub>3</sub> (8 ml) et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 ml), et chauffés aux micro-ondes (Mars 5, CEM corporation, Inc, Matthews, North Carolina, USA). Des échantillons certifiés (CRM 281) et des échantillons de contrôle interne ont été utilisés pour vérifier la minéralisation complète des échantillons. Suivant le niveau de concentration, les minéralisats ont été dosés par spectromètre d'absorption atomique avec four en graphite (ETAAS, Spectra AA Zeeman 220, avec correction Zeeman, Varian, Inc, Palo Alto, California, USA) ou par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-OES, Liberty RL, Varian, Inc, Palo Alto, California, USA). Le Cd radioactif a été mesuré par spectrométrie  $\gamma$  (Cobra Auto-gamma B5003, Packard Instrument Company, Inc, Downers Grove, Illinois, USA) dans les minéralisats de racines et de feuilles. Le Cd prélevé durant la période d'absorption ( $T$ ,  $\mu\text{mol}$ ) a été calculé avec les relations suivantes :

$$\text{Eq 4.1 : } \quad q = r \times \frac{Q}{R}$$

$$\text{Eq 4.2 : } \quad T = q + r'$$

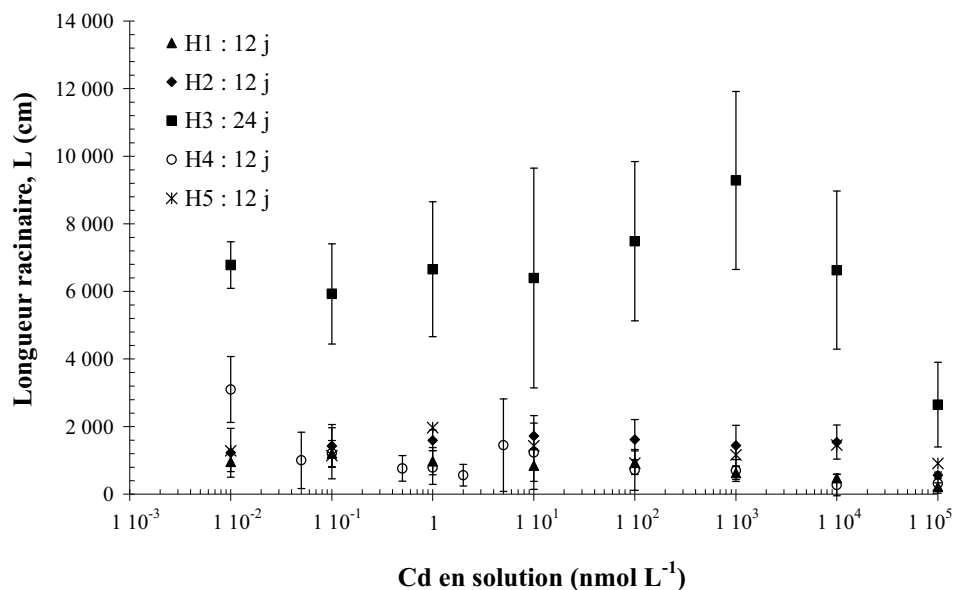
où  $r$  est la quantité de <sup>109</sup>Cd dans la plante (Bq),  $r'$  cette même quantité exprimée en  $\mu\text{mol}$  à partir de l'activité spécifique de la source,  $R$  la quantité de <sup>109</sup>Cd dans la solution nutritive au début de l'expérience d'absorption (Bq),  $q$  est la quantité de Cd stable absorbé pendant l'expérience d'absorption ( $\mu\text{mol}$ ), et  $Q$  est la quantité de Cd stable dans la solution nutritive au début de l'expérience d'absorption ( $\mu\text{mol}$ ). Les quantités de Cd dans la plante ont été rapportées à la matière sèche de végétal et les influx de Cd ont été exprimés en  $\mu\text{mol}$  par unité de surface racinaire et de temps pour quatre répétitions.

### 2.5. Analyse des données

Les données ont été traitées statistiquement par des analyses de variances (ANOVA) et par comparaisons des moyennes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). Nous avons utilisé le logiciel Statbox<sup>®</sup> pour les calculs. Les courbes d'influx ont été modélisées par la fonction de Michaelis-Menten grâce au logiciel Kaléidagraph<sup>™</sup>.

### 3. Résultats

Les calculs de spéciation ont montré qu'aucun composé ne précipitait en solution et que tous les éléments étaient disponibles pour le maïs. Les espèces de Cd présentes dans la solution S<sub>2</sub> étaient Cd<sup>2+</sup> (≈ 59 %), CdCl (≈ 39 %) et quasiment exclusivement Cd<sup>2+</sup> (≈ 96 %) dans la solution S<sub>1</sub>. Toutes ces formes sont facilement absorbables par les racines des plantes (Smolders et McLaughlin, 1996a ; Smolders et McLaughlin, 1996b).



**Figure 4-1. Longueurs racinaires du maïs en fonction des concentrations de Cd dans les solutions hydroponiques (échelle logarithmique en abscisse). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4-1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types.**

#### 3.1. Développement et croissance des plantes

Aucune différence significative n'a été observée concernant  $SR$ ,  $r_0$  ou  $L$  en fonction de la concentration de Cd, excepté pour le niveau de contamination le plus élevé (100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Dans ce cas, les valeurs de  $L$  (Figure 4-1) et de  $SR$  étaient significativement inférieures et celles de  $r_0$  supérieures par rapport aux valeurs mesurées dans les niveaux de contaminations inférieurs. Pour les cultures H1, H4 et H5, les biomasses foliaires et racinaires étaient significativement supérieures dans les faibles niveaux de contamination, comparées à celles dans les plus forts niveaux. Toutefois, aucune différence n'apparaissait pour les biomasses racinaires des cultures H2 et H3 (Tableau 4-2).

Les biomasses foliaires de la culture H1 étaient inférieures à celles des autres cultures des plantes du même âge (H2, H3, H5). Les tendances des variations de  $SF$  étaient similaires à celles observées pour les biomasses foliaires, ces deux paramètres étant fortement corrélés ( $r^2 = 0,93$  et  $0,95$  pour 12 jours et 24 jours de culture respectivement).

### 3.2. Accumulation du cadmium chez le maïs

Les quantités de Cd dans les plants de maïs ont augmenté avec la concentration de Cd dans la solution (Figure 4-2 et Figure 4-3). Malgré les niveaux atteints dans les tissus végétaux, aucune phytotoxicité apparente – c'est-à-dire de baisse de biomasse ou de colorations anormales – n'a été observée chez le maïs. Aux très faibles niveaux de Cd en solution ( $\leq 1 \text{ nmol L}^{-1}$ ), le maïs accumule plutôt dans les feuilles que dans les racines (Tableau 4-3). Toutefois, lorsque les concentrations dépassent  $1 \text{ nmol L}^{-1}$ , le Cd est majoritairement accumulé dans les racines plutôt que dans les parties aériennes (jusqu'à 20 fois plus).

### 3.3. Influx de cadmium

L'influx de Cd dans les plantes développées dans la solution  $S_2$  (H1), c'est-à-dire dans un milieu plus pauvre en oligo-éléments, était trois fois plus élevé que l'influx mesuré dans les plantes développées dans  $S_1$  (H2) (Figure 4-4). Les influx de Cd étaient significativement inférieurs dans les plants âgés de 24 jours (H3) comparés à ceux mesurés dans les plants âgés de 12 jours (H2). L'influx de Cd était en moyenne 1,4 fois supérieur lorsqu'il était mesuré pendant 2 h d'absorption (H4) à celui mesuré pendant 24 h d'absorption (H2), mais cette différence ne semble pas significative. Les influx mesurés dans les plantes qui n'ont jamais connu de Cd (H5) étaient 67 % supérieurs à ceux des plantes développées dans des solutions de Cd durant leur culture (H4). Cependant, les différences entre les cultures H5 et H4 ne semblent pas significatives d'après la Figure 4-4.

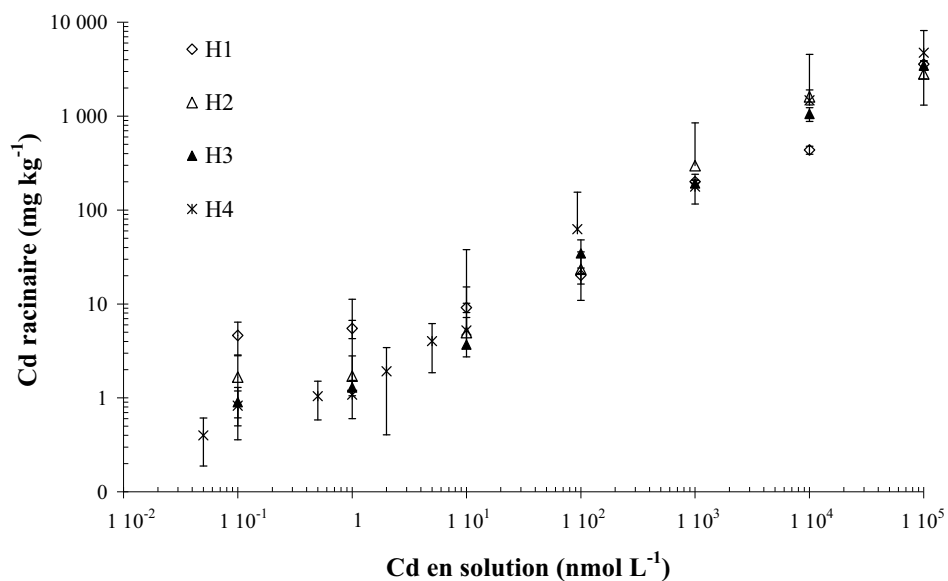
Les cinétiques d'absorption racinaire du Cd ont été représentées en échelles logarithmiques en raison des ordres de grandeur rencontrés (Figure 4-5). Les valeurs d'influx augmentaient linéairement sauf dans le niveau de Cd le plus contaminé ( $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), pour lequel l'influx diminuait sensiblement. Les rapports entre les influx et les valeurs de concentrations sont constants dans une même culture, ce qui signifie que ces relations sont également linéaires en coordonnées arithmétiques. Les relations entre influx et concentration de Cd sont données pour chaque culture par les équations des droites de régressions (Figure 4-5). Toutefois celles-ci ne prennent pas en compte le niveau de Cd le plus contaminé ( $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les influx de maïs âgés de 12 jours donnés par Mullins et Sommers (1986a) sont 10 à 100 fois supérieurs à ceux observés dans notre étude.

Nous avons également réalisé des ajustements avec la fonction de Michaelis-Menten en coordonnées arithmétiques (Figure 4-6). Les corrélations réalisées sur tous les points de la gamme de concentration étaient très fortes ( $r^2$  compris entre 0,70 et 0,95 ; Figure 4-6).

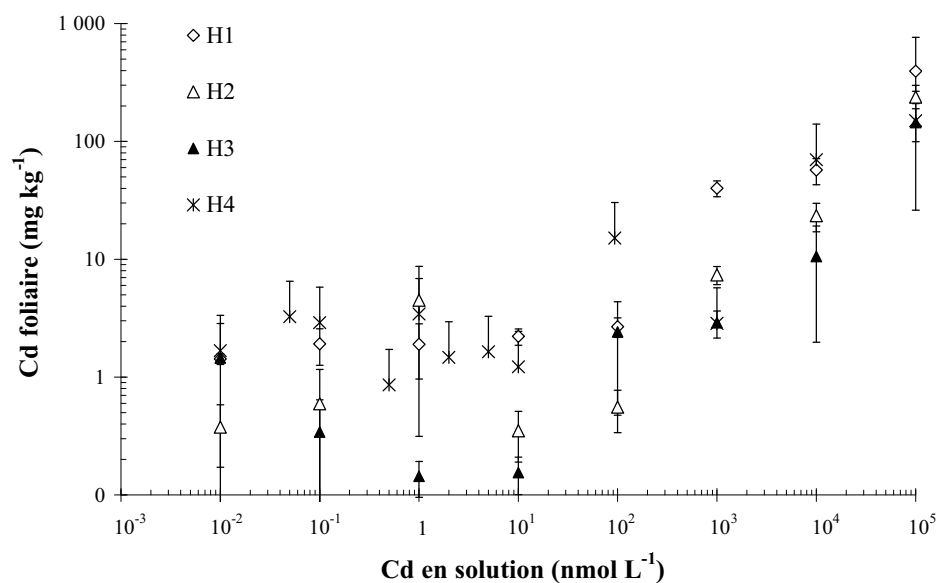
**Tableau 4-2. Matières sèches (MS) racinaires et foliaires obtenues dans les différentes cultures en fonction des concentrations de Cd en solution. Dans une même colonne les moyennes (m) suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls (NK,  $\alpha = 0,05$ ).**

Concentration de Cd (nmol L <sup>-1</sup> )	H1				H2				H3			
	MS racine (g)		MS feuilles (g)		MS racine (g)		MS feuilles (g)		MS racine (g)		MS feuilles (g)	
	m	NK	m	NK	m	NK	m	NK	m	NK	m	NK
1 10 <sup>-2</sup>	0,099	a	0,295	a	0,084		0,556	ab	0,627		3,579	ab
5 10 <sup>-2</sup>	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-
1 10 <sup>-1</sup>	0,093	a	0,267	a	0,093		0,559	ab	0,626		3,796	ab
5 10 <sup>-1</sup>	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-
1	0,095	a	0,277	a	0,112		0,577	ab	0,545		3,412	ab
2	-	-	-	-	-		-	-	-	n.s.	-	-
5	-	-	-	-	-	n.s.	-	-	-	n.s.	-	-
1 10 <sup>1</sup>	0,071	ab	0,223	ab	0,091		0,751	a	0,637		3,810	ab
1 10 <sup>2</sup>	0,057	b	0,217	ab	0,099		0,687	a	0,575		3,487	ab
1 10 <sup>3</sup>	0,064	b	0,208	ab	0,107		0,673	a	0,851		5,011	a
1 10 <sup>4</sup>	0,058	b	0,180	ab	0,124		0,720	a	0,706		4,013	ab
1 10 <sup>5</sup>	0,060	b	0,122	b	0,108		0,384	b	0,380		1,631	b

Concentration de Cd (nmol L <sup>-1</sup> )	H4				H5			
	MS racine (g)		MS feuilles (g)		MS racine (g)		MS feuilles (g)	
	m	NK	m	NK	m	NK	m	NK
1 10 <sup>-2</sup>	0,220	a	1,086	a	0,190		0,727	
5 10 <sup>-2</sup>	0,130	b	0,633	bc	-		-	
1 10 <sup>-1</sup>	0,105	b	0,583	bc	0,169		0,678	
5 10 <sup>-1</sup>	0,118	b	0,560	bc	-		-	
1	0,085	b	0,361	bc	0,183		0,770	
2	0,079	b	0,449	bc	-		-	n.s.
5	0,149	b	0,837	ab	-	n.s.	-	n.s.
1 10 <sup>1</sup>	0,119	b	0,650	bc	0,172		0,684	
1 10 <sup>2</sup>	0,094	b	0,490	bc	0,147		0,595	
1 10 <sup>3</sup>	0,085	b	0,376	bc	0,180		0,717	
1 10 <sup>4</sup>	0,053	b	0,221	c	0,183		0,747	
1 10 <sup>5</sup>	0,076	b	0,226	c	0,142		0,723	



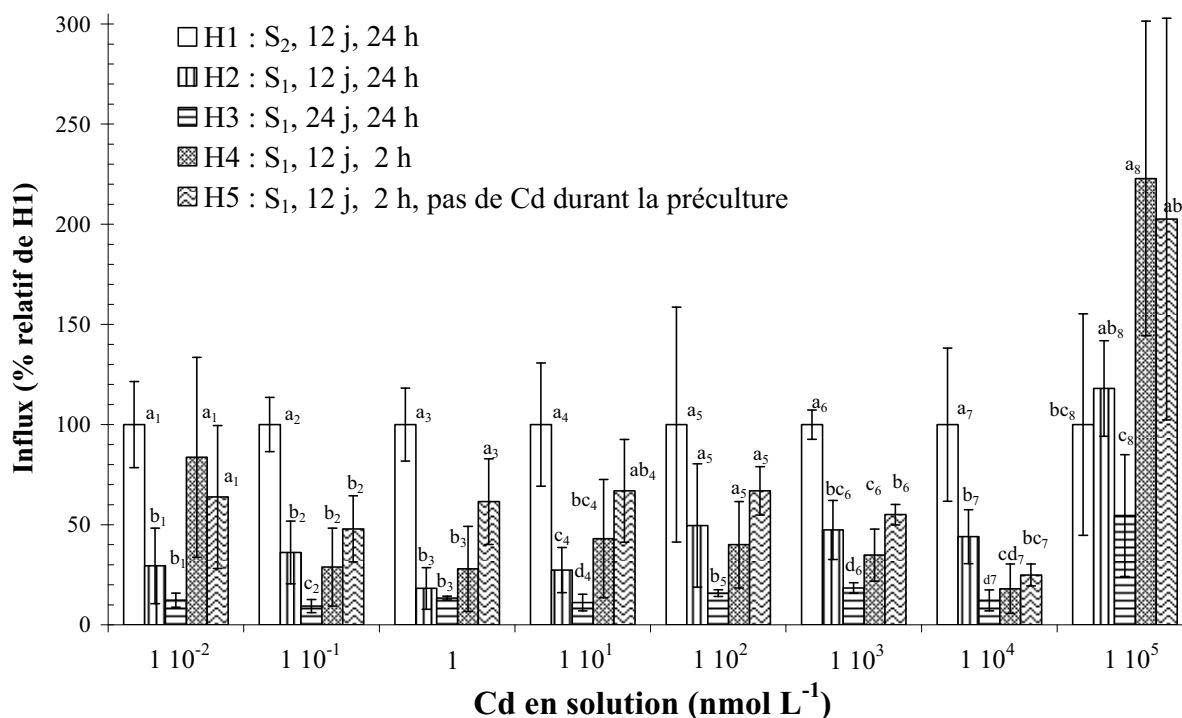
**Figure 4-2.** Concentration de Cd dans les racines en fonction de sa concentration en solution hydroponique (échelles logarithmiques). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4-1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types.



**Figure 4-3.** Concentration de Cd dans les parties aériennes en fonction de sa concentration en solution hydroponique (échelles logarithmiques). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4-1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types.

**Tableau 4-3 : Rapports des quantités et des concentrations de Cd dans les racines ( $Cd_r$ ) sur le Cd dans les parties aériennes ( $Cd_f$ ) en fonction de la concentration en solution.**

Concentration de Cd ( $\text{nmol L}^{-1}$ )	Quantités $Cd_r/Cd_f$		Concentrations $Cd_r/Cd_f$	
	H2 (12 j)	H3 (24 j)	H2 (12 j)	H3 (24 j)
$10^{-2}$	0,85	1,33	6,58	1,38
$10^{-1}$	0,44	0,49	2,80	2,62
1	0,08	1,35	1,81	1,38
$10^1$	1,69	11,62	14,12	23,90
$10^2$	6,26	1,82	42,20	76,79
$10^3$	11,48	11,61	40,32	66,55
$10^4$	11,49	20,57	68,53	75,42
$10^5$	3,33	6,21	11,83	23,94
<b>Moyenne</b>	<b>4,45</b>	<b>6,88</b>	<b>23,52</b>	<b>34,00</b>



**Figure 4-4 Influx moyens de Cd dans les racines exprimés en pourcentage de l'influx des plants de la culture H1, en fonction de la concentration du métal dans les solutions hydroponiques. Pour un même niveau de concentration, les barres surmontées par une même lettre ne sont pas significativement différentes. Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4-1.**

L'ajustement obtenu pour la culture H4 montre une erreur standard très élevée (Tableau 4-4), notamment sur le paramètre  $I_{max}$ , étant donné la tendance linéaire de la courbe. Les valeurs des paramètres de l'équation de Michaelis-Menten sont données dans le Tableau 4-4. Le paramètre  $K_m$  était plus de quatre fois supérieur dans le cas de la culture H2 par rapport à la culture H1, alors que  $I_{max}$  n'était pas différent entre les deux cultures. Les valeurs de  $I_{max}$  et de  $K_m$  des maïs âgés de 24 jours (H3) étaient respectivement deux fois inférieure et trois fois supérieure à celles des maïs âgés de 12 jours (H2). Les influx maximaux pour les cultures H4 et H5 étaient respectivement 6 et 3 fois supérieurs à celui de la culture H2, de même les valeurs de  $K_m$  étaient 28 et 9 fois inférieures à celles de H2.

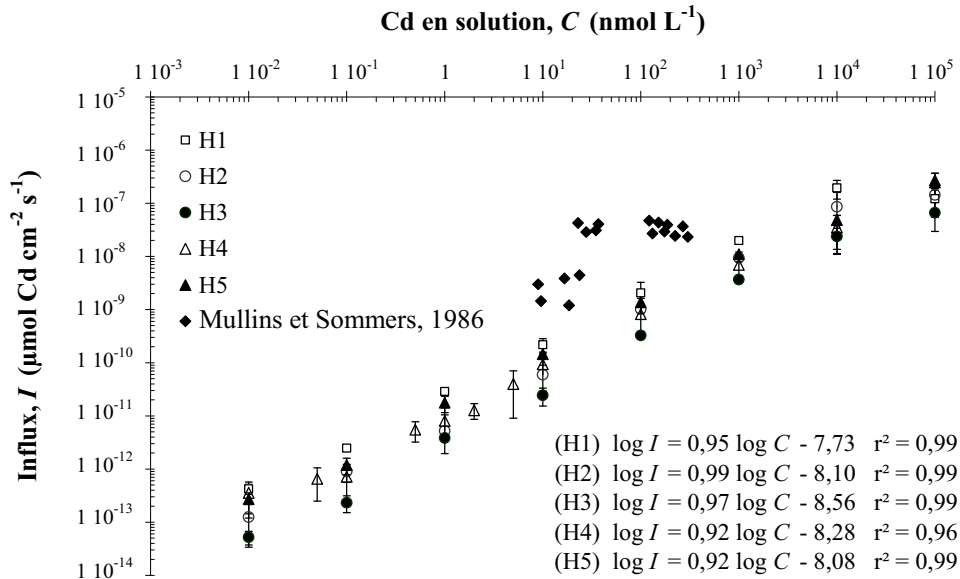


Figure 4-5. Influx moyens de Cd dans les racines en fonction de la concentration de Cd dans les solutions hydroponiques (échelles logarithmiques) pour cinq cultures de maïs. Chaque valeur, répétée quatre fois, est au milieu d'un segment de deux écarts types. La régression linéaire n'inclut pas le dernier niveau de contamination. Pour plus de détails sur les solutions, voir le Tableau 4-1.

Tableau 4-4. Valeurs des paramètres  $I_{max}$  (μmol cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) et  $K_m$  (μmol) obtenus pour les ajustements des données de prélèvement par l'équation de Michaelis-Menten, ainsi que les paramètres descripteurs de la qualité de la régression mathématique,  $\chi^2$  et R.

paramètres	H1		H2		H3		H4		H5	
	valeurs	erreur standard	valeurs	erreur standard	valeurs	erreur standard	valeurs	erreur standard	valeurs	erreur standard
$I_{max}$	1,63 10 <sup>-7</sup>	± 0,20 10 <sup>-7</sup>	1,57 10 <sup>-7</sup>	± 0,09 10 <sup>-7</sup>	8,29 10 <sup>-8</sup>	± 1,32 10 <sup>-8</sup>	9,54 10 <sup>-7</sup>	± 9,82 10 <sup>-7</sup>	4,46 10 <sup>-7</sup>	± 1,89 10 <sup>-7</sup>
$K_m$	2,05	± 1,28	8,93	± 1,87	24,80	± 12,81	251,72	± 359,75	80,72	± 72,76
$\chi^2$	5 10 <sup>-14</sup>	-	5 10 <sup>-15</sup>	-	4 10 <sup>-15</sup>	-	3 10 <sup>-14</sup>	-	5 10 <sup>-14</sup>	-
R	0,84	-	0,97	-	0,88	-	0,95	-	0,91	-



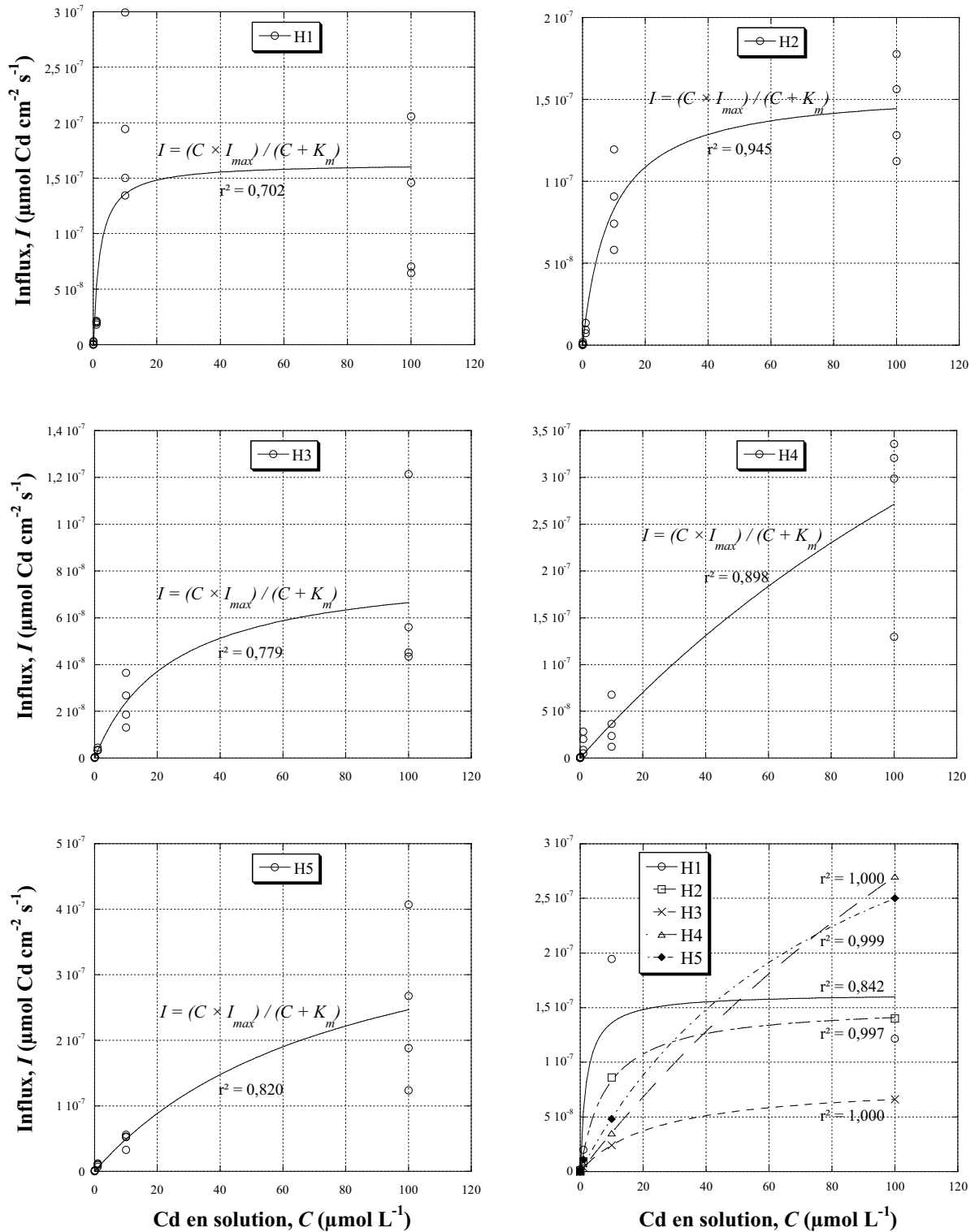
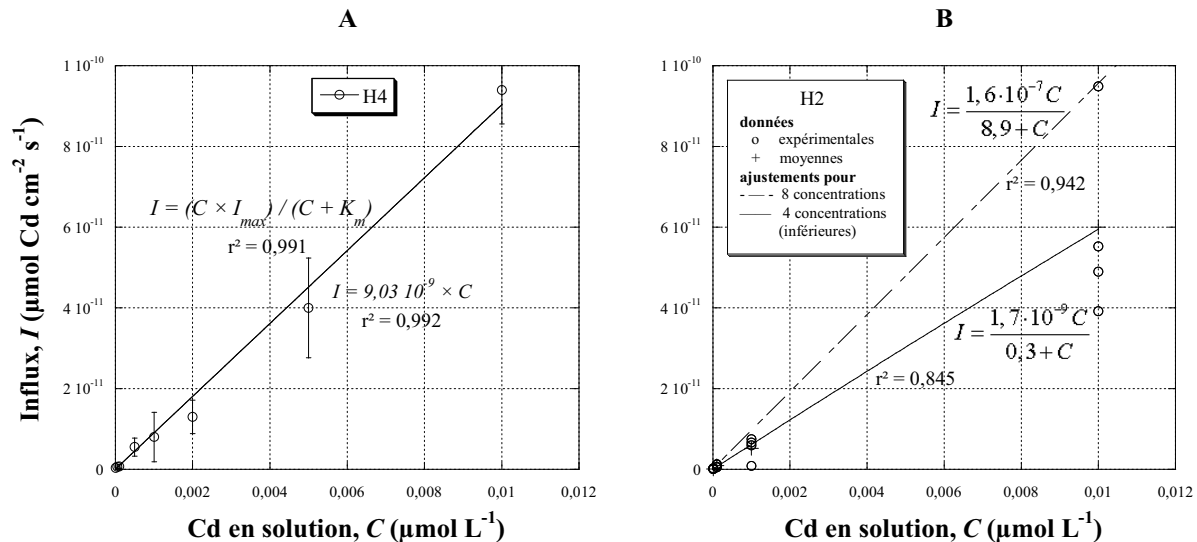


Figure 4-6. Ajustements par la fonction de Michaelis-Menten des influx mesurés en fonction de la concentration de Cd en solution pour les cinq cultures. Le dernier graphique représente ces cinq courbes à partir des valeurs moyennes d'influx par niveau de concentration.

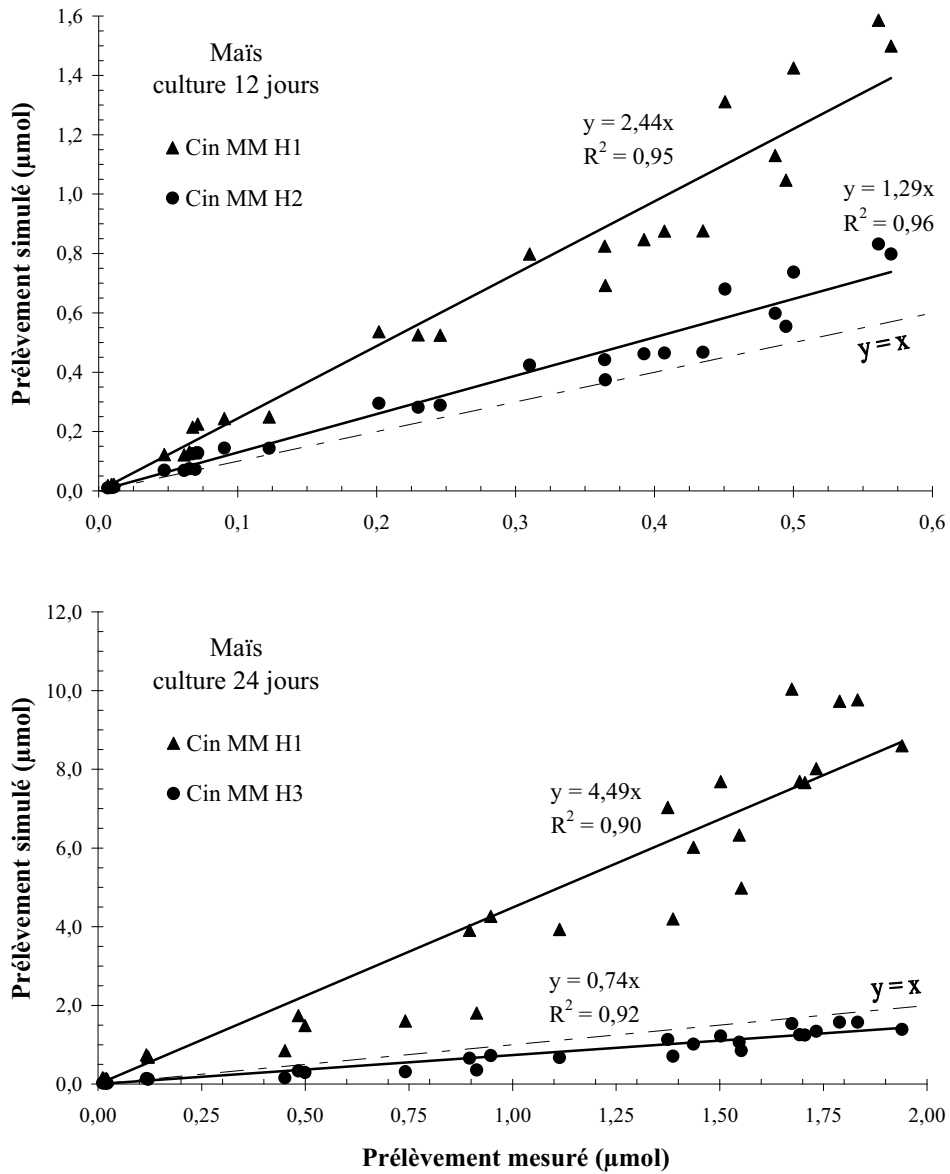
Lorsque l'ajustement de l'influx par l'équation de Michaelis-Menten a été réalisé aux concentrations plus basses, il se confond parfaitement avec une régression linéaire (Figure 4-7 A). Par ailleurs la Figure 4-7 B montre une divergence importante de la modélisation des données à différentes échelles. En effet l'équation de Michaelis-Menten appliquée sur l'ensemble des données surestime l'influx aux basses concentrations jusqu'à un facteur deux.



**Figure 4-7. Influx racinaire du Cd dans les faibles concentrations en solution (échelles arithmétiques) pour le maïs âgé de 12 jours (culture H4 et H2). A. Chaque valeur est au centre d'un segment de deux écarts types et a été répétée quatre fois. B. L'ajustement des données par la courbe de Michaelis-Menten a été réalisé sur la gamme complète des concentrations utilisées ainsi que sur les quatre niveaux les plus faibles.**

### 3.4. Simulation du prélèvement de Cd

Des simulations du prélèvement de Cd par le maïs ont été réalisées en utilisant le pouvoir tampon calculé à partir de la méthode des cinétiques d'échange isotopique ( $E(t)/C_{liv}$ ) et les nouveaux paramètres de la cinétique d'absorption obtenus précédemment. L'utilisation du modèle UPTAKE nécessite de décrire l'absorption par une fonction de Michaelis-Menten, c'est pourquoi nous avons testé ici uniquement ce formalisme. Les résultats des simulations pour les deux plantes sont présentés dans la Tableau 4-5. Des corrélations significatives entre les prélèvements simulés et mesurés ont été obtenues pour les deux cultures. Lorsque les fonctions d'absorption étaient décrites dans la solution S<sub>2</sub>, faiblement pourvue en oligo-éléments, les prélèvements simulés étaient surestimés d'un facteur 2,4 pour le maïs de 12 j et d'un facteur 4,5 pour le maïs de 24 j (Figure 4-8). En revanche, lorsque les paramètres étaient mesurés dans des solutions bien pourvues en oligo-éléments (S<sub>2</sub>), les prélèvements simulés étaient plus proches de ceux mesurés. Dans ce cas, le modèle surestimait les prélèvements du maïs âgé de 12 j de 29 % et sous-estimait ceux du maïs de 24 j de 26 %. Les paramètres de cinétique d'absorption obtenus à partir des cultures H4 et H5 sous-estimaient d'un facteur 2 environ les prélèvements du maïs de 12 jours alors que ces paramètres permettaient une corrélation correcte du prélèvement des maïs de 24 jours.



**Figure 4-8. Relations entre le prélèvement simulé par le modèle et le prélèvement mesuré dans la plante pour les maïs âgés de 12 ou 24 jours en considérant les paramètres cinétiques mesurés dans les cultures H1, H2 ou H3 qui ont été décrits par des ajustements de Michaelis-Menten (cin MM).**

**Tableau 4-5. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction des paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  obtenus pour les cultures H1 à H5. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination.**

Culture utilisée	gamme de contamination simulée	Maïs âgé de 12 j		Maïs âgé de 24 j	
		$r^2$	$a$	$r^2$	$a$
H1	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,95	2,44	0,90	4,49
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,88	3,73
H2	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,96	1,29	-	-
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	-	-
H3	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,92	0,74
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,91	0,63
H4	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,96	0,42	0,92	0,84
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,90	0,72
H5	0 à 7 mg kg <sup>-1</sup>	0,96	0,57	0,92	1,15
	0 à 2 mg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,90	0,98

## 4. Discussion

### 4.1. Translocation de Cd vers les parties aériennes

La translocation du métal vers les parties aériennes du maïs cultivé en sol (chapitre 2) était beaucoup plus importante que celle qui a eu lieu en hydroponie. Dans les expériences en pot, les quantités de Cd dans les racines étaient généralement au moins égales ou inférieures (jusqu'à deux fois) aux quantités dans les feuilles. En hydroponie, les quantités de Cd dans les racines étaient en moyenne cinq fois supérieures à celle des feuilles. Ce résultat est en accord avec les données de Florijn et Van Beusichem (1993), qui ont montré pour 19 lignées de maïs différentes un rapport de concentration de Cd racine/feuille allant de 1,2 à 57,8 dont 15 des lignées avaient un rapport supérieur à 4. En hydroponie, la faible translocation peut être la conséquence de complexations du Cd par des phytochélatines (Rauser et Meuwly, 1995 ; Rauser, 2003 ; Souza et Rauser, 2003). La découverte de mécanismes de transport du Cd et du complexe Cd-phytochélatine à travers le tonoplaste (Salt et Wagner, 1993 ; Salt et Rauser, 1995) soutient l'idée que les vacuoles constituent une voie de détoxification (Salt *et al.*, 1995b ; Liu et Kottke, 2003). L'élément semble être acheminé vers les feuilles avec les éléments nutritifs lorsqu'il est en faible quantité dans la plante, mais à partir d'un certain seuil le Cd semble être pris en charge au niveau racinaire pour être stocké. Les différences de translocation racine/feuille observées entre la culture en pot et l'hydroponie doivent être confirmées et méritent une attention particulière pour comprendre les mécanismes impliqués.

Aucun retard de croissance n'a été induit dans les solutions hydroponiques, excepté pour le niveau de concentration le plus élevé ( $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), où les niveaux toxiques de Cd dans les feuilles donnés par Page *et al.* (1981) étaient atteints. La séquestration du Cd au niveau racinaire a parfois provoqué une légère chute de croissance des racines pour les traitements les plus contaminés (Tableau 4-2). La principale conséquence de cette stratégie semble être une limitation de la toxicité du Cd puisque, habituellement, celle-ci s'exprime plus particulièrement au niveau foliaire et qu'ici elle n'apparaît pas. Ce ralentissement de croissance racinaire a également été observé chez *Arabidopsis thaliana* développée dans  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$  (Suzuki, 2005). Dans cette étude, aucune baisse significative d'élongation racinaire n'a été observée en dessous de  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$ . L'élongation racinaire était quasiment nulle dès  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  alors que les feuilles poussèrent très lentement. Au-delà de  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  les plantes mourraient. De plus la présence de 30 mM de Ca inhibait complètement la toxicité du Cd ajouté à des concentrations de  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Bien que les teneurs de Ca dans notre étude n'atteignaient pas ces valeurs nous pouvons penser qu'elles ont contribué à limiter l'effet de la toxicité du Cd.

#### 4.2. Exposition préalable au Cd durant la culture

Nous n'avons pas mesuré de différence marquée de l'influx de Cd entre la culture H5 (sans Cd préalable) et la culture H4 avec pré-exposition au Cd. De même aucune différence de Cd désorbé dans les bains de  $\text{CaCl}_2$  et de Cd froid, n'a été observée entre les plants exposés ou non au Cd durant la culture (données non présentées). Le développement de la plante dans une solution cadmiée ne change *a priori* pas les propriétés d'adsorption de la paroi cellulaire. Nous supposons que le Cd ajouté pendant la culture puisse saturer les sites d'adsorption du compartiment extra-cellulaire (paroi pecto-cellulosique) de telle manière que le Cd ajouté durant l'expérience d'absorption soit peu adsorbé dans l'apoplasme et pénètre principalement dans les cellules des racines. Le Cd irréversiblement lié sur les racines de soja peut représenter 20 à 45 % de la quantité absorbée (Cataldo *et al.*, 1983a). Ainsi, si la phase de désorption utilisée par de nombreux auteurs ( $\text{CaCl}_2$  et solution de Cd) peut être efficace pour retirer une partie du Cd adsorbé, l'absorption peut être surestimée si le Cd apoplasmique total n'est pas bien évalué. Les méthodes d'évaluation de l'adsorption d'éléments très réactifs avec les parois des cellules racinaires restent donc à améliorer.

Lorsque la concentration interne dans la plante augmente, l'absorption racinaire diminue. Ceci est bien connu pour les éléments nutritifs (Marschner, 1995). Toutefois bien qu'il existe de nombreuses études concernant l'absorption du Cd par les racines, très peu d'entre elles ne permettent de comprendre l'effet possible des concentrations internes de Cd dans la plante sur sa propre absorption. Certains auteurs ont montré que le taux de prélèvement de Cd d'*Arabidopsis thaliana* augmentait significativement après des expositions croissantes au Cd durant la culture (Larsson *et al.*, 2002). Petit *et al.* (1978) ont observés que le taux de prélèvement de Cd par des racines de tomate augmentait puis se stabilisait lorsque le contenu de Cd dans la racine augmentait. Cet effet stimulant du Cd sur sa propre absorption pourrait refléter l'induction d'une synthèse de métallo-thionéines ou de phytochélatines qui ont une affinité spéciale pour les métaux lourds (Marschner, 1995). Dans notre cas un tel effet n'a probablement pas eu lieu, puisque le taux d'absorption par les racines est constant, quel que soit le niveau de pré-exposition au Cd.

### 4.3. Influx racinaires en fonction de l'âge des racines

Les influx des plants âgés de 24 jours étaient en moyenne 2,7 fois inférieurs à ceux des plants âgés de 12 jours (Figure 4-2). Ces résultats confirment l'étude de Jungk et Barber (1975), qui ont observés une diminution d'un facteur quatre du prélèvement de P par le maïs entre 12 et 56 jours de culture. Edwards et Barber (1976) ont aussi montré une diminution de  $I_{max}$  du prélèvement de P par le soja en fonction de l'âge de la plante et principalement une augmentation de  $K_m$  d'un facteur 16 entre 34 et 72 jours de culture. Mullins et Sommers, (1986a) ont mesuré une augmentation de  $K_m$  d'un facteur trois pour le prélèvement de Cd de maïs entre 15 et 22 jours de culture. Ceci illustre le fait que les jeunes racines sont plus efficaces que les racines les plus âgées pour prélever les éléments de la solution ou bien qu'une proportion de racines devient inactive pour prélever. Dans notre cas, cela signifierait que seulement 40 % de la surface racinaire des maïs de 24 jours serait réellement efficace pour absorber le Cd avec les mêmes performances d'absorption que les racines de 12 jours.

### 4.4. Absorption du Cd selon la composition de la solution de prélèvement

La compétition des éléments nutritifs avec le Cd a largement été étudiée et particulièrement pour le Zn. Lorsque le Zn est suffisamment disponible, l'ajout de Zn en solution entraîne, soit une augmentation synergique des prélèvements de Zn et de Cd, soit aucun effet sur le prélèvement de Cd. Tandis qu'à basse concentration de Zn (ou aux concentrations plus réalistes), l'augmentation de Zn a un effet antagoniste sur le prélèvement de Cd (Welch *et al.*, 1999). L'augmentation des concentrations de Cu, de Fe ou de Mn entraîne une diminution de l'absorption de Cd, bien que la compétition entre Mn et Cd ne soit pas toujours mentionnée. (Cataldo *et al.*, 1983a ; Costa et Morel, 1993 ; Jarvis *et al.*, 1976 ; Keltjens et van Beusichem, 1998). Il a également été montré que des concentrations élevées de Cl induisent l'augmentation de l'absorption du Cd (Boukhars *et al.*, 2000 ; Mühlhing et Läuchli, 2003 ; Smolders et McLaughlin, 1996a ; Smolders et McLaughlin, 1996b), et que la formation de complexes chloro-cadmies augmente la phytodisponibilité du Cd des déchets d'origine biologique (Weggler *et al.*, 2004). Ainsi la réduction des éléments entrant en compétition avec l'absorption du Cd combinée avec l'ajout d'une grande concentration de chlorures ( $S_2$ ) ont probablement conduit à augmenter l'influx d'un facteur trois comparé aux influx mesurés dans des solutions bien pourvues en oligo-éléments et sans chlorures ( $S_1$ ). Ces compétitions entre oligo-éléments et Cd semblent privilégier l'hypothèse d'une absorption de Cd par des transporteurs non spécifiques à l'élément. Par ailleurs, la plupart des études concernant les cinétiques de prélèvement racinaire ont été réalisées dans des solutions contenant seulement du Cd et du  $CaCl_2$  0,5 mmol L<sup>-1</sup>. Dans ces conditions, nous pouvons nous demander si les paramètres déduits de ces études de cinétiques sont réalistes et s'ils peuvent être utilisés dans des modèles mécanistes.

### 4.5. Nycthémère et durée de l'absorption

De nombreux processus biologiques et physiologiques sont contrôlés au cours d'un rythme nycthéméral, particulièrement par l'alternance jours/nuit et par les variations de température. L'absorption d'ions par les racines peut être modifiée indirectement par ces processus qui contrôlent la photosynthèse, la transpiration foliaire, ou l'activité enzymatique (Marschner, 1995). Claassen et Barber (1974) ont montrés que l'influx net de K est

sévèrement déprimé durant la période nocturne de la plante, puis augmente rapidement dès que la lumière revient. Dans notre cas, nous n'avons observé aucune différence significative entre les influx de Cd mesurés soit durant un cycle circadien soit durant le milieu de journée avec une température optimale. De ce fait il semblerait que l'absorption de Cd par le maïs ne soit pas sous la dépendance de processus métaboliques.

#### 4.6. Cinétiques d'absorption de Cd par le maïs, une composante saturable ?

Bien qu'ils présentent des forts coefficients de détermination, les ajustements par l'équation de Michaelis-Menten semblent mal adaptés à nos données. En effet, le plateau de  $I_{max}$  est atteint par le simple fait que l'influx, mesuré dans le niveau de concentration le plus élevé de notre gamme, ait ralenti, alors qu'il reste linéaire dans la gamme inférieure. De plus, le modèle de Michaelis-Menten est mal ajusté aux basses concentrations, puisque les valeurs élevées d'influx ont le plus de poids dans la régression. Dans la littérature, certains auteurs ont utilisés la transformation de Lineweaver et Burk (Costa et Morel, 1993 ; Epstein et Hagen, 1952 ; Homma et Hirata, 1984). Cette linéarisation obtenue en prenant la fonction inverse de l'équation de Michaelis-Menten, comporte le défaut de donner trop de poids aux valeurs expérimentales les plus imprécises, celles correspondant aux influx des plus petites concentrations en solution. Cette transformation modifie fortement le poids statistique des points expérimentaux, qui peuvent conduire à une erreur importante sur le calcul de  $I_{max}$ . Des linéarisations en utilisant les équations suivantes sont davantage préconisées :

$$\text{Eq 4.3 : } \quad \frac{I}{C} = \frac{I_{max}}{K_m} - \frac{1}{K_m} I,$$

$$\text{Eq 4.4 : } \quad \frac{C}{I} = \frac{K_m}{I_{max}} + \frac{1}{K_m} C$$

Dans notre étude nous avons obtenu des ajustements grâce à un logiciel, ce qui statistiquement est plus correct, mais les basses concentrations restent mal modélisées. Si malgré cela, on considère l'ajustement au modèle de Michaelis-Menten comme valable, on constate que les valeurs de  $I_{max}$  mesurées dans notre étude sont entre 2 et 24 fois supérieures à celles données par Mullins et Sommers (1986a). De même la valeur de  $K_m$  est près de 250 fois supérieure à celle de ces auteurs pour les plants de 24 jours et jusqu'à 8000 fois supérieure pour les plants de 12 jours.

Les simulations réalisées ont montré une assez bonne évaluation du prélèvement de Cd par le modèle lorsque les influx sont décrits par une fonction de Michaelis-Menten, ajustant les cultures H2 ou H3. Les paramètres de la culture H1 ont conduit à une surestimation du prélèvement mesuré probablement pour les raisons énoncées dans le paragraphe 4.4. Bien que les influx des plants de cultures H4 et H5 étaient en moyenne légèrement supérieurs à ceux des plants de la culture H2, les fortes valeurs de  $K_m$  obtenues des ajustements des cultures H4 et H5 ont entraîné une sous-estimation du prélèvement.

Dans le chapitre 3, l'utilisation des paramètres de la cinétique d'absorption de Mullins et Sommers (1986a) pour simuler le prélèvement du maïs entraînait une surestimation de facteurs 3 à 4 respectivement pour les maïs âgés de 12 et 24 jours. Il est donc probable que

Mullins et Sommers aient surestimé la demande de la plante. Par ailleurs, ceci pourrait expliquer la surestimation de 41 % du prélèvement de Cd par le modèle UPTAKE dans une autre étude (Mullins *et al.*, 1986).

L'ajustement des influx racinaires par une courbe de Michaelis-Menten réalisé par ces auteurs est pour le moins douteux : la Figure 4-9 montre que les points expérimentaux suivent mal le modèle.

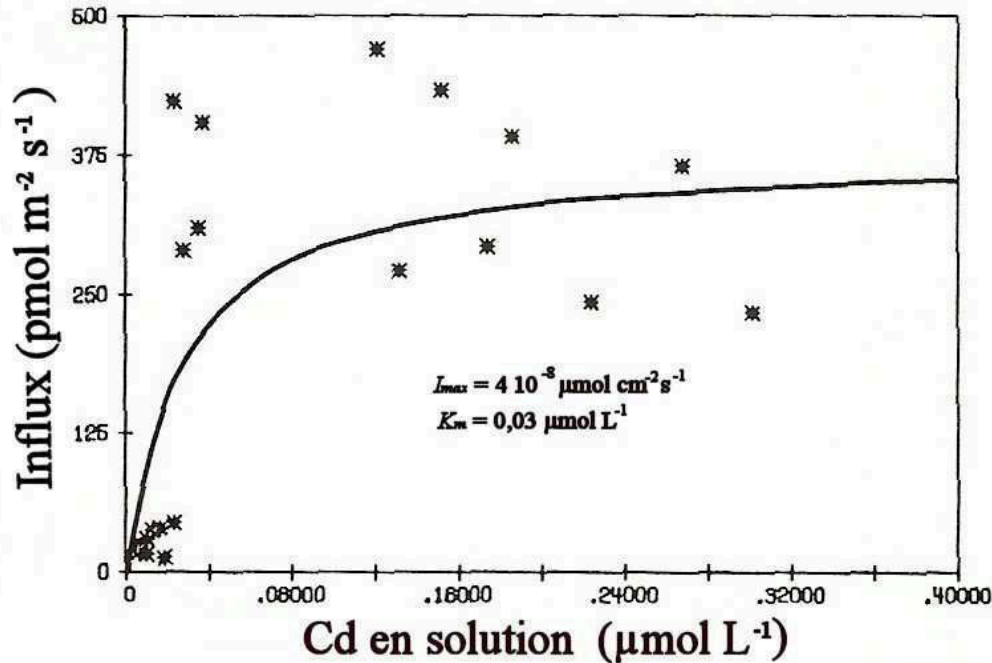


Figure 4-9. Influx moyen de plants de maïs âgés de 15 jours en fonction de la concentration de Cd libre en solution (extrait de Mullins et Sommers, 1986a). La courbe est un ajustement des données par l'équation de Michaelis-Menten.

Il semblerait donc plus logique de considérer que l'influx racinaire de Cd que nous avons observé suive une fonction linéaire de la concentration en solution de l'élément, sauf pour la teneur la plus élevée, pour laquelle on peut soupçonner une modification de la structure des racines à cause d'une toxicité. Toutefois, le modèle ne permet pas de tester un tel formalisme. Nous pouvons interpréter l'allure linéaire comme un mouvement diffusif de l'ion à travers des canaux cationiques. Lindberg *et al.* (2004) ont montré chez le blé tendre, grâce à des techniques de fluorescence, que le Cd empruntait les mêmes canaux que ceux perméables au calcium et au potassium. A la surface externe de la membrane plasmique il existe un fort potentiel électrique négatif, de plus l'activité du  $\text{Cd}^{2+}$  cytosolique est faible. Cela constitue une force suffisante permettant de prélever le  $\text{Cd}^{2+}$  dans les cellules racinaires et comme proposaient Welch et Norvell (1999), des transporteur actifs spécifiques au  $\text{Cd}^{2+}$  ne semblent pas nécessaires pour que l'élément entre dans les cellules racinaires même aux basses concentrations. Comme nous l'avons déjà dit, plusieurs auteurs ont montrés que les cinétiques de prélèvement racinaire du Cd avaient une composante saturable, suggérant l'implication de transporteurs membranaires dont le fonctionnement est décrit par les paramètres de l'équation de Michaelis-Menten. L'utilisation d'inhibiteurs métaboliques ou d'inhibiteurs de



transporteurs d'enzymes (Costa, 1992 ; Hart *et al.*, 1998) a confirmé l'existence d'une absorption active et passive du Cd. Toutefois, une étude détaillée des courbes d'influx de la littérature, nous a suggéré que la composante saturable n'était pas clairement établie dans de nombreux travaux. Si l'allure saturée de l'influx de Cd par le tabouret calaminaire semble plus évidente, il n'en est pas le cas pour le soja (Cataldo *et al.*, 1983a), le lupin blanc (Costa et Morel, 1993), le maïs (Mullins et Sommers, 1986a), la moutarde brune (Salt *et al.*, 1995a) ou encore le champignon *Paxillus involutus* (Blaudez *et al.*, 2000). En effet les ajustements par des équations de Michaelis-Menten dans ces travaux semblent hasardeux. Dans la plupart des cas un ajustement linéaire aurait été plus approprié. Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré que le passage du Cd dans les racines d'orge (Cutler et Rains, 1974) et dans une levure (Pence *et al.*, 2000) modifiée génétiquement avec *ZNT1* (codant le transporteur de Zn et de Cd par hypothèse), se fait principalement par diffusion passive et sans processus métaboliques. Enfin des cinétiques d'absorption linéaires en fonction de la concentration de Cd ont été mesurées chez la bactérie *Alcaligenes eutrophus*, où le Cd<sup>2+</sup> serait transporté grâce à des transporteurs du Mn nécessitant de l'énergie (Nies et Silver, 1989a).

Des études récentes chez le maïs montrent que la subérisation de l'endoderme et de l'exoderme est quasiment nulle en hydroponie alors que les cellules sont subérisées à 93 % dans les racines non immergées dans l'eau (Enstone et Peterson, 1998 ; Freundl *et al.*, 2000). La régulation de l'extension et de la composition chimique (subérine aliphatique ou aromatique, lignine) de ces barrières au niveaux de l'exoderme et de l'endoderme, sous l'effet de stress divers (sécheresse, anoxie, métaux lourds, stress nutritionnel...), permet aux plantes de contrôler leur prélèvement ou les pertes d'eau et de nutriments (Hose *et al.*, 2001). Le "modèle composite de transport" de Steudle et Peterson (1998), propose un fonctionnement du prélèvement d'eau selon les voies symplasmique et/ou apoplasmique en fonction des contraintes physiologiques et environnementales. Les résultats de Meychik et Yermakov (2001) suggèrent que le compartiment apoplasmique puisse jouer un rôle dans l'accumulation des cations grâce aux propriétés de sorption des parois cellulaires. Ceci pourrait expliquer la plus forte accumulation de Cd dans les racines développées en hydroponiques par rapport à celles des cultures en pot, et donc la différence de translocation vers les parties aériennes. En outre, il n'est pas exclu qu'en conditions hydroponiques, une voie apoplasmique importante, voire croissante avec l'exposition en métal, contribue au prélèvement du Cd. Des cultures en aéroponie seraient donc à envisager afin de réduire ce biais.

## 5. Conclusion partielle

Nous avons supposé une diminution des paramètres de la cinétique d'absorption racinaire ou une chute brutale du prélèvement de Cd par la plante en cas de toxicité. Cette hypothèse n'a pas pu être testée, car les plants n'ont pas été intoxiqués par le Cd en conditions hydroponiques (mis à part dans le dernier niveau de concentration). La faible translocation du Cd vers les parties aériennes, constatée en culture hydroponique, est probablement l'effet d'une séquestration au niveau racinaire, dans les vacuoles notamment, ou bien au niveau du compartiment apoplasmique. Ces mécanismes encore mal connus doivent être étudiés afin de comprendre leur déterminisme et leur prépondérance en hydroponie et surtout dans les conditions de culture en sol.

Les ajustements des influx mesurés dans notre étude par la fonction de Michaelis-Menten semblent confirmer que la demande de la plante a été surestimée dans les chapitres précédents. L'augmentation du paramètre  $K_m$  a permis de simuler plus correctement les prélèvements du maïs de 12 et 24 jours. Toutefois des ajustements de nos données par des

fonctions non saturantes seraient plus appropriés. Nous testerons différents types de fonctions pour décrire l'absorption du maïs, dans la dernière partie de ce travail.

La culture en hydroponie est une approche intéressante pour étudier les phénomènes physiologiques et en particulier l'absorption racinaire. Le milieu est ainsi homogène et contrôlé par rapport à la composition des éléments. Idéalement la composition de la solution doit mimer celle du sol de l'étude. Les inconvénients de la méthode doivent toutefois rester présents lors de l'interprétation, en particulier le fait que l'hydroponie ne permet pas l'existence d'une rhizosphère, ne confère aucun support à la plante pouvant entraîner une sous-estimation des quantités exsudées (Marschner, 1995). On peut citer également des différences de morphologie racinaire entre sol/sable/hydroponie/aéroponie (peu de littérature) ou bien encore considérer que les populations bactériennes sont plus faibles et différentes de celles des sols (Le Bot *et al.*, 1998).

Les cinétiques d'absorption racinaire du Cd sont nettement dépendantes des conditions expérimentales, en particulier de la composition de la solution de prélèvement et de l'âge de la plante. Dans un but de modélisation, ces conditions doivent être les plus proches des conditions simulées. La méthode classique de mesure de la cinétique d'absorption donne la possibilité de comparer la capacité des plantes à prélever les nutriments sans toutefois nous permettre de comprendre les mécanismes. Les processus d'absorption racinaire sont complexes et dépendent de nombreux facteurs. Cette modélisation empirique de l'absorption n'est donc valable que dans des conditions restreintes, celles de l'expérience. Pour intégrer de tels processus dans un modèle, il n'est pas possible de décrire toutes les situations empiriquement. Une meilleure compréhension de l'influence de ces facteurs sur le prélèvement doit être envisagée.

# Chapitre 5. Mesure de la cinétique d'absorption racinaire du Cd chez le tabouret calaminaire

## 1. Introduction

Le tabouret calaminaire (*Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl) est un candidat très approprié pour la phytoextraction du Cd. Néanmoins, nous manquons de connaissances sur les mécanismes de l'absorption racinaire des métaux par cette espèce et en particulier sur la fonction d'absorption. L'aptitude de la plante à prélever l'élément au niveau du chevelu racinaire serait à l'origine de la forte accumulation de Cd dans les racines (Bernard *et al.*, 2004). De plus, le compartiment extra-cellulaire, constitué des parois pecto-cellulosiques et de l'espace intercellulaire, possède des capacités d'adsorption non négligeables. Cependant, Zhao *et al.*, (2002), suggèrent que les apoplastes racinaires présentent les mêmes caractéristiques d'adsorption chez différentes populations et que la variabilité quant à l'accumulation serait due à une variabilité d'absorption symplasmique. Alors que le Cd serait séquestré à plus de 90 % dans les vacuoles des cellules foliaires (Ma *et al.*, 2003), il occuperait principalement le compartiment apoplastique dans les racines (Boominathan et Doran, 2003a). Les résultats de la littérature concernant les influx de Cd dans les racines en fonction de la concentration en solution du Cd montrent généralement deux composantes. La première, saturante, de type Michaelis-Menten, est associée à un passage trans-membranaire facilité (Zhao *et al.*, 2002 ; Lombi *et al.*, 2001). L'autre composante, non saturante, est interprétée comme de l'adsorption apoplastique (Lombi *et al.*, 2001) mais pourrait également témoigner d'une diffusion simple à travers les parois et les membranes plasmiques, par l'intermédiaire de voies non spécifiques. Les auteurs précisent en outre que la composante saturante des populations non-accumulatrices, peu apparente, est peut-être à remettre en question : l'absorption membranaire n'impliquerait pas systématiquement l'intervention d'un transporteur. Il existe d'une part une forte variation des paramètres d'absorption d'une population à une autre, mais d'autre part des différences importantes également entre les différents auteurs. Lasat *et al.* (1996) donne un  $K_m$  dix fois supérieur à la valeur proposée par Lombi *et al.* (2001) pour la même population de Prayon. Ceci suggère une variation du paramètre d'affinité soit à l'intérieur d'une même population soit en rapport avec les conditions expérimentales. De plus d'après Schwartz (1997), la population de Viviez, semble accumuler près de dix fois plus que la population de Prayon, alors que d'après Lombi *et al.* (2001) la population de Ganges semble accumuler près de cinq fois plus que la population de Prayon. Il est donc fortement probable que les paramètres utilisés dans le chapitre 2 (Ganges) soient mal adaptés pour la population utilisée dans notre étude (Viviez). Ainsi une mauvaise estimation des paramètres de cinétique d'absorption racinaire pourrait expliquer une partie de la variance résiduelle de la corrélation entre les prélèvements simulé et mesuré par l'hyperaccumulateur. Par ailleurs, Pence *et al.* (2000) montrent que les protéines membranaires responsables de l'absorption de Cd chez *Thlaspi caerulescens*, exprimées chez une levure, entraînent une absorption non saturante de Cd. Ceci remet en question le modèle de Michaëlien-Menten.

Nous avons entrepris d'utiliser deux méthodes de mesure de ces paramètres, pour vérifier leur convergence vers les mêmes résultats. La première est la méthode dite d'épuisement ou de déplétion de l'élément en solution (Claassen et Barber, 1974). Elle consiste à suivre l'accumulation du Cd dans la plante en mesurant la quantité restante dans la solution au cours de son épuisement et à en déduire la relation entre influx et concentration en solution. La deuxième consiste à immerger des racines pendant quelques minutes dans des solutions couvrant une gamme de concentrations comprises entre 0,05 et 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Le  $^{109}\text{Cd}$  radioactif est le traceur choisi pour quantifier le cadmium restant en solution ou passé dans la plante. Une difficulté récurrente dans la mesure de l'absorption racinaire est de distinguer la part de Cd adsorbé sur les parois racinaires (apoplasme), de celle réellement absorbée dans le symplasma (compartiment interne délimité par les membranes plasmiques, et en continuité entre les cellules). Dans la littérature, les courbes d'épuisement présentent une brusque chute pendant les 45 premières minutes. Les auteurs ont coutume d'éliminer ces points, les interprétant comme dus à la rapide adsorption du Cd sur l'apoplasme racinaire. Une mesure de l'absorption à 2 °C leur permet de caractériser l'adsorption sur la racine. Dans la seconde méthode de mesure des paramètres cinétiques, on évite de surestimer la quantité de Cd absorbée en immergeant les racines dans des bains de désorption pour échanger le  $^{109}\text{Cd}$  adsorbé sur les parois avec du Cd stable. Toutefois ces deux méthodes de prise en compte de l'adsorption racinaire ne sont pas entièrement satisfaisantes. En effet dans le premier cas, le froid n'inhibe pas totalement l'absorption membranaire et il réduit l'adsorption apoplasmique (Hart *et al.*, 1998 ; Marschner, 1995), ce qui risque de mener à une sous-estimation du Cd adsorbé et à l'ignorance d'une diffusion simple de Cd à travers les membranes. Par ailleurs, les bains désorbants ne permettent d'éliminer qu'une partie assez faible du Cd adsorbé sur l'apoplasme, que l'on peut qualifier de fixé réversiblement à la paroi (Lombi *et al.*, 2001).

La répartition et les liaisons du Cd dans l'apoplasme sont des phénomènes encore mal caractérisés. La paroi semble avoir une très forte réactivité vis-à-vis du Cd, et le piège avec plus ou moins d'affinité. Pour nous affranchir de cette adsorption, notre stratégie a consisté à saturer les sites de fixation irréversible du Cd avec du cadmium (non-radioactif) durant la culture, avant de commencer les cinétiques d'absorption du  $^{109}\text{Cd}$ . Les conditions expérimentales étaient ainsi plus proches des conditions environnementales réelles des plantes puisque celles-ci se sont développées dans un milieu comportant du Cd. Le Cd fixé réversiblement sera estimé par comptage du Cd dans les bains désorbants. Nous espérons ainsi obtenir des courbes de prélèvement illustrant de façon plus juste l'absorption membranaire symplasmique à travers les membranes cellulaires des racines. Il s'agira alors de vérifier si nous retrouvons la cinétique d'allure michaelienne décrite dans la littérature ou si subsiste la combinaison d'une composante saturante et d'une composante linéaire, qu'il faudrait alors non plus interpréter comme de l'adsorption mais comme de l'influx passif à travers la membrane.

Notre objectif dans l'optique de la modélisation du prélèvement du Cd par le tabouret calaminaire consiste à mesurer ses paramètres cinétiques d'absorption pour l'ion Cd et l'allure de la courbe d'absorption sans idée préconçue. De plus, du fait de la grande variabilité de prélèvement de Cd au sein d'une même population de tabouret calaminaire et entre les populations, nous mesurerons les paramètres cinétiques pour différentes populations ainsi que leur variabilité au sein du même écotype. Nous tenterons également de caractériser les proportions de Cd dans les différents compartiments apoplasmique et symplasmique des racines pour connaître la part de Cd réellement absorbée et ceci au cours des premiers instants de l'expérience.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Nous avons cherché à obtenir les paramètres cinétiques auprès de trois populations de tabouret calaminaire aux performances accumulatrices contrastées (Tableau 5-1) : Viviez, Vz (Aveyron) hyperaccumulateur de Cd ; Durfort, Dt (Ariège) accumule le Cd deux fois moins que Vz ; Bergenbach, Bh prélevée sur la colline du Bergenbach près de Fellinging (Haut-rhin) hyperaccumule le Nickel (Ni) mais pas le Cd.

**Tableau 5-1. Concentrations moyennes en Cd, Zn et Ni mesurées dans les matières sèches de trois écotypes de tabouret calaminaire (d'après Schmitt-Sirguey, 2004 et Reeves *et al.*, 2001).**

Ecotype		Concentration foliaire (mg kg <sup>-1</sup> MS)		
		Cd	Zn	Ni
Viviez,	Vz	1412	7001	< 0,1
Durfort,	Dt	718	6680	< 0,1
Bergenbach,	Bh	30	2800	200

### 2.2. Culture hydroponique

Les graines ont été mises à germer sur du papier filtre disposé sur du coton imbibé d'eau distillée, et placées pendant 8 jours à l'obscurité, dans une étuve à 25 °C. Dès l'apparition de la racine, les plantules ont été transférées dans des cristallisoirs contenant 800 ml de solution nutritive, à raison d'une cinquantaine de plantules par cristallisoir. Les plantules ont été disposées sur un treillis en aluminium (maille de 2 mm) surmontant un disque de bâche noire en plastique pour éviter la lumière sur les racines et la propagation d'algues en solution. La composition de la solution nutritive (Zhao *et al.*, 2002) était la suivante, (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) : 3500 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 1500 MgSO<sub>4</sub>, 1200 KNO<sub>3</sub>, 100 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10 KCl, 10 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 10 MnCl<sub>2</sub>, 7,5 FeSO<sub>4</sub>, 5 ZnSO<sub>4</sub>, 0,7 NiSO<sub>4</sub>, 0,2 CuSO<sub>4</sub>, 0,2 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>. L'utilisation du programme CHESS (van der Lee, 1998) nous a permis de vérifier la disponibilité de tous les éléments nutritifs dans la solution, et notamment que le Cd n'était pas complexé.

Les plantules âgées de deux semaines environ ont été ensuite cultivées pendant deux mois et demi individuellement dans des boîtes en polypropylène (de type Magenta<sup>®</sup>) ou par huit dans des cristallisoirs en verre. Elles ont été disposées sur des flotteurs de polystyrène (5 puis 15 mm d'épaisseur) dans 100 ml par boîte Magenta<sup>®</sup> et 800 ml par cristallisoir. Le milieu nutritif a été renouvelé deux fois par semaine. Suite à des calculs de spéciation réalisés avec Chess, nous avons maintenu le pH entre 4,5 et 5,5 durant la culture, de façon à éviter la précipitation de gypse, de Cd avec les phosphates et d'hydroxydes de fer. Les pots transparents ont été recouverts d'une bâche en plastique noir pour minimiser l'éclairement de la solution nutritive et ainsi y empêcher le développement d'algues. La culture s'est déroulée

en conditions contrôlées, soit une température de 20 °C le jour et 15 °C la nuit, avec une photopériode de 16 h, sous une intensité lumineuse de 300  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  et une humidité relative de 80 %. Durant les deux derniers mois de culture, les racines ont été oxygénées grâce à une aération par bullage de la solution.

Durant le premier mois et demi de culture, certains lots de plantes ont reçu en plus un ajout de  $\text{CdCl}_2$ , pour atteindre 0,01 ou 1  $\mu\text{mol Cd L}^{-1}$  en solution. Le but était de faire croître la plante dans un milieu cadmié comme dans une situation réelle, et également de permettre la saturation de l'apoplasme des racines par du Cd. Ce traitement (dit de « saturation ») a été interrompu durant le dernier mois de culture. En effet, la plante ainsi saturée en Cd ne prélevait quasiment plus de  $^{109}\text{Cd}$  lors des mesures de cinétiques d'épuisement, probablement en raison de l'installation d'un équilibre homéostatique entre la plante et la solution cadmiée. L'efficacité de cette saturation sera discutée à la lumière de nos résultats expérimentaux. Aussi, des expériences sans saturation préalable seront effectuées pour comparer nos résultats à ceux de la littérature.

### 2.3. Essai 1 : Cinétique de prélèvement du Cd dans une solution à concentration en Cd maintenue constante

Avant de réaliser nos mesures de cinétique d'absorption racinaire nous devons déterminer un intervalle de temps durant lequel réaliser cette mesure. Celle-ci devait être effectuée après les phénomènes complexes qui ont lieu aux temps courts, mais avant un ralentissement de l'absorption dû à la saturation de la plante.

Trente plants Vz, cultivés pendant 3 mois en l'absence de Cd, ont été placés pendant 12 heures dans une solution contenant 0,5  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ , afin de perméabiliser la membrane et ainsi favoriser l'entrée de Cd dans les cellules racinaires (Costa, 1992 ; Epstein, 1961 ; Rains *et al.*, 1964).

Chacune des trente plantes a été ensuite transférée dans un pot de 50 ml contenant 0,5  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ , 2  $\text{mmol L}^{-1}$  de tampon MES (le pH a été ajusté à 5,7 avec du KOH à 0,5  $\text{mmol L}^{-1}$ ), 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$  ainsi que 1660  $\text{Bq pot}^{-1}$  de Cd radioactif (Amersham Biosciences, Freiburg, Germany). Les solutions ont été agitées durant l'expérience afin d'empêcher la formation d'un gradient de concentration à la périphérie des racines.

Les concentrations en solution ont été maintenues constantes au cours des 48 heures. Pour ce faire, la concentration en  $^{109}\text{Cd}$  dans chacun des tubes a été mesurée par spectrométrie  $\gamma$  (1480 Wizard 3'', PerkinElmer Life Sciences, Wallec Oy, Turku, Finland) toutes les deux heures pendant les 12 premières heures puis toutes les 6 heures. Ainsi la quantité de traceur était ramenée à 1660  $\text{Bq pot}^{-1}$  en ajoutant la quantité de  $^{109}\text{Cd}$  requise, et de même le Cd stable était réajusté à 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (en tenant compte du ratio isotopique du début de l'expérience).

Aux temps 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 30 h, 36 h et 48 h, trois plantes ont été retirées de la solution cadmiée. Leurs racines ont été placées successivement dans trois bains de 40 ml chacun pendant 10 minutes et contenant 5  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ , 2  $\text{mmol L}^{-1}$  de MES, et 40  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$ . Ces bains ont permis d'extraire de l'apoplasme le Cd ioniquement échangeable (Cataldo *et al.*, 1983a ; Costa et Morel, 1993). La température des bains a été maintenue entre 0 et 4 °C dans des bacs de glace, de manière à éviter l'efflux actif de Cd symplasmique. Après séchage des racines et des feuilles à 80 °C pendant 48 h, le matériel

végétal a été broyé et minéralisé par  $\text{HNO}_3$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$  (8:2, v/v) en réacteur clos au four à micro-ondes (Mars 5, CEM corporation, Inc, Matthews, North Carolina, USA). Les concentrations de Cd dans les plants ont été déterminées par spectrométrie  $\gamma$ , à partir d'aliquotes de 1 ml.

#### 2.4. Essai 2 : Evolution de la répartition du Cd dans l'apoplasme et le symplasme de la racine

Le but de cette expérience était d'évaluer la compartimentation du Cd dans les racines, c'est-à-dire sa répartition entre le symplasme et l'apoplasme, et d'en suivre l'évolution temporelle. Nous avons également évalué les proportions de Cd fixé réversiblement et irréversiblement sur les sites de l'apoplasme.

Cette manipulation concerne des plantes de l'écotype Vz, âgées de trois mois. Un premier lot de 48 plantes a été cultivé pendant un mois et demi dans la solution nutritive additionnée de  $\text{CdCl}_2$  selon les modalités suivantes : 24 plantes dans  $1 \mu\text{mol Cd L}^{-1}$  (Vz-1) et 24 plantes dans  $0,01 \mu\text{mol Cd L}^{-1}$  (Vz-0,01). Le deuxième lot de 24 plantes (Vz-0) n'a pas connu de Cd durant la culture. Ce traitement comprenant les trois modalités 0 – 0,01 – 1 sera dénommé « saturation longue » (SL). La compartimentation a été suivie sur une durée de six heures. Pour ce faire, les plantes ont été placées dans des solutions (50 ml) maintenues en agitation et contenant  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2 \text{ mmol L}^{-1}$  de tampon MES,  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$  ainsi que du  $^{109}\text{Cd}$  ( $1500 \text{ Bq pot}^{-1}$ ). Le pH a été ajusté à 5,7 avec du KOH  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Aux temps 5 – 15 – 30 – 45 – 90 – 180 – 270 – 360 minutes, trois plantes ont été retirées de la solution cadmiée. Leurs racines ont été soumises, comme dans l'essai 1, à trois bains successifs de désorption. Les racines ont été ensuite séparées des feuilles pour être transférées dans des flacons contenant 40 ml d'un mélange de méthanol et de chloroforme (2:1, v/v). Ce traitement, d'une durée de trois jours, a assuré la dissolution des lipides membranaires tout en laissant intacte la forme et la taille de la racine entière (DiTomaso *et al.*, 1992 ; Boominathan et Doran, 2003b). Les apoplasmes ainsi obtenus ont subi enfin deux rinçages successifs de 24 heures chacun, dans deux flacons de 40 ml d'eau distillée maintenus en agitation par retournement (15 tours/min). Les bains de solutions de désorption, les bains de méthanol/chloroforme ainsi que les bains de rinçage d'eau distillée ont été analysés au compteur  $\gamma$  à partir d'aliquotes de 1 ml. Après trois jours de séchage à l'étuve à  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ , les apoplasmes racinaires et les feuilles ont été pesés et broyés. Le  $^{109}\text{Cd}$  a été quantifié par détection  $\gamma$  dans les végétaux.

#### 2.5. Essai 3 : Cinétiques de l'absorption racinaire du Cd par épuisement

Nous avons comparé les cinétiques de prélèvement racinaire chez trois écotypes contrastés : Vz, Bh et Dt. L'effet de l'exposition préalable de la plante au Cd a été testé sur la cinétique d'absorption racinaire dans cette expérience, afin de mettre à l'épreuve l'hypothèse de saturation des sites de l'apoplasme. Les influx ont été décrits en fonction de la concentration de Cd en solution. Enfin, les influx racinaires ont été également mesurés au cours d'épuisements réalisés à partir de différentes concentrations initiales de Cd en solution.

**Tableau 5-2. Descriptif pour chacune des trois populations, des différents traitements réalisés avant la mesure de la cinétique d'absorption.**

Population	Traitements avant la cinétique d'absorption					concentration initiale de la déplétion ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	nombre de répétitions
	Saturation longue (SL), 1 mois et demi			Saturation courte (SC), 40 h			
	$0 \mu\text{mol L}^{-1}$	$0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$	$1 \mu\text{mol L}^{-1}$	Saturation (S)	Non Saturation (NS)		
Vz		0			NS	1	3
Vz		0,01			NS	1	3
Vz		1			NS	1	3
Vz		0			S	1	6
Vz		0,01			S	1	6
Vz		1			S	1	6
Dt		0,01			S	1	6
Dt		1			S	1	6
Bh		0,01			S	1	6
Bh		1			S	1	6
Vz		0			NS	5	3
Vz		0			NS	10	3

Des plantes des écotypes Vz, Bh et Dt ont été cultivées durant un mois et demi dans une solution nutritive contenant  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  ou  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$  (traitements de saturation longue, SL), puis pendant un mois, dans la solution nutritive non contaminée en Cd. Un deuxième lot de plante, Vz-0, n'a connu aucune contamination durant les trois mois de culture. A la suite de l'essai 2, nous avons décidé de mettre la plante en contact d'une solution cadmiée 40 heures avant l'expérience d'absorption, réalisant ainsi un traitement dit de saturation courte (SC). Pour cela, les racines ont été placées dans une solution contenant  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$ ,  $2 \text{ mmol L}^{-1}$  de MES et  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ . De plus, trois plants du traitement SL Vz-0, Vz-0,01 et Vz-1 ont été exemptés du traitement SC de manière à servir de témoins (Tableau 5-2). Ces plantes n'ayant pas subi ce traitement seront affectées des initiales 'NS' (pour non saturé) dans leur dénomination alors que les autres plants seront dénommés par la lettre 'S' (pour saturé).

Pour mesurer les cinétiques d'absorption, les racines de chaque plante ont été rincées à l'eau distillée avant d'être placées dans 50 ml d'une solution sous agitation contenant  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2 \text{ mmol L}^{-1}$  de tampon MES (pH 5,7) et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$  marqué par du  $^{109}\text{Cd}$  radioactif ( $1667 \text{ Bq pot}^{-1}$  pour Vz et Bh,  $2917 \text{ Bq pot}^{-1}$  pour Dt). L'épuisement des solutions a été mené pendant 6 heures, durant lesquelles un échantillon de 250  $\mu\text{L}$  était prélevé dans chaque tube pour être ensuite analysé au compteur  $\gamma$ . La perte de volume due à l'évapotranspiration a été prise en compte par pesée de la solution en début d'expérience et en fin d'expérience. Au terme des six heures d'expérience, les feuilles et les racines ont été séparées, pesées, broyées et analysées par comptage  $\gamma$ .

Les cinétiques d'épuisement ont également été réalisées avec six plantes Vz n'ayant pas connu au préalable de contamination en Cd ni de saturation courte. Ces deux lots de trois plantes ont été utilisés pour réaliser l'expérience à partir de concentrations initiales de Cd égales à  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  et à  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  additionnées de  $^{109}\text{Cd}$  radioactif ( $3000 \text{ Bq pot}^{-1}$ ). Les racines de ces six plantes ont été désorbées, traitées au méthanol-chloroforme puis rincées énergiquement à l'eau distillée, et analysées comme décrit dans l'essai 2.



Les surfaces de racine ont été mesurées pour toutes les plantes de cet essai grâce au logiciel Winrhizo (Arsenault *et al.*, 1995).

## 2.6. Essai 4 : Détermination de la durée optimale des bains de désorption

Les quantités de Cd ne diminuant pas systématiquement dans les trois bains désorbants successifs des essais 1 et 2, la désorption réalisée sur nos racines aurait été incomplète. Il était donc indispensable d'étudier plus précisément l'efficacité de notre désorption.

Des individus de l'écotype Vz, âgés de trois mois, ont été placés pendant 1h30 dans trois solutions à 4°C de CdCl<sub>2</sub> (1, 10 et 50 µmol L<sup>-1</sup>) marquées au <sup>109</sup>Cd (2750 Bq pot<sup>-1</sup>) à raison de trois plantes par niveau de concentration en Cd. Les racines ont été ensuite immergées dans des bains de désorption contenant 5 mmol L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>, 2 mmol L<sup>-1</sup> de MES, et 40 fois plus de Cd stable que dans la solution de prélèvement. Les bains ont été renouvelés toutes les 15 minutes, et cela durant 75 minutes. Un échantillon de 1 ml a été prélevé dans chaque bain de désorption pour être analysé au compteur γ.

## 2.7. Essai 5 : Absorption racinaire de Cd selon une gamme de concentrations maintenues constantes

Nous avons voulu mesurer l'influx racinaire de l'ion sur l'écotype Vz, utilisé dans l'étude du chapitre 2, selon la méthode alternative à celle de l'épuisement (essai 3). Celle-ci consiste à placer des lots de plantes distincts dans des solutions couvrant une gamme de teneurs en Cd. Dans cet essai nous avons placé les plantes individuellement dans des solutions de Cd (0,05 µmol L<sup>-1</sup> à 50 µmol L<sup>-1</sup>), après quoi nous avons mesuré la quantité de Cd absorbé par la plante. Par ailleurs, nous avons étudié la variabilité de cet influx d'un individu à l'autre.

Des plants de l'écotype Vz, âgés de trois mois, ont été placés au préalable 24 h dans 600 ml d'une solution permettant la saturation de l'apoplasme par le Cd (2 mmol L<sup>-1</sup> de MES, 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> et entre 0,05 µmol L<sup>-1</sup> et 50 µmol L<sup>-1</sup> de CdCl<sub>2</sub>). Les racines ont été rincées à l'eau puis placées dans 600 ml de solution d'absorption pendant 15 minutes, celle-ci contenant 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>, 2 mmol L<sup>-1</sup> de tampon MES (pH 5,7), du CdCl<sub>2</sub> ainsi que du <sup>109</sup>Cd (2350 Bq pot<sup>-1</sup>). Les mesures ont été réalisées sur six plants pour chacun des dix niveaux de concentration de Cd. Les racines ont ensuite été immergées dans des bains de désorption comme dans les essais 1 et 2, mais à raison de trois bains successifs de 15 minutes et une concentration de Cd 40 fois plus concentrée que celle initialement employée (suite aux résultats de l'essai 4). Les parties racinaires et foliaires ont été rincées à l'eau et séparées. Les surfaces de racine ont été mesurées grâce au logiciel Winrhizo (Arsenault *et al.*, 1995). Par la suite le matériel végétal a été séché puis pesé et enfin broyé et minéralisé. Les concentrations de Cd dans les minéralisats ont été déterminées par comptage γ. Nous avons vérifié par comptage de la radioactivité restante dans les pots que les concentrations de Cd n'avaient pas sensiblement diminué (moins de 3 % en moyenne).

## 2.8. Analyse des données

Les données ont été traitées statistiquement par des analyses de variances (ANOVA) ou par des tests de Kruskal-Wallis et par comparaisons des moyennes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). Nous avons utilisé le logiciel StatBox<sup>TM</sup> 6.4 pour les calculs (Grimmer logiciels, Paris). Les données de quantités de Cd absorbé au cours de la cinétique par les plantes ont été traitées statistiquement en fonction des facteurs temps, traitement de saturation longue, traitement de saturation courte, et écotype par une analyse de variance en mesures répétées (facteur temps fixe) de la procédure MIXED du logiciel SAS<sup>®</sup> 6.12 (SAS Inst., Inc., Cary, NC). La structure de covariance entre les différents traitements a été définie comme étant auto-régressive ou *compound symmetry*. Les courbes d'influx ont été modélisées par des fonctions d'ajustement grâce au logiciel KaléidaGraph<sup>TM</sup> et grâce à la recherche de fonctions par le logiciel LAB Fit<sup>®</sup> (Silva et Silva, 2006).

## 3. Résultats

### 3.1. Cinétique de prélèvement du Cd dans une solution à concentration constante (Essai 1)

Les concentrations ont augmenté au cours du temps dans les feuilles et dans les racines (Figure 5-1). Après 30 heures de culture dans la solution cadmiée, il semble que la concentration racinaire cesse d'augmenter. Cette tendance est à confirmer sur des temps d'absorption plus longs. Les quantités de Cd au cours des quatre premières heures étaient 100 fois plus importantes dans les racines que dans les feuilles puis seulement 25 fois en moyenne pour les temps suivants (Figure 5-2). Les concentrations de Cd dans les racines pendant les quatre premières heures étaient en moyenne 480 fois supérieures à celles dans les feuilles, puis 125 fois pour les temps suivants.

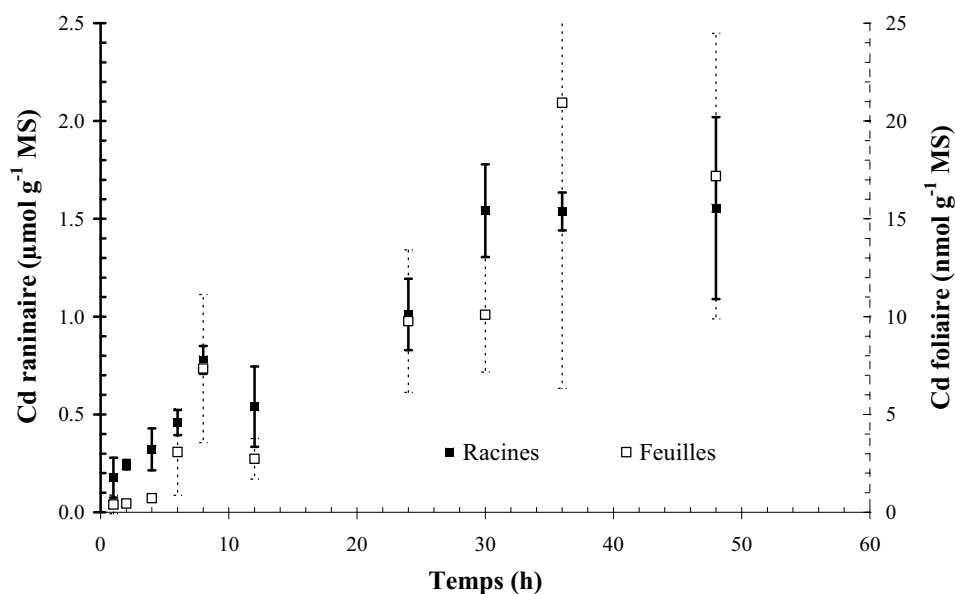
Les quantités de Cd désorbé, après l'expérience de la cinétique du prélèvement, n'ont pas diminué de façon nette au cours des trois bains consécutifs (Figure 5-3). Les quantités désorbées cumulées (somme des trois bains de désorption) avaient tendance à augmenter pour les plantes soumises à des temps d'absorption supérieurs à six heures.

### 3.2. Compartimentation du Cd dans les racines au cours des six premières heures d'absorption (Essai 2)

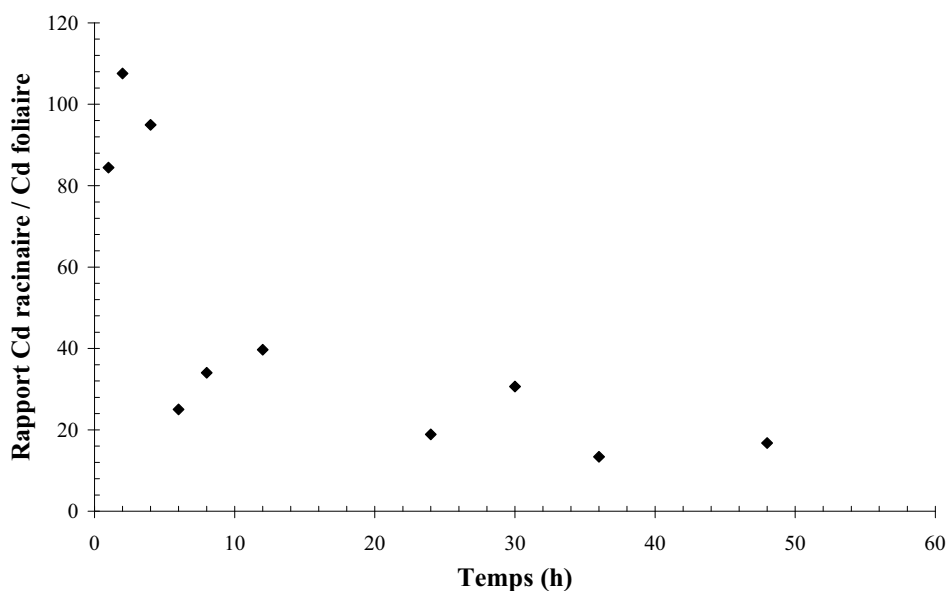
#### 3.2.1. Cd adsorbé réversiblement

Les quantités de Cd désorbé tendaient à diminuer légèrement au cours des trois bains successifs de désorption (Figure 5-4, A, B, C). Toutefois les quantités dans les derniers bains étaient encore relativement importantes. Les quantités totales désorbées en fonction de la durée d'absorption n'étaient pas significativement différentes dans le cas des plants issus des modalités  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Figure 5-4, D). Toutefois pour les plants issus du traitement sans cadmium, ces quantités étaient significativement inférieures pour les deux derniers temps d'absorption par rapport aux premiers temps (Tableau 5-3). Bien que les quantités moyennes de Cd désorbé aient diminué, lorsque les quantités de Cd du traitement de

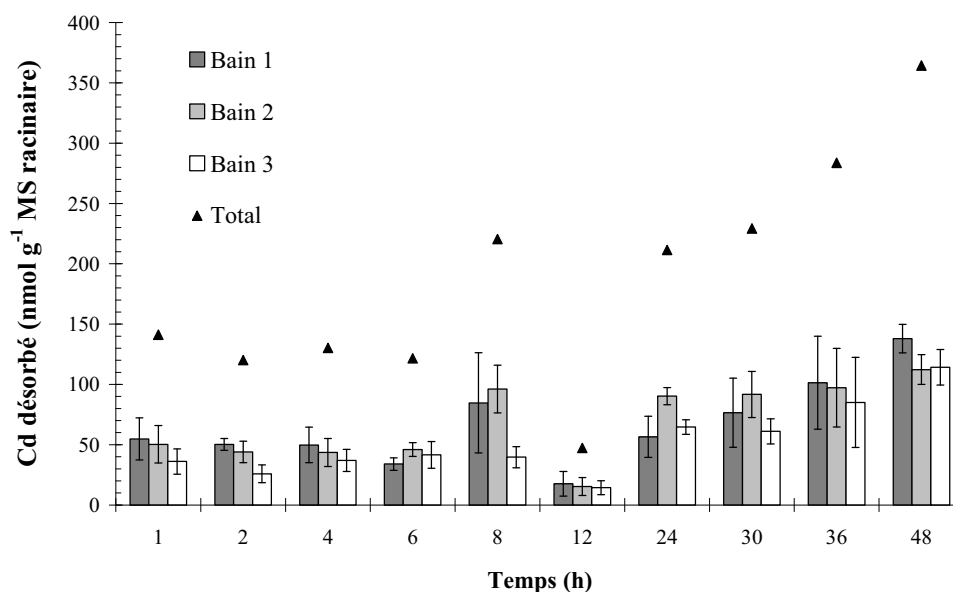
saturation augmentaient (167, 157 et 146 nmol g<sup>-1</sup> d'apoplasme racinaire respectivement pour les modalités 0 – 0,01 et 1 µmol L<sup>-1</sup>), ces différences n'étaient pas significatives.



**Figure 5-1.** Evolution des concentrations racinaires et foliaires de Cd au cours du temps dans les plants de tabouret calaminaire. La concentration en solution a été maintenue constante (1 µmol L<sup>-1</sup>). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.



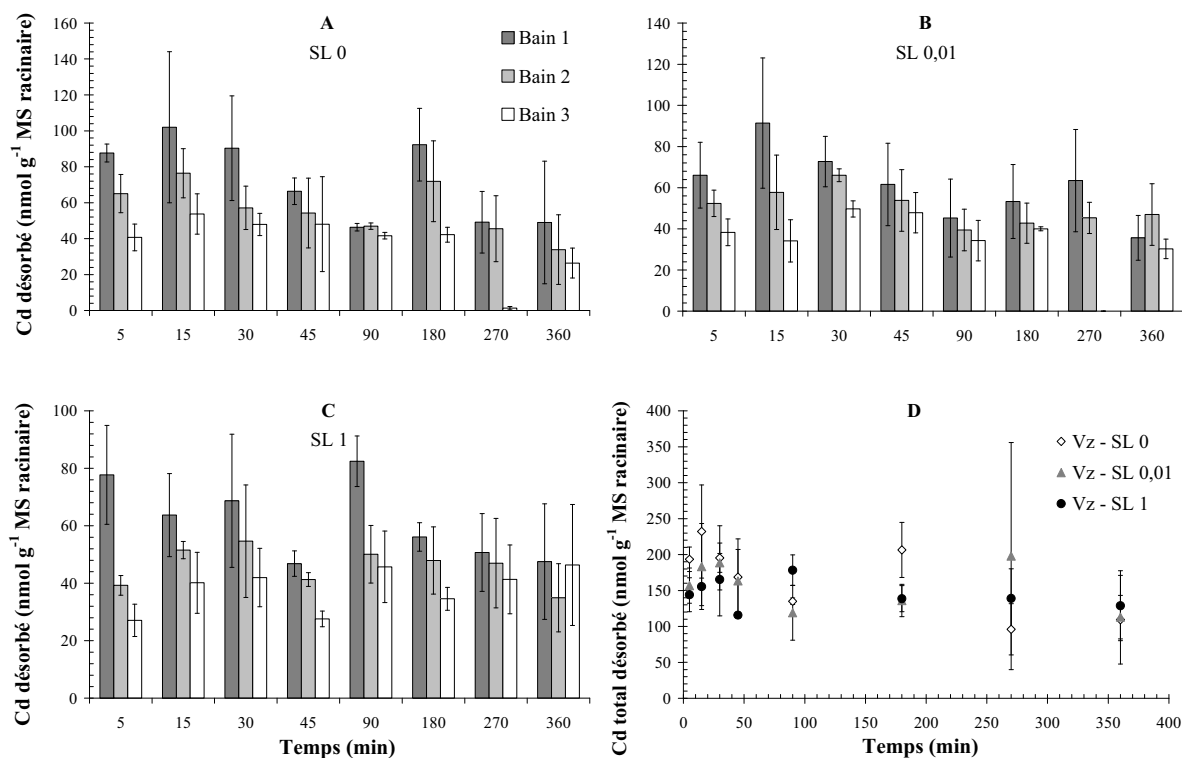
**Figure 5-2.** Rapports des quantités de Cd dans les racines sur les quantités de Cd dans les feuilles en fonction du temps d'exposition.



**Figure 5-3.** Quantités de Cd désorbé au cours des trois bains et quantités cumulées de Cd désorbé en fonction de la durée d'absorption (à concentration constante de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.

**Tableau 5-3.** ANOVAs réalisées sur les quantités de Cd dans les différents compartiments au cours du temps, pour les trois modalités de saturation longue :  $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Dans une même ligne (une même modalité) la présence d'un même lettre indique que les quantités de Cd ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). n.s. : pas de différence statistique.

Compartiments	Traitements	Temps (min)							
		5	15	30	45	90	180	270	360
Adsorbé réversiblement	0	ab	a	ab	ab	ab	ab	b	b
	0,01					n.s.			
	1					n.s.			
Adsorbé irréversiblement	0	$\alpha$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta\zeta$	$\beta\zeta$	$\zeta$	$\zeta$
	0,01	$a_1$	$a_1b_1$	$b_1$	$b_1$	$b_1c_1$	$c_1d_1$	$d_1$	$c_1d_1$
	1	a	ab	ab	ab	bc	bc	cd	d
Bains de M-C	0					n.s.			
	0,01					n.s.			
	1					n.s.			
Absorbé	0	$\alpha$	$\alpha$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\beta$	$\alpha\beta$
	0,01	$a_1$	$a_1$	$a_1$	$a_1$	$a_1$	$b_1$	$b_1$	$b_1$
	1	a	a	abc	ab	abc	abc	bc	c



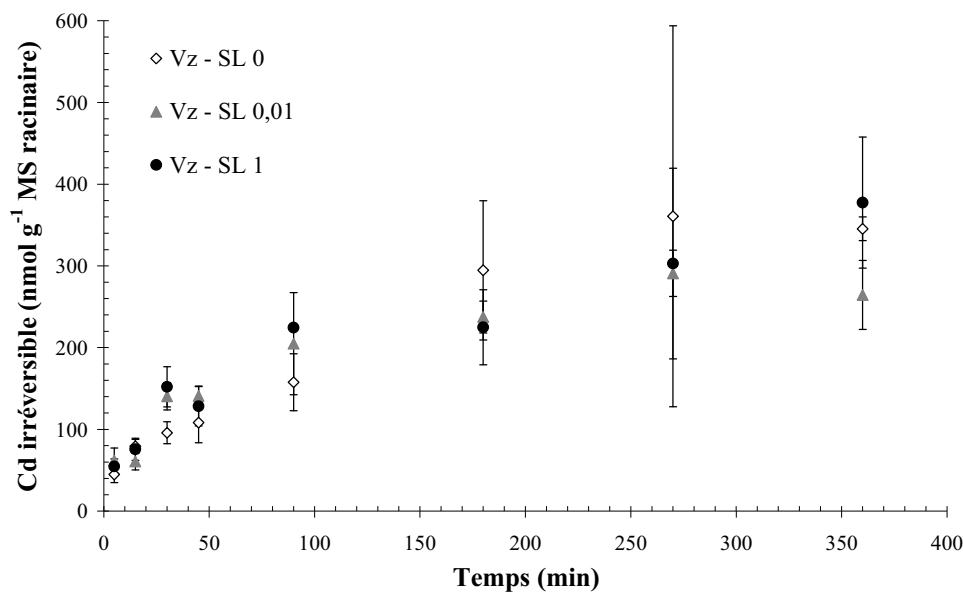
**Figure 5-4.** Quantités de Cd désorbé dans les trois bains de désorption au cours d'un épuisement de six heures pour les plants de l'écotype Viviez, pré-exposés au Cd durant le début de la culture à : A. 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , B. 0,01  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , C. 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . D. Quantités totales de Cd désorbé en fonction de la durée d'absorption dans la solution cadmiée pour les trois modalités de saturation longue (SL). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.

### 3.2.2. Cd adsorbé irréversiblement

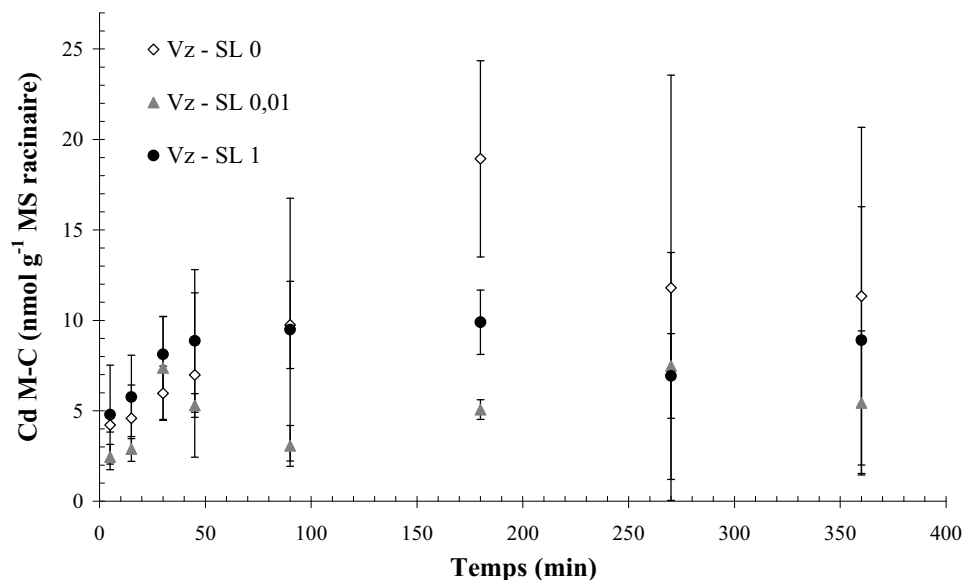
Cette quantité a été mesurée après dosage de la radioactivité dans les apoplastes racinaires, obtenus après le traitement au méthanol/chloroforme. Pour les différentes modalités de SL, le Cd adsorbé irréversiblement augmentait significativement en fonction de la durée de l'absorption dans la solution cadmiée (Tableau 5-3 ; Figure 5-5). Le pré-traitement de saturation appliqué aux plantes ne permettait pas d'expliquer statistiquement les variations d'adsorption sur l'apoplasme (test de F,  $\alpha = 0,05$ ). Le traitement n'a donc pas eu d'influence significative sur les quantités adsorbées.

### 3.2.3. Cd mesuré dans les bains de méthanol-chloroforme (M-C)

Les quantités de Cd dans les bains de méthanol-chloroforme variaient entre 4 et 19 nmol de Cd g<sup>-1</sup> d'apoplasme racinaire. Toutefois aucune différence statistique de ces quantités n'a été mise en évidence au cours du temps dans une même modalité (Tableau 5-3) et entre les différentes modalités (Figure 5-6 ; test de F,  $\alpha = 0,05$ ).



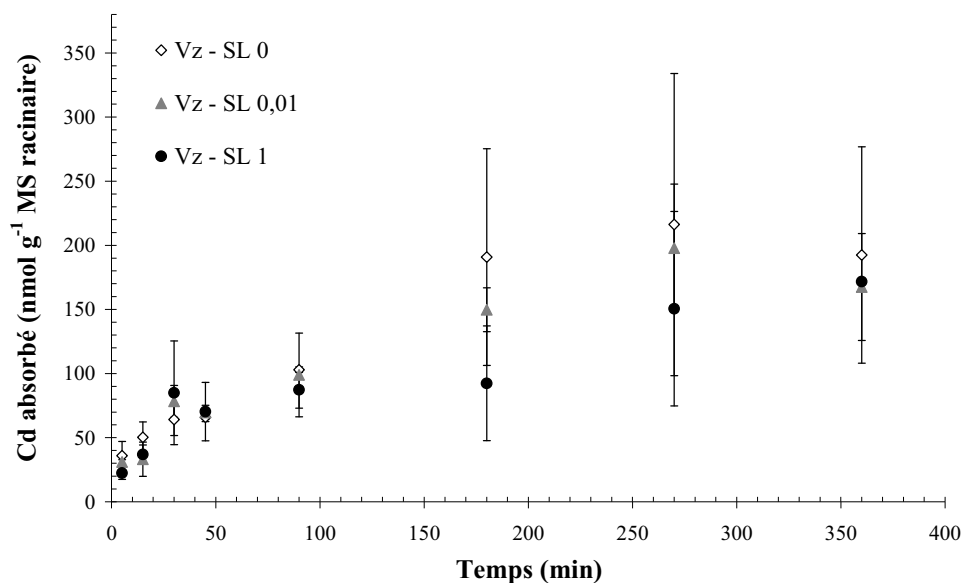
**Figure 5-5.** Concentration de Cd dans l'apoplasme racinaire de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) :  $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.



**Figure 5-6.** Concentration de Cd issu des bains de méthanol-chloroforme (M-C) de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) :  $0 - 0,01 - 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.

## 3.2.4. Cd absorbé dans les cellules racinaires

Les bains de rinçage des apoplastes à l'eau distillée ont permis d'évaluer le Cd adsorbé par voie symplasmique dans les racines. Les concentrations de Cd extrait du symplasma ont augmenté significativement au cours de l'épuisement (Tableau 5-3) pour chacune des trois modalités (Figure 5-7). Elles représentaient environ  $30 \text{ nmol g}^{-1}$  d'apoplasme sec après 5 min et atteignaient environ  $190 \text{ nmol g}^{-1}$  d'apoplasme sec au terme des six heures d'expérience. Il est à noter que les moyennes des concentrations de Cd dans le symplasma ne différaient pas entre les 3 modalités (test de F,  $\alpha = 0,05$ ).



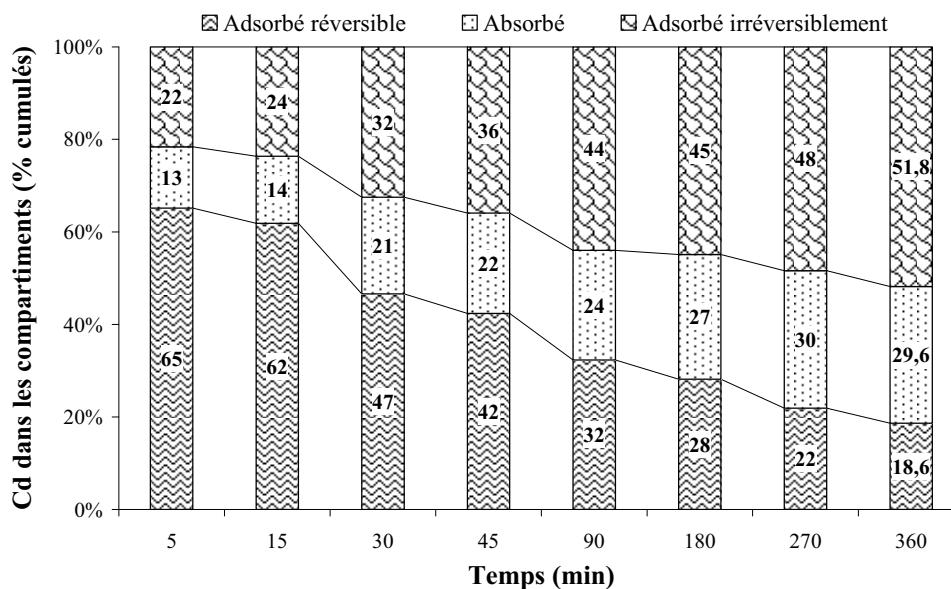
**Figure 5-7. Concentration de Cd dans le symplasma racinaire de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) :  $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type.**

## 3.2.5. Répartition du Cd dans les différents compartiments de la racine

Nous n'avons pas observé de différence significative entre les concentrations de Cd dans les différents compartiments en fonction de la modalité du traitement SL reçu par les plantes au cours du premier mois et demi de culture. Par conséquent les données des trois lots de plantes ont été traitées comme une seule et même population.

Le Cd mesuré dans les bains de méthanol-chloroforme aux différents temps ne représentait en moyenne que 1,6 % du Cd total prélevé par la racine. Nous l'interpréterons comme un début de libération de Cd symplasmique suite à la dissolution des membranes plasmiques par le méthanol-chloroforme. Le Cd symplasmique total représentait donc la somme du Cd mesuré dans les bains de rinçage à l'eau distillée et le Cd des bains de méthanol-chloroforme. Alors que les quantités de Cd réversible étaient constantes aux cours des différents temps de prélèvement, la proportion de ces quantités, par rapport au Cd total des différentes fractions, diminuait au cours du temps et représentait entre 65 % et 19 % du Cd total (Figure 5-8). Les quantités de Cd dans le symplasma représentaient seulement entre

13 % et 30 % du Cd total. Enfin la proportion de Cd adsorbé irréversiblement dans l'apoplasme doublait dans les plants placés six heures dans la solution d'absorption par rapport à ceux restés cinq minutes, représentant entre 22 % et 52 % du Cd total. Le Cd du compartiment apoplasmique représente plus de 70 % du Cd total après six heures d'absorption.



**Figure 5-8. Pourcentages cumulés des différents compartiments du Cd racinaire au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Pour chaque temps des moyennes ont été calculées pour les trois modalités de SL lors de la culture.**

### 3.3. Cinétiques de déplétion (Essai 3)

Nous avons mesuré les diminutions du Cd en solution afin d'évaluer la cinétique du prélèvement racinaire.

#### 3.3.1. Effet de la pré-exposition au Cd sur l'absorption par la plante

Les plantes ont été soumises à deux types d'expositions éventuelles avant les cinétiques de déplétion, l'une a duré un mois et demi au début de la culture (saturation longue), l'autre a duré 40 heures (saturation courte) juste avant la déplétion. Les données de quantités de Cd absorbé par les plantes au cours de la cinétique ont été traitées statistiquement en fonction des facteurs temps, traitement de saturation longue, traitement de saturation courte, et écotype par une analyse de variance en mesures répétées.

##### 3.3.1.1. Ecotype Viviez

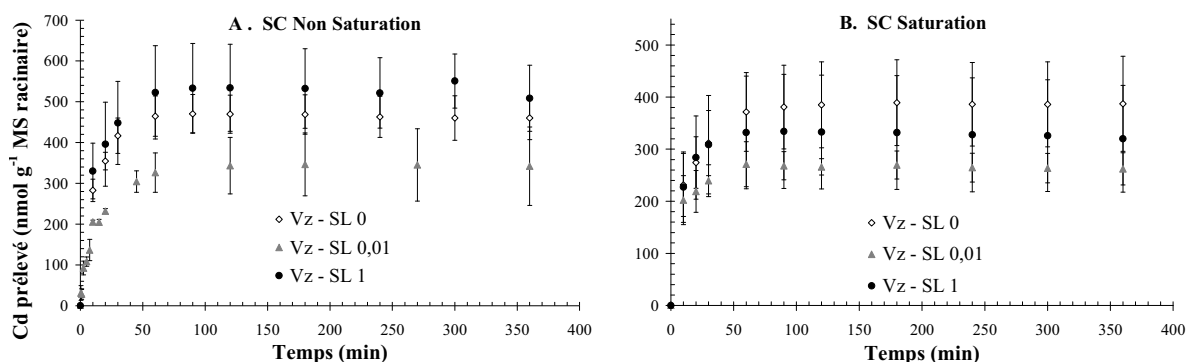
Nous avons tout d'abord traité les données selon le facteur temps et le facteur saturation longue, indépendamment pour les deux modalités de saturation courte. Les quantités prélevées par les plantes des trois modalités de saturation longue, et sans saturation



courte étaient classées en fonction des modalités dans l'ordre suivant :  $1 \mu\text{mol L}^{-1} > 0 \mu\text{mol L}^{-1} > 0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Figure 5-9, A). Toutefois, seules les modalités 0,01 et 1 étaient significativement différentes (test de Tukey-Kramer,  $\alpha = 0,05$ ). Lorsque les plants ont été placés durant 40 h dans une solution cadmiée avant la déplétion (saturation courte), les quantités prélevées par les plantes étaient classées, en fonction des modalités, dans l'ordre suivant :  $0 \mu\text{mol L}^{-1} > 1 \mu\text{mol L}^{-1} > 0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Figure 5-9, B), bien que ces quantités n'étaient pas significativement différentes.

Puis nous avons traité les données selon le facteur temps et le facteur saturation courte, indépendamment pour les trois modalités de saturation longue. Lorsque le traitement de saturation courte était appliqué, il entraînait une diminution non significative des quantités prélevées par les plantes pour chacune des trois modalités du traitement de saturation longue (Figure 5-10).

Enfin nous avons étudié les interactions des trois facteurs temps, saturation courte et saturation longue sur le prélèvement par les plantes. L'effet du traitement de saturation longue montrait des prélèvements significativement supérieurs (38 % en moyenne) pour les modalités 0 et 1 par rapport à 0,01 (test de Tukey-Kramer,  $\alpha = 0,05$ ). De plus les différences de prélèvement de Cd n'étaient pas significativement différentes dans les plantes des modalités 0 et 1. Par ailleurs, les quantités prélevées par les plants n'ayant pas reçu le traitement de saturation courte étaient significativement supérieures (30 %) à celles des plants traités. Toutefois, les comparaisons des moyennes des moindres carrés des quantités absorbées, pour les facteurs de saturation courte et de saturation longue pris deux à deux, ne montraient aucune différence significative entre la présence et l'absence du traitement de saturation courte pour chaque niveau de traitement de saturation longue. De même sans traitement de saturation courte aucune différence significative n'était observée entre chacune des modalités 0 – 0,01 et 1.



**Figure 5-9.** Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue A. sans traitement de saturation courte, B. avec traitement de saturation courte. Les moyennes sont au centre de deux barres représentant +/- un écart type.

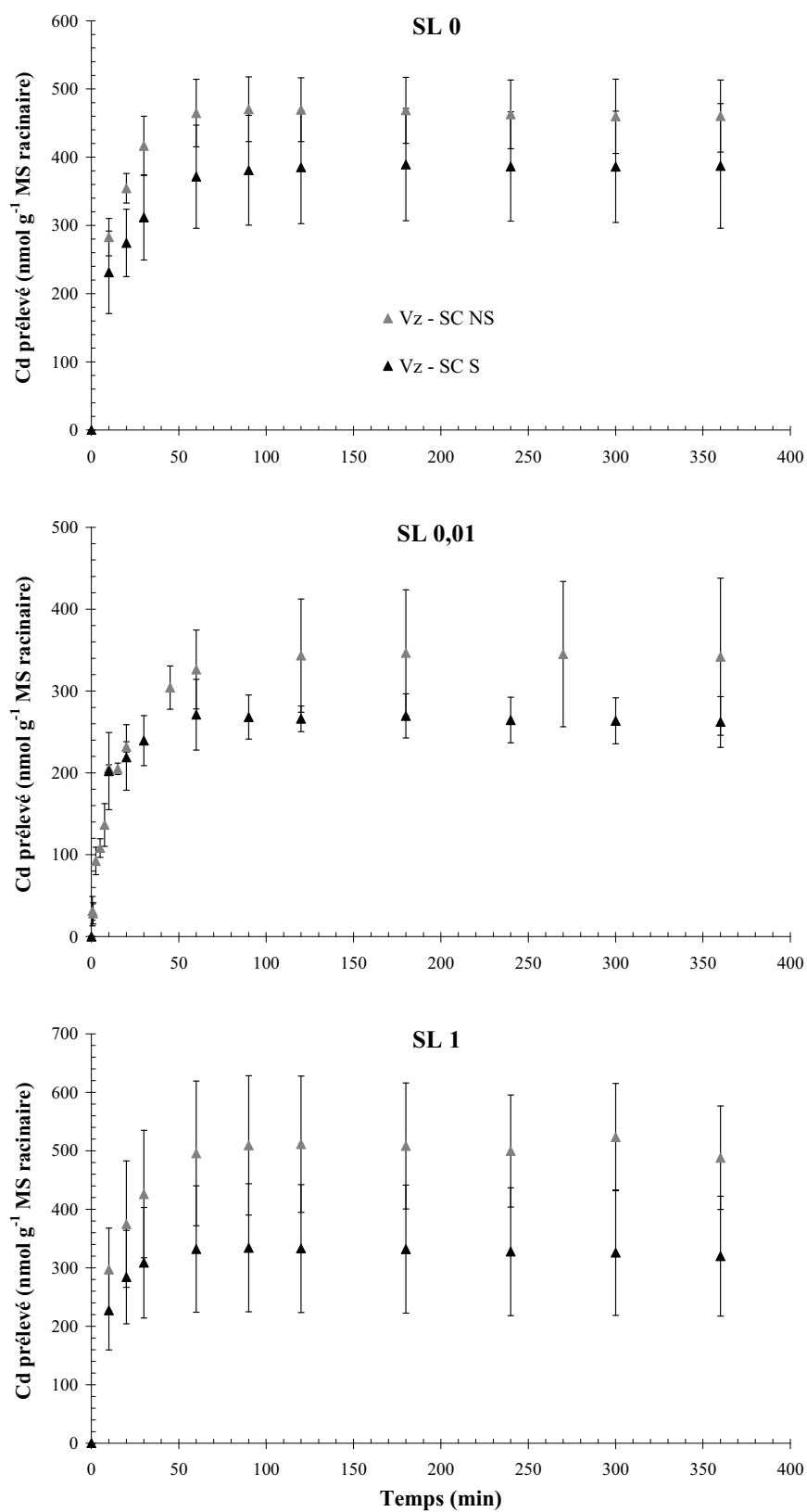
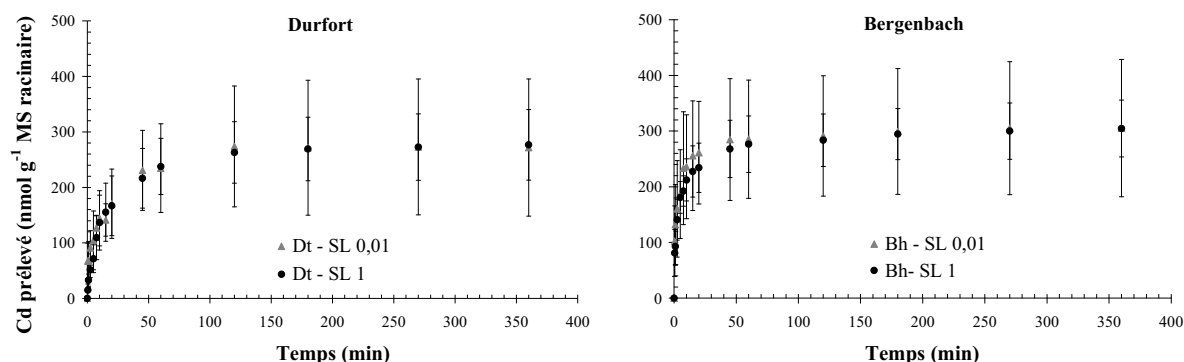


Figure 5-10. Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue (SL) avec ou sans saturation courte (SC).

## 3.3.1.2. Ecotypes Durfort et Bergenbach

Ces deux écotypes ont été soumis à la saturation courte pour deux niveaux du traitement de saturation longue : 0,01 et 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Nous avons donc étudié l'effet des deux niveaux de saturation longue sur le prélèvement grâce à une ANOVA en mesures répétées sur le facteur temps pour chacune de deux populations prises individuellement. Le prélèvement n'était pas significativement supérieur (8 % chez l'écotype Durfort et 7 % chez l'écotype Bergenbach) dans la modalité 0,01 par rapport à la modalité 1 (Figure 5-11).



**Figure 5-11. Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue et pour les écotypes Durfort et Bergenbach.**

Nous avons ensuite étudié les interactions sur le prélèvement par les plantes, des facteurs : temps, saturation longue et population. Dans ce cas, le prélèvement n'était pas significativement différent entre les deux modalités de saturation longue pour un même écotype. De même, le prélèvement de l'écotype Bh n'était pas significativement supérieur (21 %) dans les deux niveaux confondus à celui de l'écotype Dt.

## 3.3.1.3. Comparaison des trois écotypes

Les ANOVA en mesures répétées, pour les trois populations, et les modalités de saturation longue 0,01 et 1, n'ont pas montré de différence significative ni entre les trois populations ni entre les modalités de SL.

Les concentrations finales obtenues dans les plants à la fin des expériences sont données dans le Tableau 5-4. De nouveau au temps final, il n'apparaît aucune différence significative d'absorption entre les trois écotypes. La différence entre S et NS persiste chez l'écotype Viviez, de même que la plus faible absorption chez les plants issus de la modalité 0,01 par rapport à ceux issus des modalités 0 et 1.

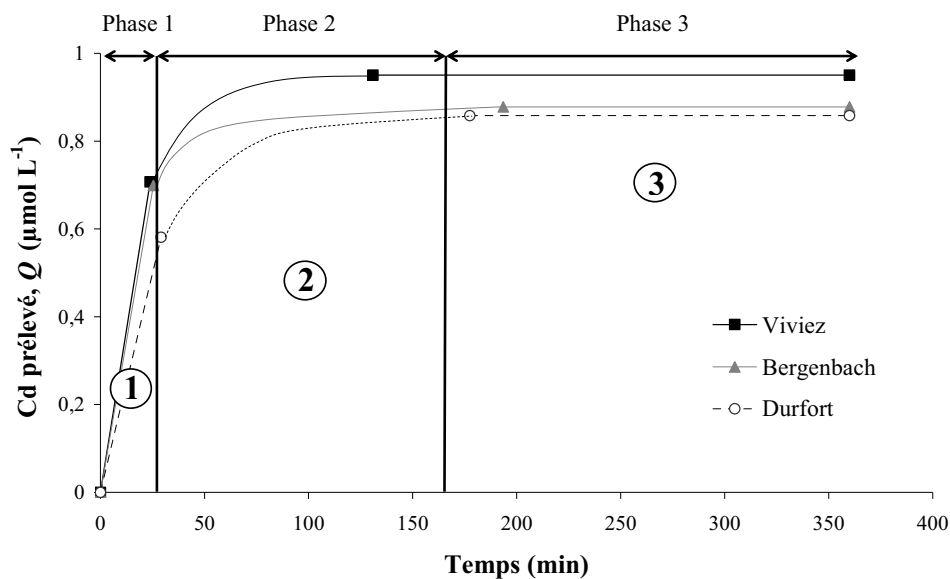
## 3.3.2. Cinétiques de déplétion pour les trois écotypes de tabouret

Les déplétions ont été réalisées à partir de solutions contenant 1  $\mu\text{mol Cd L}^{-1}$ . Quels que soient les traitements, nous avons pu distinguer trois phases d'après les courbes d'absorption obtenues pour les trois écotypes. Tout d'abord, durant les 25 premières minutes, une phase linéaire d'absorption très rapide, suivie d'une seconde phase de ralentissement de l'absorption, et enfin une phase d'arrêt, voire « d'excrétion », la courbe ayant en moyenne

pour tous les écotypes, une tendance à redescendre légèrement. Ce plateau apparaît en moyenne après 131, 178 et 194 minutes de désorption respectivement pour les écotypes Vz, Dt et Bh (Figure 5-12). Cette troisième phase avait tendance à diminuer en moyenne chez les trois écotypes.

**Tableau 5-4. Minéralomasses moyennes obtenues en fin d'épuisement pour les trois écotypes Viviez, Durfort et Bergenbach en fonction des traitements de saturation courte (NS : non saturé, S saturé) et de saturation longue (0 – 0,01 – 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).  $\sigma$  : écart type.**

	Minéralomasse finale nmol Cd / g racine					
	0		0,01		1	
	Moyenne	$\sigma$	Moyenne	$\sigma$	Moyenne	$\sigma$
Viviez, NS	471,1	47	352,6	85	557,8	78
Viviez, S	399,5	80	278,0	34	336,0	107
Durfort, S	-		283,8	118	284,7	60
Bergenbach, S	-		308,7	121	306,1	50



**Figure 5-12. Représentation moyenne, pour les trois écotypes, des trois phases isolées sur les courbes d'absorption du Cd au cours du temps. ① Phase rapide d'absorption au cours des dix premières minutes, ② ralentissement de l'absorption, ③ phase de plateau, l'absorption est presque nulle voire négative.**

La quantité de Cd prélevé ( $Q$ ) variait dans le temps ( $t$ ) selon une fonction de type :

$$\text{Eq 5.1 : } Q = \frac{a \cdot t}{b + t} + c \cdot t$$

ou bien

$$\text{Eq 5.2 : } Q = \frac{a + t}{b + c \cdot t} + d \cdot t,$$

avec  $a$ ,  $b$ ,  $c$  et  $d$  des constantes.

Les courbes de prélèvement au cours du temps ont été dérivées afin d'obtenir les influx racinaires en fonction des concentrations (isothermes d'absorption). Nous avons considéré que la phase 1 correspondait majoritairement à une adsorption de Cd sur la racine. L'influx racinaire a été décrit en étudiant la phase 2. Durant la seconde phase, l'influx augmentait de manière linéaire en fonction de la concentration comprise en moyenne entre 0,05 et 0,29  $\mu\text{mol L}^{-1}$  pour Vz, entre 0,12 et 0,30  $\mu\text{mol L}^{-1}$  pour Bh, et entre 0,14 et 0,42  $\mu\text{mol L}^{-1}$  pour Dt. Pour illustrer cela, nous avons choisi un exemple dans chacune des trois populations (Figure 5-13).

Toutefois il est important de noter que, pour les écotypes Durfort et Bergenbach, ces relations linéaires entre influx net dans la racine et concentration en solution présentaient différentes pentes selon les modalités de saturation longue 0,01 ou 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Figure 5-14). Les influx mesurés chez l'écotype Viviez ne semblaient pas différer selon les modalités de saturation.

### 3.3.3. Cinétique de déplétion à partir des concentrations plus élevées

Nous disposons de neuf courbes d'épuisement obtenues sur des plantes de l'écotype Viviez. Celles-ci ont été réalisées à partir de trois concentrations initiales différentes : 1, 5 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Figure 5-15 A). Les quantités de Cd prélevé dans les plantes étaient d'autant plus importantes que les concentrations initiales étaient élevées (Figure 5-15 B). Nous avons pu distinguer également trois portions successives dans les courbes de concentrations initiales 5 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . La première phase montrant une brusque réduction de la quantité de Cd en solution a duré 70 minutes. La troisième phase de plateau commençait à partir de six heures d'épuisement.

Après la première phase, les quantités initiales de Cd épuisé atteignaient 67, 75 et 74 % respectivement pour les concentrations initiales ( $C_i$ ) de 1, 5 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Après la phase deux, les quantités restantes en solution étaient de 3,4 - 7,8 et 10,3 % respectivement pour les  $C_i$  de 1, 5 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Les isothermes d'adsorption partant d'une même concentration initiale en solution sont similaires. C'est pourquoi nous ne représenterons leurs composantes que pour une seule répétition par lot de plantes (Figure 5-16). Comme auparavant, nous avons dérivé les courbes d'absorption au cours du temps, après avoir ajusté les trois phases par des équations mathématiques. Ces trois phases, explicitées plus haut correspondent, à trois droites de pentes différentes.

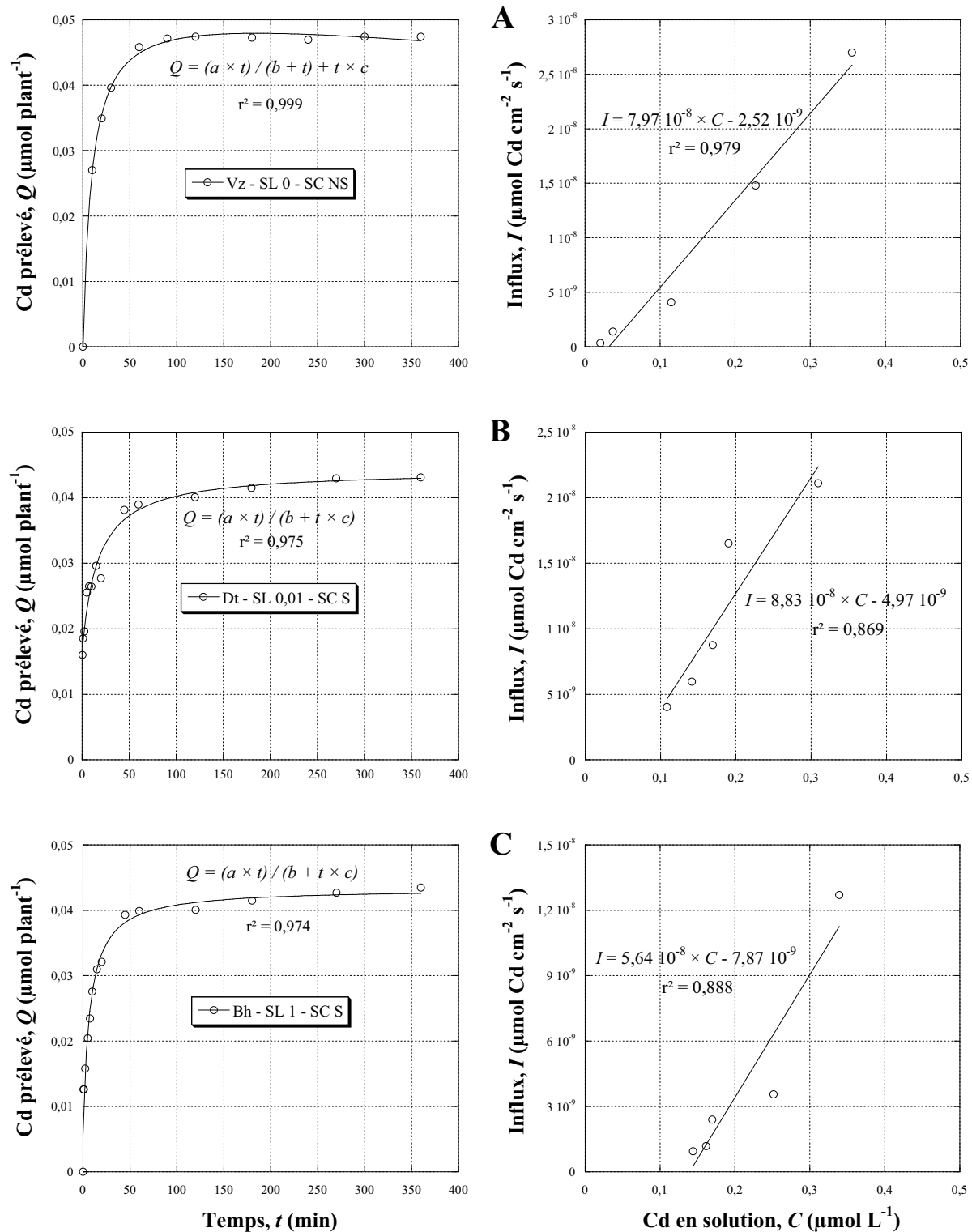


Figure 5-13. A. écotype Vz-SL 0-SC NS, B. écotype Dt-SL 1-SC S, C. écotype Bh-SL 0,01-SC S. A gauche : Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion, à droite : Influx net de Cd (lors de la phase 2) dans les trois plants des écotypes Viviez (Vz), Durfort (Dt) et Bergenbach (Bh), en fonction de la concentration de Cd en solution.

La première pente très forte s'étend pour des niveaux de concentration entre 1,23 et 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et entre 2,58 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  suivant les concentrations initiales. Cette première phase était plus brève pour les cinétiques à partir des concentrations initiales de 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd en solution. La seconde phase était plus lente à partir des  $C_i$  de 5 et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et a pu être estimée avec plus de points expérimentaux que les courbes établies à partir de 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Cette phase, bien qu'elle puisse être modélisée correctement par une droite sur une gamme restreinte de concentration, est plutôt de type puissance ( $I = a.C^n$ , avec  $n > 1$ ). Enfin, la troisième phase présentait une pente très faible et des variations aléatoires, parfois négatives, de l'influx. Les influx obtenus à partir de la phase 2 ont été retenus pour décrire le prélèvement de la plante.

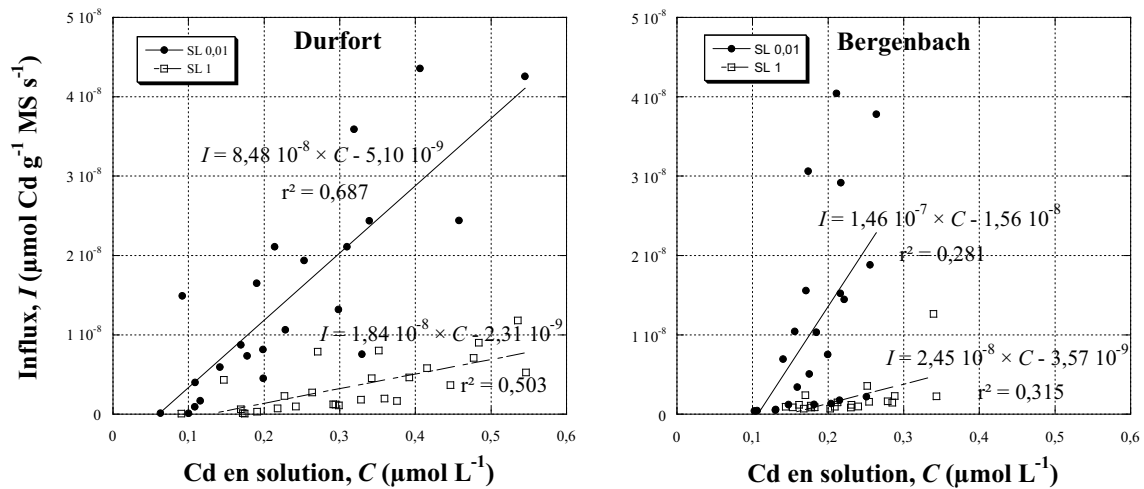


Figure 5-14. Influx nets de Cd (lors de la phase 2) mesurés sur les plants des écotypes Durfort et Bergenbach en fonction de la concentration en solution et pour deux modalités de saturation (SL 0,01 et SL 1).

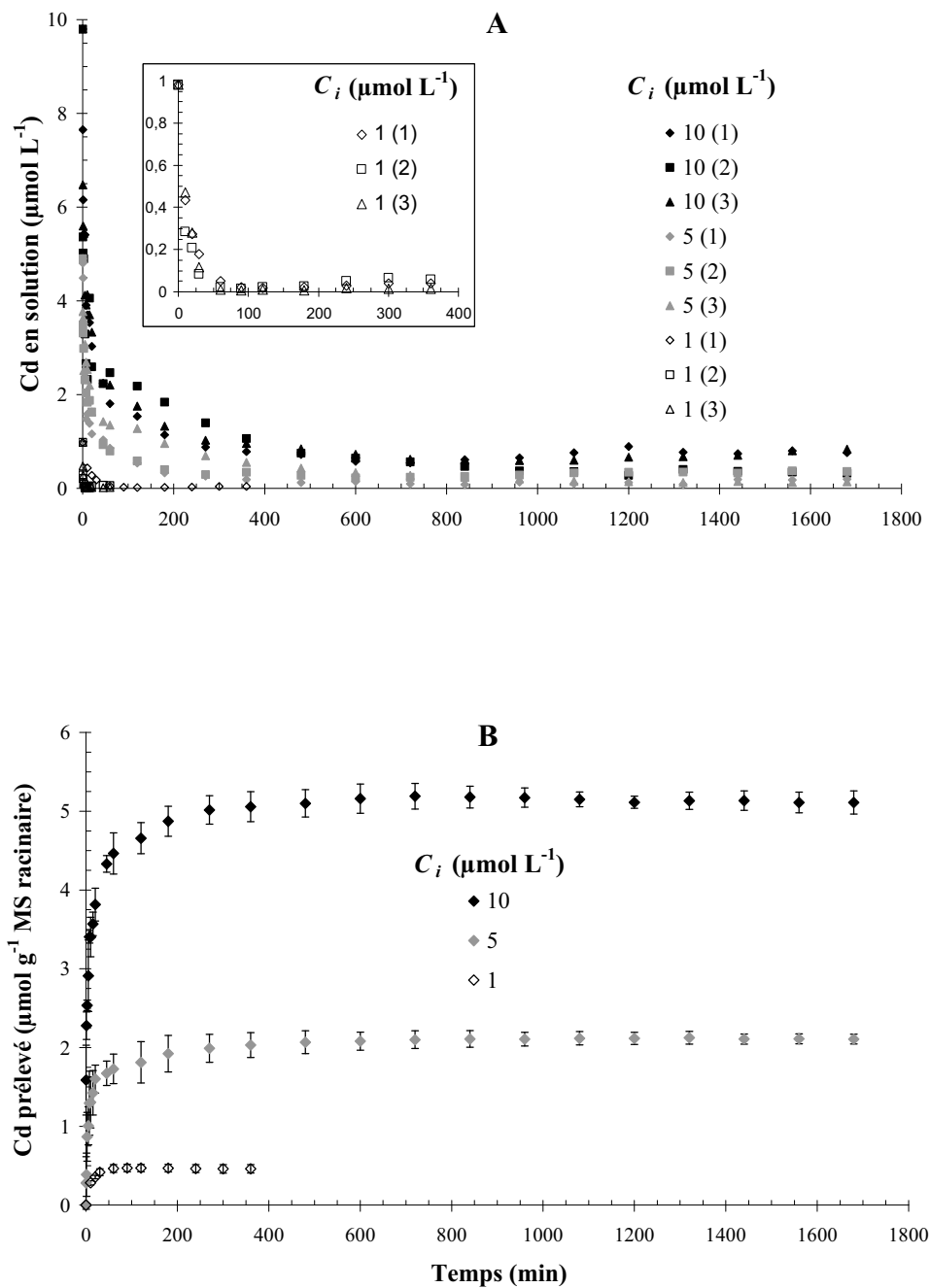


Figure 5-15. A. Evolution du Cd en solution au cours d'épuisements de solutions de concentrations initiales ( $C_i$ ) 1, 5 ou  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , pour l'écotype Viviez, sans prétraitement de saturation. B. Courbes moyennes des prélèvements correspondants aux profils du graphique A.



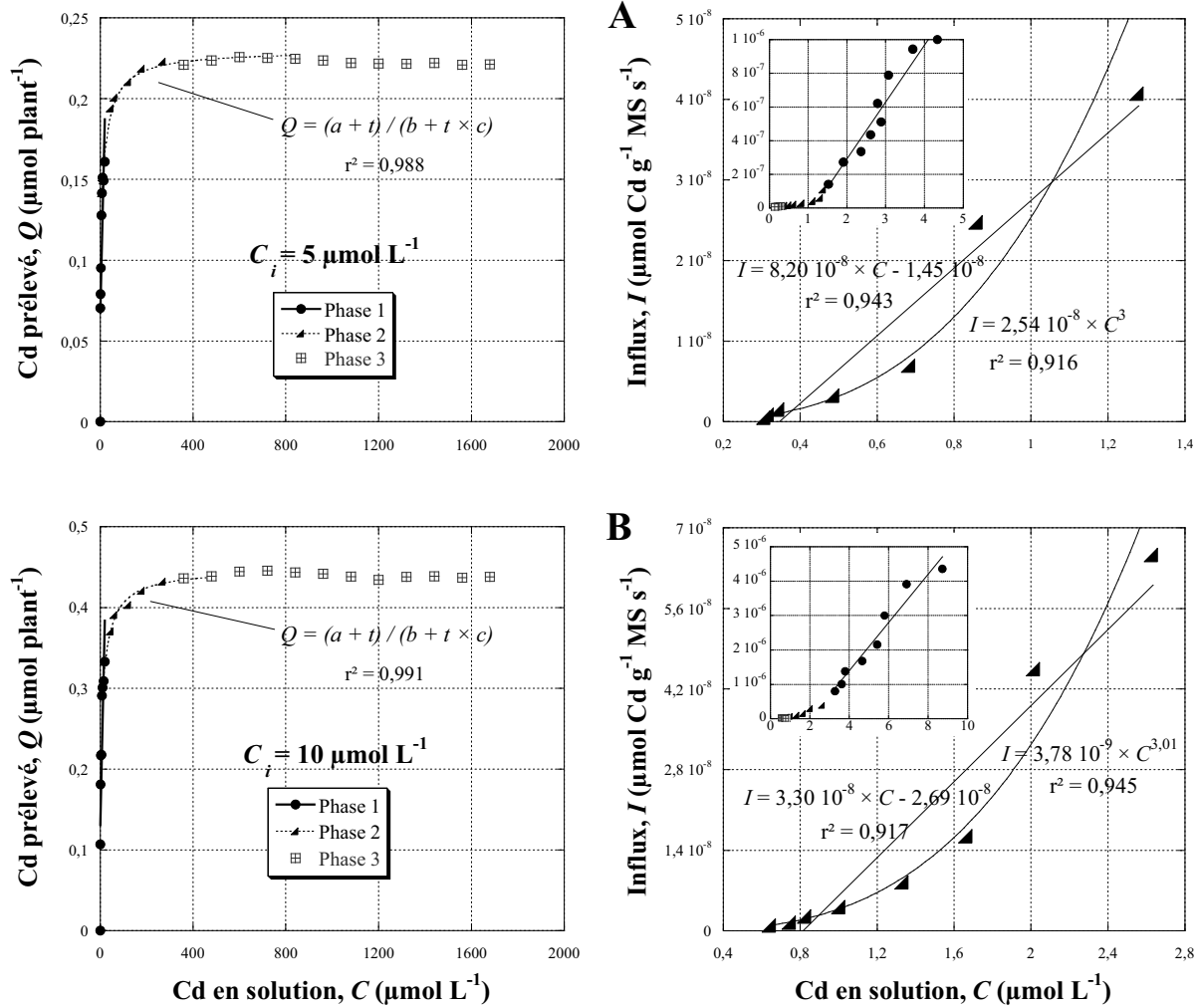
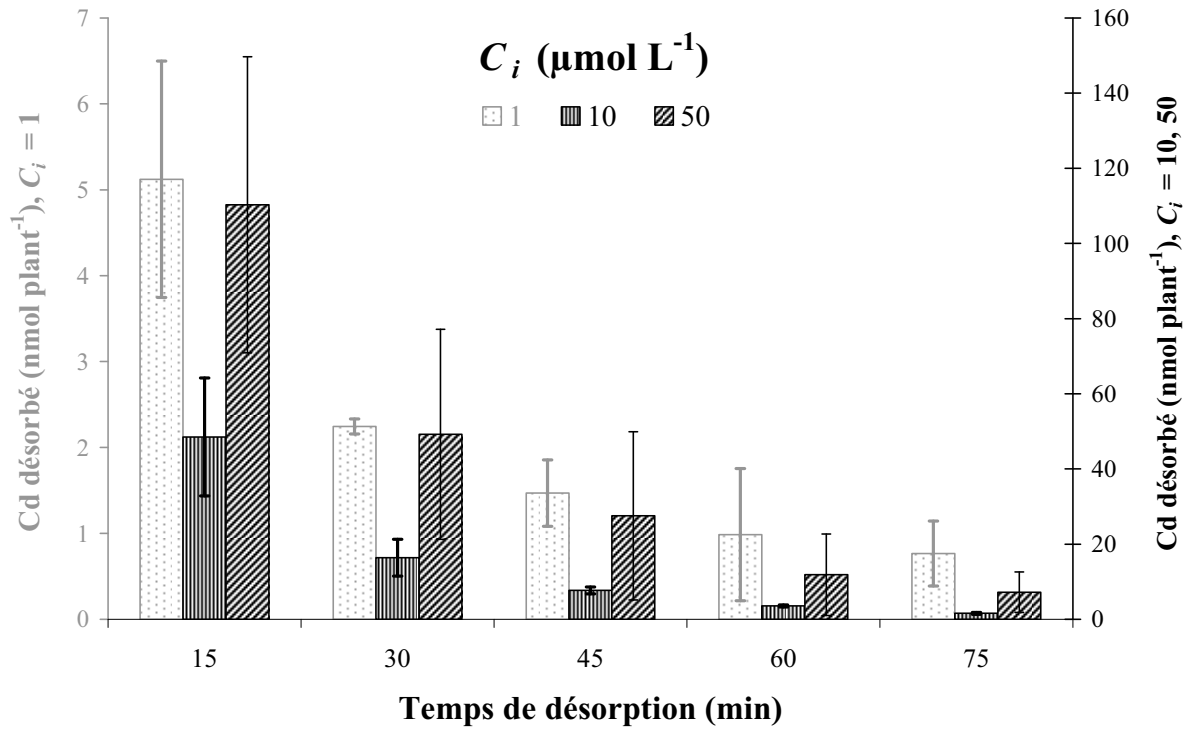


Figure 5-16. Quantités prélevées au cours de la cinétique de déplétion (à gauche) et isothermes d'absorption de plants de l'écotype Viviez (à droite), obtenues par épuisement d'une solution de concentration initiale  $C_i = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$  (A) et d'une solution de  $C_i = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$  (B). Les différentes phases ①, ② et ③ correspondent aux portions isolées sur la courbe d'absorption comme montrées sur la Figure 5-12.

### 3.4. Durée optimale des bains de désorption (Essai 4)

Les désorptions ont été réalisées sur des plantes provenant de trois niveaux de concentration de Cd : 1, 10 et 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Les quantités de Cd désorbé diminuaient de manière exponentielle au cours du temps. La Figure 5-17 montre qu'une majorité du Cd était désorbé après trois bains successifs (45 minutes) pour les trois niveaux de concentrations initiales. Les quantités moyennes désorbées dans les trois premiers bains représentaient 89 % des quantités désorbées après les cinq bains, alors que plus de 96 % du Cd était désorbé après une heure. Les quantités totales désorbées dans les cinq bains consécutifs des traitements 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sont respectivement 20 fois et 7,3 fois supérieures aux quantités totales désorbées dans les bains du traitement 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



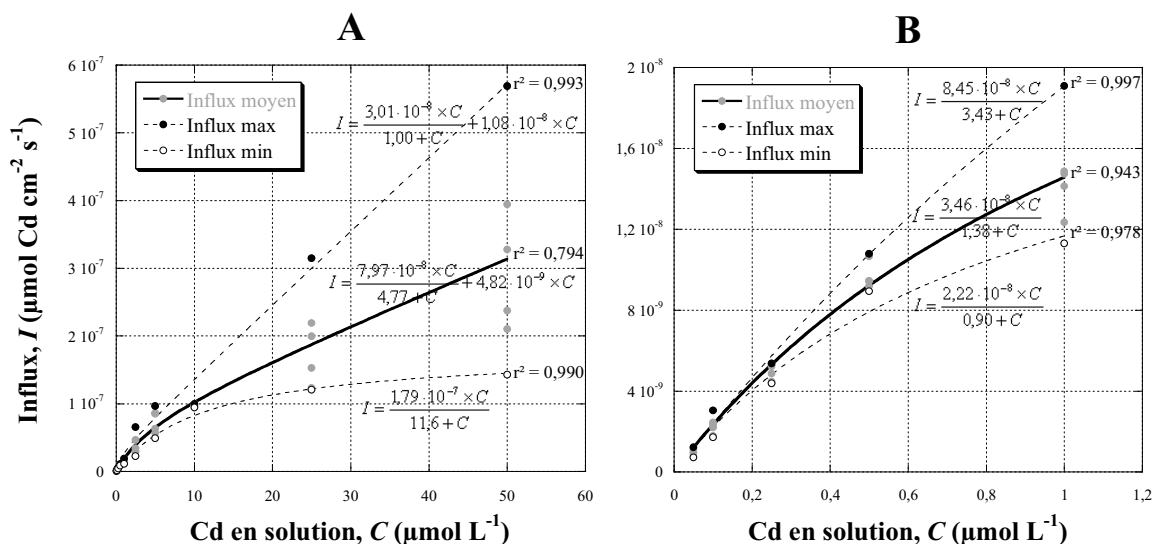
**Figure 5-17.** Cd récupéré dans cinq bains désorbants successifs de 15 minutes chacun, après la désorption de racines maintenues pendant 90 minutes dans des solutions de déplétion de concentration initiale ( $C_i$ ) : 1, 10 ou  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

### 3.5. Absorption racinaire à concentrations maintenues constantes (Essai 5)

Les quantités totales de Cd désorbé dans les trois bains successifs augmentaient proportionnellement avec celles présentes en solution. La courbe de la cinétique d'absorption du Cd en fonction de la concentration en solution a été ajustée par l'équation de Michaelis-Menten additionnée parfois d'une composante linéaire (Figure 5-18). Les ajustements ont été réalisés selon deux expressions de l'influx rapporté à la surface racinaire ou à la matière fraîche de racines ( $\mu\text{mol cm}^2 \text{s}^{-1}$  ou  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MSR h}^{-1}$ ) selon la gamme totale (de 0,05 à  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) ou une gamme basse de Cd en solution (0,05 à  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Afin d'évaluer la variabilité des paramètres des isothermes d'absorption, les ajustements ont été réalisés selon trois niveaux d'influx : valeurs d'influx les plus hautes dans chaque niveau de concentration en Cd, valeurs les plus basses ou sur l'ensemble des mesures. Les ajustements les plus significatifs (entre le formalisme de Michaelis-Menten et ce même formalisme additionné d'une composante linéaire) sont reportés dans le Tableau 5-5.

Les valeurs calculées de  $I_{max}$  et  $K_m$ , calculées sur l'ensemble de la gamme de concentration, s'étaient respectivement entre  $2,22 \cdot 10^{-8}$  et  $1,29 \cdot 10^{-7} \mu\text{mol cm}^2 \text{s}^{-1}$  (ou entre 53 et  $2578 \text{ nmol g}^{-1} \text{MF racinaire h}^{-1}$ ) et entre 0,74 et  $35 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Aux basses concentrations de Cd, entre 0,05 et  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , la composante linéaire disparaissait. Malgré de fortes corrélations des données par les ajustements sur la gamme complète de concentrations, les valeurs des paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  étaient respectivement jusqu'à 20 et 34 fois supérieures à celles obtenues d'après les ajustements aux basses concentrations. Ceci montre que

l'ajustement sur la totalité de la gamme de concentration, même s'il est mathématiquement étroit ( $r^2$  élevé), ne donne pas forcément une représentation correcte de l'isotherme d'absorption pour toutes les concentrations. Les valeurs de  $I_{max}$  et de  $K_m$  pouvaient varier respectivement jusqu'à des facteurs 6 et 12 entre les ajustements sur les influx maximums et les influx minimums.



**Figure 5-18. Cinétique d'absorption racinaire du Cd en fonction de sa concentration dans la solution pour toute la gamme de concentrations (A) ou aux basses concentrations seulement (B). Les courbes pleines représentent des ajustements réalisés sur l'ensemble des points, les courbes en pointillés ne prennent en compte que les valeurs maximales ou minimales de l'influx.**

### 3.6. Simulation du prélèvement de Cd par le tabouret calaminaire

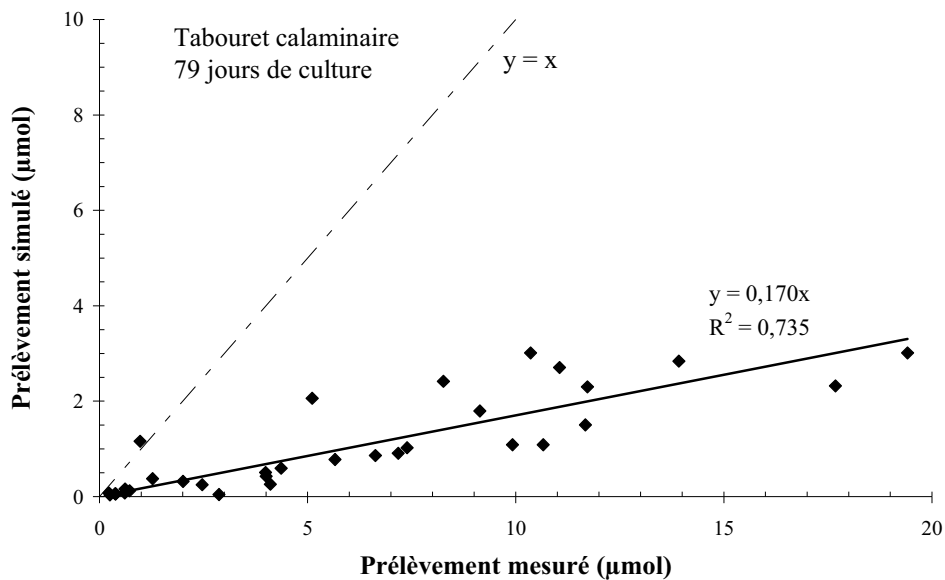
La simulation du prélèvement avec les nouveaux paramètres de cinétique d'absorption déduit de l'essai 5, conduit à une sous-estimation du prélèvement de 83 % (Figure 5-19), alors que les paramètres de Lombi *et al.* (2001) amenaient à une sous-estimation de 65%. Les différentes simulations réalisées sont résumées dans le Tableau 5-6. Bien que les paramètres cinétiques utilisés pour les simulations variaient considérablement, les prélèvements simulés différaient peu, conduisant à des sous-estimations de 82 à 86 %.

**Tableau 5-5. Valeurs des paramètres des ajustements réalisés pour deux gammes de Cd en solution (0,05-50 et 0,05-1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) et pour les influx exprimés par rapport à la surface racinaire ( $\text{cm}^2$ ) ou la matière fraîche racinaire (MFR). Les ajustements ont été réalisés sur l'ensemble des données (moyen) ainsi qu'uniquement sur les valeurs minimales ou maximales de l'influx (Figure 5-18).  $I_{max}$  en  $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  ou  $\text{nmol g}^{-1} \text{MFR h}^{-1}$ ,  $K_m$  en  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et  $a$  en  $\text{L cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  ou  $\text{L g}^{-1} \text{MFR h}^{-1}$ .**

	Influx ( $\mu\text{mol s}^{-1} \text{cm}^{-2}$ )		Influx ( $\text{nmol g}^{-1} \text{MFR h}^{-1}$ )	
	0,05-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,05-1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,05-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,05-1 $\mu\text{mol L}^{-1}$
Moyen	$(I_{max} \times C / K_m + C) + a \times C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$
$I_{max}$	$7,97 \cdot 10^{-8}$	$3,46 \cdot 10^{-8}$	1715	86,7
$K_m$	4,77	1,38	33,3	0,97
$a$	$4,82 \cdot 10^{-9}$	-	-	-
$r^2$	0,794	0,943	0,935	0,872
Maximum	$(I_{max} \times C / K_m + C) + a \times C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$
$I'_{max}$	$3,01 \cdot 10^{-8}$	$8,45 \cdot 10^{-8}$	2578	339
$K'_m$	1,00	3,43	34,9	3,40
$a'$	$1,08 \cdot 10^{-8}$	/	/	/
$r^2$	0,993	0,997	0,990	0,999
Minimum	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$	$I_{max} \times C / K_m + C$
$I''_{max}$	$1,79 \cdot 10^{-7}$	$2,22 \cdot 10^{-8}$	941	53,0
$K''_m$	11,6	0,90	24,3	0,74
$a''$	-	-	-	-
$r^2$	0,990	0,978	0,995	0,966

**Tableau 5-6. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés selon différents paramètres de la cinétique d'absorption,  $I_{max}$  et  $K_m$ . Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination. Les paramètres d'absorption sont déduits des ajustements réalisés sur l'ensemble des données (*moyen*), sur les influx maximums ou minimums, et pour deux gammes de Cd en solution (Tableau 5-5 ; Figure 5-18).**

Type d'ajustement	Gamme basse		Gamme entière	
	$r^2$	$a$	$r^2$	$a$
Moyen	0,74	0,17	0,73	0,15
Maximum	0,73	0,18	0,74	0,18
Minimum	0,74	0,16	0,72	0,14



**Figure 5-19. Relation entre le prélèvement de Cd simulé par le modèle et mesuré dans la plante. Les paramètres de cinétique d'absorption utilisés pour la modélisation correspondent à l'essai 5 avec l'ajustement aux basses concentrations ( $I_{max} = 3,46 \cdot 10^{-8}$  et  $K_m = 1,38 \cdot 10^{-3}$ ).**

## 4. Discussion

### 4.1. Compartimentation du Cd

Entre 70 et 87 % du Cd racinaire se trouve hors du compartiment symplasmique (Figure 5-8). Cette observation est en accord avec les travaux récents de la littérature (Boominathan et Doran, 2003a ; Boominathan et Doran, 2003b ; Nedelkoska et Doran, 2000 ; Vazquez *et al.*, 1992) dont les résultats montrent que le Cd racinaire est essentiellement accumulé dans l'apoplasme et dans une moindre mesure dans la vacuole. Cosio *et al.* (2005) ont montré au niveau foliaire, (1) que le Cd était 5,4 fois plus concentré dans les parois cellulaires et l'apoplasme de l'épiderme qu'à l'intérieur des cellules contiguës, (2) et que ces concentrations étaient négligeables dans les protoplastes du mésophylle. De même Cataldo *et al.* (1983a) ont observé chez le soja que la part de Cd adsorbé réversiblement sur les racines (groupements carboxyliques) était concentration dépendante et dépassait 32 % de la fraction absorbée pour les basses concentrations. La fraction non échangeable représentait plus de 45 % de la fraction absorbée au-delà de 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Au-delà de cette concentration, les processus passifs (incluant l'adsorption et la diffusion) commencent à prédominer. Des travaux sur le lupin montrent également un part importante de l'adsorption sur les racines (30 %) par rapport à l'absorption totale (Costa et Morel, 1993). Enfin d'après Zhao *et al.* (2002), la sorption apoplasmique représentait jusqu'à 75 % en moyenne de l'absorption apparente chez l'écotype Prayon.

Dans la part de Cd apoplasmique, nous pouvons distinguer une fraction échangeable (ou réversible) et une fraction non-échangeable (irréversible). La fraction échangeable correspondrait au Cd diffusant dans le fluide apoplasmique ainsi que le Cd adsorbé à la surface de la racine. Le Cd non-échangeable serait celui ayant diffusé à l'intérieur des parois pecto-cellulosiques, soit en direction du symplasma, soit en direction des bandes de Caspari. La fraction échangeable représente, durant les premières minutes de prélèvement, 65 % du Cd total prélevé dans la racine et sa concentration de 157  $\text{nmol g}^{-1}$  d'apoplasme sec en moyenne n'évolue pas au cours de l'épuisement. L'adsorption réversible semble donc être un processus rapide, mais l'efficacité de notre traitement pour l'estimer peut être remise en cause compte tenu des quantités importantes mesurées dans les troisièmes bains (Figure 5-4 ; Figure 5-17). La fraction non-échangeable, en revanche, qui atteint une proportion de 52 % du Cd racinaire en fin d'expérience (6 h), voit sa concentration passer de 50 à 350  $\text{nmol g}^{-1}$  d'apoplasme sec entre le début et la fin de l'expérience. C'est cette part de Cd prélevé que nous avons cherché à éliminer de nos isothermes avec les pré-traitements de saturation, de manière à ce qu'elle fausse le moins possible les paramètres cinétiques de la composante saturante, caractéristique de l'absorption symplasmique. La concentration en Cd apoplasmique non-échangeable suit la même évolution que le Cd du symplasma (Figure 5-8), la première grandeur étant 55 % supérieure à la seconde. Cette corrélation intime entre ces deux compartiments suppose l'existence d'un possible approvisionnement du Cd symplasmique par la voie apoplasmique, en le livrant à la membrane plasmique juxtaposée.

Les quantités mesurées dans les compartiments symplasmique ou apoplasmique n'ont pas été affectées ni par les temps de traitement au méthanol-chloroforme ou le rinçage à l'eau ni par l'agitation rotative (Boominathan et Doran, 2003a). Il est toutefois probable que les traitements des racines au méthanol-chloroforme aient surestimés les quantités adsorbées irréversiblement aux dépens des quantités absorbées dans les cellules. En effet, une partie du Cd libéré par le traitement a pu s'adsorber immédiatement sur l'apoplasme durant les bains de

méthanol-chloroforme ou durant les bains de rinçage à l'eau. De plus la « surface apoplasmique » a été vraisemblablement plus accessible après le traitement. A l'inverse, il est possible que le Cd adsorbé ait pu passer en solution. Le bilan de ces deux phénomènes antagonistes pourrait limiter les biais du traitement sur la compartimentation.

#### 4.2. Désorption du Cd « réversible »

L'estimation de la durée optimale des bains désorbants confirme les doutes que nous avons sur l'efficacité de la désorption du Cd échangeable lors de l'essai 2 : les bains effectués (trois bains de 10 minutes) dans cet essai n'étaient pas suffisamment longs ou suffisamment nombreux. Suite à ces résultats, nous avons décidé de réaliser, lors de la désorption de l'essai 5, trois bains successifs d'une durée de 15 minutes chacun.

Les quantités de Cd adsorbé réversiblement (ou échangeable) au cours du temps atteignaient un équilibre rapidement avec la concentration en solution, et semblaient augmenter légèrement à concentration constante ou diminuer doucement durant les déplétions en raison d'une lente désorption. La quantité désorbée est une fonction linéaire de la concentration en solution, ce qui suppose que l'adsorption du Cd échangeable était probablement elle aussi proportionnelle à la concentration de Cd, jusqu'à  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 4.3. Effet des prétraitements de saturation

L'essai 2 n'a montré aucune différence significative entre la répartition du Cd dans les différents compartiments racinaires en fonction des prétraitements de Cd durant la culture. Concernant l'essai 3, l'étude sur l'écotype Viviez montre que l'absorption des plantes était plus importante lorsqu'elles n'avaient pas connu de Cd durant la culture par rapport à celles qui s'étaient développées durant un mois et demi dans  $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd. Ceci vérifiant l'effet escompté c'est-à-dire une adsorption apoplasmique (irréversible) plus importante chez les plants non saturés. Toutefois les plants de la modalité de saturation  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, ont absorbés des quantités supérieures à celles des plants issus de la modalité 0,01. Il est probable que le principal rôle joué par ce traitement n'a pas été tant de saturer les parois mais plutôt de modifier la concentration interne de la plante en Cd. Ainsi il est possible que l'exposition à une forte concentration du métal ait induit une augmentation de l'absorption de la plante. L'effet d'une saturation de 40 heures avant l'expérience de déplétion a montré une diminution de 23 % de l'absorption par rapport à l'absence du traitement. De même l'absorption des plants de Durfort et Bergenbach était respectivement 8 % et 7 % supérieure chez les plants qui avaient connus des quantités moindres de Cd durant la culture ( $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) par rapport à ceux de la modalité  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Les nombreux tests statistiques n'ont pas permis de mettre en évidence de différences significatives nettes ni entre les traitements et leurs modalités ni entre les écotypes, malgré des différences parfois notables de prélèvement moyens. Ainsi, lorsque nous nous sommes affranchis des mécanismes de sorption importante au cours des premières minutes des épuisements, nous avons observé chez Durfort et Bergenbach des différences d'influx net entre les modalités SL 0,01 et SL 1 allant de facteurs 6 à 9 entre  $0,1$  et  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd en solution (Figure 5-17). Bien qu'un tel effet n'ait pas été observé sur l'écotype Viviez, il semblerait que la présence de Cd durant la culture ait provoqué un fort ralentissement du flux apoplasmique et ou du flux symplasmique.

Il faut émettre des réserves sur l'efficacité de nos prétraitements. Ils n'ont concerné que le Cd non-échangeable, l'échangeable s'étant probablement isotopiquement échangé avec

le traceur radioactif. De plus, le traitement d'un mois et demi en début de culture a été suivi d'un mois de culture sans contamination, au cours duquel la masse racinaire s'est considérablement accrue. L'apoplasme nouvellement produit n'a pas pu être saturé par du Cd. En outre, durant cette période, le Cd déjà présent dans les parois a pu diffuser vers le symplasme et y pénétrer. De même, le traitement de 40 heures n'a pas été effectué à concentration de Cd maintenue constante. La saturation complète des sites de fixation apoplasmique n'aurait pas été atteinte.

Nous pensons que le Cd qui diffuse dans les parois, bien que non-échangeable, n'est pas fixé aux sites de façon définitive. Il diffuserait à travers toute l'épaisseur des parois pour atteindre les membranes plasmiques, voire le xylème. En effet, nous avons tenté de saturer les sites de fixation concernés en espérant que lors des expériences d'épuisement, le Cd traversant les parois ne s'échange avec ces sites que dans une moindre mesure. En conclusion, nous n'avons pas pu montrer clairement un effet des traitements sur l'absorption. Cela pourrait être dû à (i) la variation génétique importante des individus (caractérisée par un étalement considérable des prélèvements mesurés) et (ii) l'efficacité insuffisante des traitements de saturation.

#### 4.4. Une voie apoplasmique prééminente

Au cours de l'essai 1, nous avons vérifié que le prélèvement ne ralentissait pas significativement au cours des 48 premières heures de l'absorption. Si l'absorption avait atteint un plateau cela aurait été gênant pour l'interprétation des courbes de cinétique de déplétion puisque cela aurait pu être le signe d'une saturation de la plante caractérisée par un ralentissement voire un arrêt de l'absorption du Cd (Blaudez *et al.*, 2000, M. Chalot, communication personnelle).

L'isotherme d'absorption, obtenue dans l'essai 5, a tout d'abord été ajustée avec une fonction de Michaelis-Menten et une portion linéaire. Toutefois cet ajustement ne semble pas très adapté aux données puisqu'il fournit des paramètres très différents lorsqu'il est appliqué sur toute la gamme de concentration (0,05 – 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) ou sur les valeurs basses (0,05 – 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les grandeurs des paramètres cinétiques obtenus sur les basses concentrations ( $I_{max} = 87 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF racinaire h}^{-1}$  et  $K_m = 0,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) sont en accord avec ceux obtenus par Lombi *et al.* (2001) ; Lombi *et al.* (2002) (en présence de fer) ou Zhao *et al.* (2002) qui donnent des valeurs pour  $I_{max}$  comprises entre 160 et 63 et des valeurs pour  $K_m$  comprises entre 0,18 et 1,05. De plus, nos traitements de désorption étaient plus long que ceux utilisés par ces auteurs, et ont probablement eu pour effet d'abaisser légèrement  $I_{max}$ .

L'isotherme d'absorption, produite par l'essai 5, a pu être également ajustée avec l'équation de l'isotherme de Freundlich (croissance de type puissance) sur l'ensemble des points :

$$\text{Eq 5.3 : } I = 2,12 \cdot 10^{-8} \times C^{0,69} - 2,40 \cdot 10^{-9}, r^2 = 0,79$$

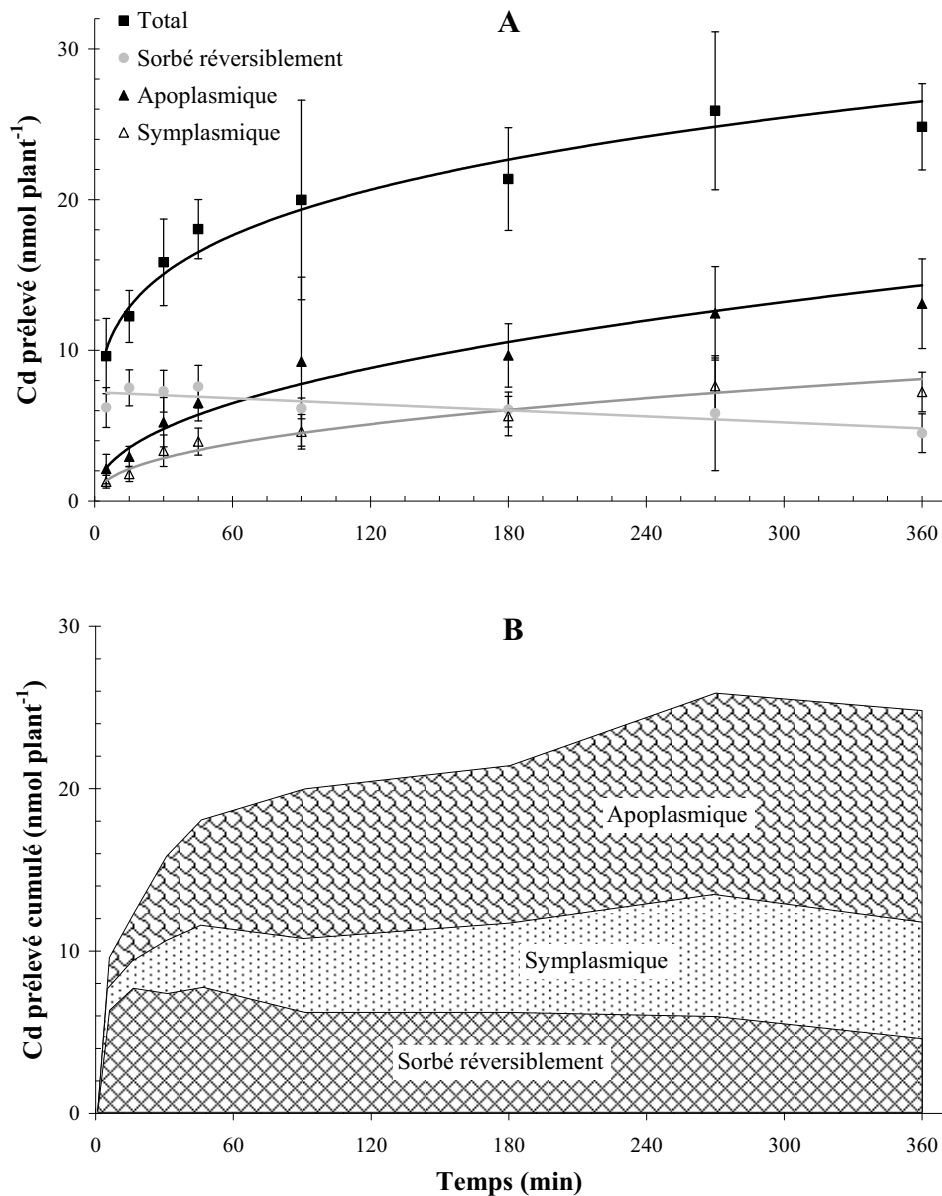
et sur les basses concentrations uniquement (0,05-1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) :

$$\text{Eq 5.4 : } I = 1,70 \cdot 10^{-8} \times C^{0,55} - 2,39 \cdot 10^{-9}, r^2 = 0,94$$



Avec  $I$ , influx en  $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  et  $C$ , concentration en solution en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . En outre, le modèle de Michaelis-Menten correspond au même formalisme mathématique que le modèle de l'isotherme de Langmuir. Si nous considérons que la majorité du Cd adsorbé réversiblement (échangeable) a été retiré de l'apoplasme, il reste que sur des temps d'absorption courts, une grande partie de l'absorption apparente du Cd se trouve dans l'apoplasme. Nous supposons donc qu'avec ce type d'expérience, nous mesurons principalement l'isotherme d'adsorption du Cd dans l'apoplasme. Lombi *et al.* (2001) et Lombi *et al.* (2002) associent la composante linéaire à de l'adsorption apoplasmique et la composante saturante à de l'absorption dans le symplasme. Or ces auteurs n'étudient pas clairement l'évolution de l'adsorption en fonction de la concentration en solution, et rien ne semble présager que son évolution soit proportionnelle à la concentration en solution compte tenu de la garniture cationique existant sur les sites d'adsorption de l'apoplasme racinaire développé en solution nutritive. Enfin en considérant d'une part que les plants hyperaccumulateurs Viviez et Ganges (utilisé par Lombi et Zhao) ont *a priori* les mêmes capacités d'adsorption apoplasmique (Zhao *et al.* (2002) et d'autre part que l'écotype Viviez accumule près de dix fois plus que l'écotype Ganges (Schwartz, 1997), la proximité de notre courbe avec celles des auteurs cités est un indice de plus de la prééminence de la voie apoplasmique durant les premiers instants de l'absorption.

Zhao *et al.* (2002) montrent que la sorption apoplasmique présente une composante hyperbolique qui sature au cours du temps lorsque la concentration dans la solution de déplétion n'est pas maintenue constante. En outre ils considèrent qu'en moins de 45 minutes, l'apoplasme est à l'équilibre avec la solution lors d'une déplétion dans une solution contenant  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd. Ceci correspond à notre phase 1 (Figure 5-12) pour un niveau de concentration initiale identique. Dans notre étude, les déplétions réalisées pour les trois écotypes, quels que soient les traitements et les concentrations initiales, ont mis en évidence l'existence d'une composante d'absorption linéaire ou de type puissance, et de toute évidence non saturante.



**Figure 5-20. (A) Courbes de prélèvement au cours du temps dans les différents compartiments (les barres d'erreur représentent +/- un écart type) et (B) quantités cumulées dans ces mêmes compartiments.**

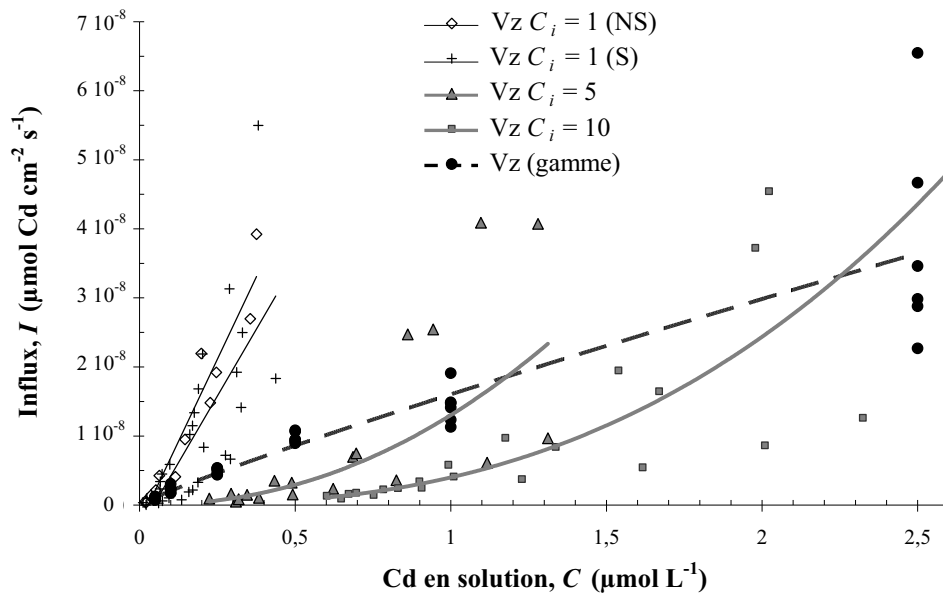
Les données de l'essai 2 permettent de mieux comprendre l'absorption apparente au cours du temps. Le Cd adsorbé réversiblement est très rapidement à l'équilibre avec la racine et tend à se désorber légèrement au fur et à mesure que la concentration baisse en solution (Figure 5-20 A). L'épuisement serait dans un premier temps dominé largement par les phénomènes de sorption apoplasmique (phase 1, Figure 5-12) (Claassen et Barber, 1974 ; Zhao *et al.*, 2002), qui laisseraient apparaître ensuite une composante d'absorption (phase 2, Figure 5-12). Si nous considérons les quantités adsorbées réversiblement comme stables, la seconde phase correspond à l'augmentation simultanée de l'absorption symplasmique et de la sorption au niveau de l'apoplasme (Figure 5-20 B). En outre, les quantités finales absorbées en apparence chez les trois écotypes sont sensiblement les mêmes (Tableau 5-4), ce qui, compte tenu des capacités d'accumulation très différentes des trois plantes (Tableau 5-1), laisse croire que la majorité du Cd ait diffusé passivement dans l'apoplasme.

De nombreux travaux récents attachent un rôle important de puits au compartiment apoplasmique (Boominathan et Doran, 2003b ; Küpper *et al.*, 2000 ; Meychik *et al.*, 2003 ; White *et al.*, 2002). De plus, il semblerait que les racines ne développent pas d'exoderme (bande de Caspari au niveau de l'hypoderme) lorsqu'elles sont cultivées en hydroponie (Zimmermann *et al.*, 2000 ; Zimmermann et Steudle, 1998). La maturation des cellules de l'exoderme est très marquée en aéroponie alors qu'elle est quasi nulle en hydroponie, de même les cellules de l'endoderme ont des bandes de caspari beaucoup plus épaisses et possèdent des lamelles de subérine (Enstone et Peterson, 1998). Bien que les barrières au niveau de l'endoderme et de l'exoderme présentent des cellules de passage (Hose *et al.*, 2001 ; Ma *et al.*, 2003 ; Schreiber *et al.*, 1999) et que la subérine ne soit pas totalement imperméable aux ions (Peterson et Cholewa, 1998 ; Ranathunge *et al.*, 2005), il semblerait qu'en culture hydroponique le compartiment apoplasmique puisse surestimer nettement les quantités absorbées notamment au niveau des apex et des racines jeunes (Sattelmacher, 2001). A ces niveaux l'absence de barrière favorise la voie apoplasmique. Les études concernant la localisation de l'absorption racinaire pour le Cd sont rares mais elles démontrent une absorption préférentielle à l'apex des racines du tabouret calaminaire et du blé (Harris et Taylor, 2004 ; Pineros *et al.*, 1998). Aucune étude à notre connaissance ne permet de savoir si le Cd apoplasmique est susceptible de franchir les membranes plasmiques et d'atteindre le xylème. Des études portant sur le sodium (Frensch *et al.*, 1992), le calcium et le potassium (Harrison-Murray et Clarkson, 1973) le cuivre (Ranathunge *et al.*, 2005), le fer (Zhang *et al.*, 1991a), le bore (Matoh, 1997) ou encore le zinc (Riseman *et al.*, 2005) montrent que la voie apoplasmique joue un rôle important dans l'absorption de ces éléments sans toutefois quantifier sa contribution par rapport à la voie symplasmique. En outre, la capacité d'échange racinaire peut varier d'une plante à l'autre, entre un écotype sensible ou non au polluant, ou bien entre un écotype hyperaccumulateur ou non. Ainsi les plants des écotypes les plus sensibles développent des barrières physiques nettement plus marquées et plus proches des extrémités racinaires que les écotypes qui accumulent le plus (Lux *et al.*, 2004 ; Riseman *et al.*, 2005).

#### 4.5. Influx mesurés dans les plants

Chez l'écotype Viviez, les influx mesurés durant les déplétions (phase 2) étaient sensiblement identiques selon les trois niveaux de concentration initiale  $C_i$ , toutefois ils apparaissaient pour des gammes de concentrations plus étalées et plus élevées (Figure 5-21). Ainsi les influx mesurés sont obtenus pour des concentrations 4 et 8 fois plus élevées respectivement pour  $C_i = 5$  et  $C_i = 10$  par rapport à  $C_i = 1$ . En d'autres termes, pour une même concentration en solution, les influx différaient selon le niveau de concentration initiale de la solution de déplétion. Ils ne peuvent donc pas correspondre à une absorption qu'elle soit active ou passive. Les influx correspondraient majoritairement à des processus de sorption au niveau de l'apoplasme qui seraient dépendants des quantités en solution et de celles déjà présentes dans l'apoplasme. Ceci suggère que si un influx actif de Cd existe, il ne peut être clairement mis en évidence dans une telle expérimentation.

Les influx mesurés dans les plants de l'essai 5 (gamme de concentrations) étaient inférieurs à ceux des plants de la déplétion à partir de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  mais supérieurs aux influx des plants dont l'apoplasme était davantage saturé ( $C_i = 5$  et 10).



**Figure 5-21. Isothermes d'absorption du Cd (déduites de la phase 2) par l'écotype Viviez, obtenues grâce à des dépletions à partir de plusieurs concentrations initiales ( $C_i = 1, 5$  ou  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) ou à partir d'une « gamme » de concentrations maintenues constantes (essai 5).**

Nous considérons que les quantités de Cd présent dans les solutions de concentration initiale 5 ou  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , ont contribué à une saturation des apoplastes racinaires. Les pentes des régressions linéaires entre les influx et la concentration en solution (Tableau 5-7) pour l'ensemble des plants soumis à des traitements de saturation (Dt SL 1, Bh SL 1, Vz 5, Vz 10 et Vz sur gamme) étaient relativement similaires ( $2,3 \cdot 10^{-8}$  en moyenne). Toutefois, les différences importantes entre les ordonnées à l'origine (b) témoignent du décalage des influx en fonction de la concentration de Cd en solution sous l'influence des états de saturation divers imposés par les traitements. Les coefficients de détermination obtenus sont parfois faibles. Ils attestent d'une variabilité à la fois génétique et expérimentale dont les parts respectives sont difficiles à évaluer.

Dans le chapitre 2, nous avons montré que la relation, entre les prélèvements de Cd mesuré et calculé, par le tabouret, présentait un  $r^2$  égal à 0,75 (Figure 10). Nous avons alors fait l'hypothèse que cette dispersion pouvait être due à une variabilité, non prise en compte dans le modèle, des paramètres cinétiques de l'absorption d'une plante à l'autre. Les prélèvements calculés les plus éloignés de la régression étaient jusqu'à 50 % supérieurs ou jusqu'à deux fois inférieurs. Nous avons montré chez l'écotype Viviez que les paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  pouvaient varier d'un facteur 20 et 34 respectivement. L'analyse de sensibilité réalisée sur ces facteurs (Figure 2.18) montre une diminution de l'absorption supérieure à 50 % pour une variation des paramètres d'un facteur 6. Toutefois, d'après le modèle, l'augmentation du prélèvement est très peu sensible à la variation des paramètres d'absorption. L'hypothèse susdite est donc probable mais n'explique pas à elle seule la variabilité constatée.

**Tableau 5-7. Paramètres moyens des corrélations (linéaires : a, b ou puissances : c, d) entre les influx et les concentrations en solution (phase 2) obtenus pour l'ensemble des déplétions et pour la mesure concentrations constantes.**

Paramètres des relations	Mesure par déplétion						Mesure par gamme de concentrations	
	Concentration initiale ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )							
	1	5		10		Vz		
	Vz	Dt	Bh	Vz	Vz	Vz	Vz	
Tous les traitements								
$y = a.X + b$		SL 0,01	SL 1	SL 0,01	SL 1			
a ( $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	$7,3 \cdot 10^{-8}$	$8,5 \cdot 10^{-8}$	$1,8 \cdot 10^{-8}$	$1,5 \cdot 10^{-7}$	$2,5 \cdot 10^{-8}$	$2,7 \cdot 10^{-8}$	$2,9 \cdot 10^{-8}$	$1,5 \cdot 10^{-8}$
b ( $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$-3,1 \cdot 10^9$	$-5,1 \cdot 10^9$	$-2,3 \cdot 10^9$	$-1,6 \cdot 10^8$	$-3,6 \cdot 10^9$	$-8,5 \cdot 10^9$	$-2,3 \cdot 10^8$	$8,8 \cdot 10^{-10}$
$r^2$	0,531	0,687	0,503	0,281	0,315	0,518	0,548	0,815
$y = c.X^d$								
c	-	-	-	-	-	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$4,0 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^{-8}$
d	-	-	-	-	-	2,2	2,6	0,9
$r^2$	-	-	-	-	-	0,755	0,838	0,967

L'évolution des quantités symplasmiques au cours du temps (essai 2) nous ont permis de calculer un influx  $I$ , donné par la relation :

$$\text{Eq 5.5 : } I = 5.10^{-8} \times C^{6,1}, r^2 = 0,997$$

Cette relation semble être la plus adaptée pour décrire le prélèvement symplasmique de l'écotype Viviez.

#### 4.6. Simulation du prélèvement de Cd

Bien que nos paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  soient compris dans la large gamme de ceux mesurés par Lombi *et al.* (2001) et Zhao *et al.* (2002), il se trouve qu'ils sont environ 5 à 6 fois inférieurs ou supérieurs respectivement pour  $I_{max}$  et  $K_m$  à ceux utilisés dans les chapitres 2 et 3 (Tableau 2.3). Ceci explique la forte sous-estimation du prélèvement simulé par le modèle (Figure 5-19) avec les paramètres mesurés durant la cinétique d'absorption de l'essai 5. L'écotype Viviez prélevant plus de Cd que l'écotype Ganges, nous attendions des valeurs de  $I_{max}$  plus élevés ou des  $K_m$  plus faibles que ceux mesurés. Cette sous-estimation de l'influx peut s'expliquer par la saturation préalable de 24 h. En effet, la saturation courte avant l'expérience a été réalisée dans de larges volumes (600 ml) qui permettent de maintenir une concentration quasi constante. Ce traitement a donc pu être plus efficace que celui réalisé avant les expériences de désorption dans les volumes de 50 mL. La plante était donc probablement davantage saturée en Cd, ce qui explique que les paramètres racinaires mesurés peuvent être sous-estimés.

Les courbes d'influx obtenues dans l'essai 3 ont été modélisées par des fonctions puissances ou linéaires. Ces formalismes n'ont pas pu être testés dans le modèle UPTAKE. Il serait intéressant de soumettre au modèle la description de l'absorption par les désorptions réalisées avec l'écotype Viviez, sans aucune saturation préalable (Figure 5-13 A).

#### 4.7. Comparaison des méthodes de mesure de la cinétique d'absorption

Les deux méthodes utilisées pour mesurer l'absorption de Cd par la plante en fonction de la concentration en solution, présentent chacune des avantages et des inconvénients. De même, elles peuvent toutes les deux conduire à des interprétations très différentes.

La méthode de déplétion présente l'avantage de fournir une courbe d'influx en fonction de la concentration pour une même plante. Le suivi aisé de la concentration en solution permet de calculer rapidement les quantités prélevées. En revanche, il est difficile de contrôler la gamme de concentration en solution pour laquelle l'influx durant la phase 2 sera défini. De plus, il est possible que la quantité de Cd prélevée au cours de l'épuisement exerce une influence sur l'influx observé au fur et à mesure que les concentrations baissent, du fait d'une éventuelle réaction en retour de la plante aux teneurs croissantes en Cd dans ses tissus. Enfin, les quantités disparaissant de la solution ne permettent pas clairement d'estimer l'influx de Cd entrant réellement dans le symplasma, puisqu'une partie est uniquement adsorbée dans l'apoplasme.

La méthode utilisant la gamme de concentrations permet d'obtenir une courbe d'influx pour les valeurs désirées de concentration en solution. Cette expérimentation offre la possibilité de désorber le Cd fixé réversiblement sur les racines avant d'en mesurer sa teneur.

Toutefois, cette méthode requiert un grand nombre de plantes et ne permet pas, comme pour la déplétion, de connaître précisément la part symplasmique de l'influx apparent mesuré.

Les courbes de déplétions ont fait l'objet de plusieurs méthodes d'ajustement. Dans ce travail, nous avons tout d'abord dérivé les courbes en calculant le nombre dérivé en chaque point. Cependant la présence d'anomalies de mesure entraînait des pentes incohérentes de part et d'autres de ces points. Nous avons donc par la suite lissé les mesures grâce à des ajustements à des modèles mathématiques choisis parmi 300 disponibles dans le logiciel LAB Fit. Ces ajustements ont été réalisés sur l'ensemble des points de mesure ou seulement sur les portions qui nous intéressaient pour calculer l'influx. C'est cette méthode qui a été retenue dans les résultats présentés avant. Les ajustements fournissant les  $r^2$  les plus élevés étaient en règle générale utilisés. Toutefois, dans de rares cas, il arrivait qu'une valeur atypique modifie l'allure de la courbe et permette une corrélation plus élevée pour une courbe d'ajustement en apparence plus éloignée de la tendance générale. Par exemple, l'ajustement  $\frac{a+x}{b+c.x} + d.x$  peut tenir compte d'une variabilité avec le terme  $d.x$  qui n'a pas lieu d'être, ainsi l'ajustement  $\frac{a+x}{b+c.x}$  est préférable bien qu'il fournisse un  $r^2$  légèrement inférieur.

La Figure 5-22 A. illustre quatre ajustements sur les données du prélèvement symplasmique (essai 2) déjà présentés dans la Figure 5-7. Les quatre relations montrent des  $r^2$  très significatifs et proches les uns des autres ( $r^2$  de 0,757 à 0,779). Toutefois les courbes d'influx calculés présentent d'une part des allures très différentes (saturante ou croissance exponentielle) et d'autre part des valeurs d'influx pouvant varier d'un facteur quatre (Figure 5-22 B.), ceci notamment aux plus fortes concentrations où les ajustements des prélèvements divergeaient. Dans cet exemple, lorsque les ajustements donnent du poids aux trois paramètres du polynôme du second degré par rapport au reste de la fonction, la fonction dérivée présente une allure saturante. Les ajustements les plus légitimes des données de la Figure 5-22 A, sont les équations qui fournissent les  $r^2$  les plus élevés. L'ajustement par la courbe d'équation  $\frac{a+x}{b+c.x} + d.x$  semble plus adapté aux basses concentrations.

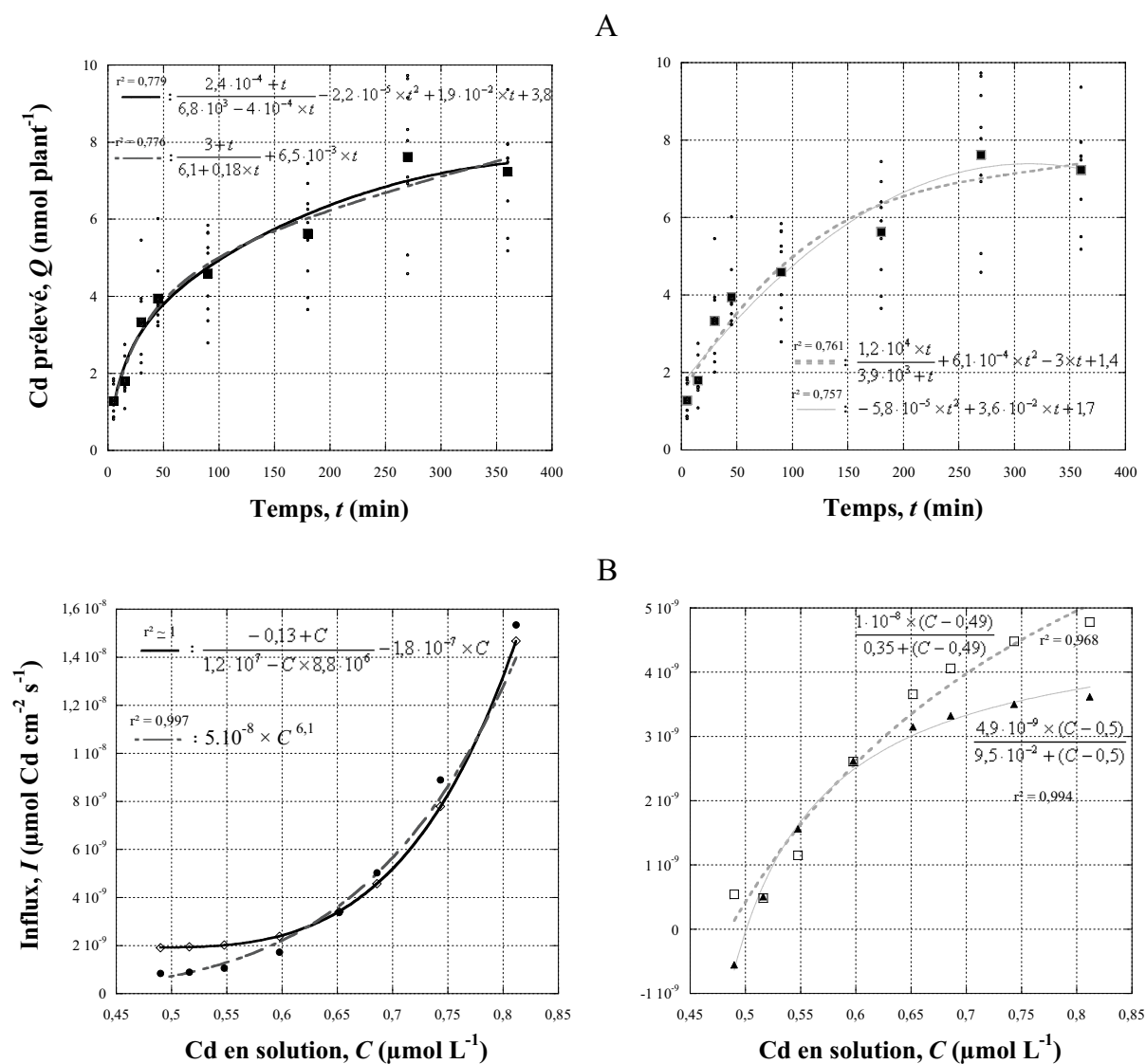


Figure 5-22. A. Ajustements réalisés sur les données de prélèvement symplasmique au cours du temps, obtenus durant l'essai 2. Les mêmes données ont été représentées sur deux graphiques pour plus de lisibilité. B. Influx obtenus par dérivation des fonctions de la figure A.



## 5. Conclusion partielle

Nous avons distingué trois compartiments racinaires de Cd au cours de la cinétique d'absorption :

- 1) Le Cd adsorbé réversiblement (ou échangeable) augmente rapidement dès que la racine est placée en présence de Cd puis il se stabilise. Il peut être désorbé facilement grâce à un ion échangeur. Nous avons essayé de s'affranchir de ces quantités qui risquent de surestimer l'absorption mesurée sur des temps courts.
- 2) Au cours de l'expérience, le Cd adsorbé irréversiblement (ou apoplasmique) diffuse massivement dans l'apoplasme de la racine et se lie fortement aux composés des parois. Nous avons tenté de limiter ces flux qui pourraient être accentués en hydroponie par rapport aux conditions du sol.
- 3) Le Cd symplasmique représente les quantités à l'intérieur des cellules qui ont franchi les membranes plasmiques.

Nous avons mesuré les influx racinaires de Cd en fonction de la concentration selon deux méthodes d'absorption : à concentrations constantes ou par déplétion. Les influx mesurés étaient comparables à ceux trouvés dans la littérature lorsque nous avons ajusté nos données avec l'équation de Michaelis-Menten. Toutefois des résultats plus approfondis nous ont amenés à des conclusions différentes des auteurs cités. Nous avons observé des influx apparents similaires entre les différents écotypes, malgré leurs aptitudes contrastées à accumuler le Cd. Lorsque nous avons réalisé des déplétions à partir de plusieurs concentrations initiales, nous avons constaté des valeurs d'influx différentes en fonction des concentrations en solution. Ceci nous a conduit à l'hypothèse que les quantités mesurées dans nos plants résulteraient à la fois d'une absorption dans le symplasma et plus majoritairement d'une adsorption dans le compartiment apoplasmique. Nos expériences n'ont pas pu de ce fait confirmer l'hypothèse d'un transporteur facilité pour le Cd.

Nous avons distingué trois phases durant l'absorption par déplétion. Durant les premières minutes (25 à 45 min selon la concentration initiale) la première phase correspond principalement à des phénomènes de sorption sur la surface de la racine accompagnée d'un flux apoplasmique. Ceci a été vérifié en déterminant l'évolution des quantités de Cd entrant dans les différents compartiments au cours du temps durant la désorption. Nous avons calculé des influx au cours d'une seconde phase, caractérisée principalement par une entrée de Cd dans les cellules et dans l'apoplasme. Puis une troisième phase de plateau caractérisée par un ralentissement de l'absorption. L'évolution des quantités de Cd au cours du temps, dans les compartiments symplasmique et apoplasmique a montré que ce dernier était en moyenne 55 % supérieur au premier. Les deux méthodes utilisées ne permettent pas de discerner l'influx symplasmique de l'influx apparent mesuré, ni de décrire leurs évolutions en fonction de la concentration.

Les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire obtenus ont conduit à sous-estimer davantage les prélèvements de Cd par le tabouret. Les conditions de mesure de ces paramètres sont probablement à revoir. Ainsi, la méthode d'absorption à concentrations constantes devrait être réalisée sans saturation préalable. Par ailleurs, la méthode de déplétion a permis d'évaluer la fonction d'absorption décrite par une formalisation linéaire et puissance, dans des conditions plus adaptées. Cette formalisation sera testée dans le dernier chapitre.

Dans des conditions expérimentales similaires, nous avons observé une forte variabilité des influx d'un individu à l'autre. Cette variabilité démontre que les différences importantes de prélèvement entre individu (chapitre 2) ont une origine génétique conduisant à une fluctuation d'adsorption apoplasmique (sous l'effet d'une composition différente des racines) et/ou une fluctuation d'absorption symplasmique (sous l'effet de régulations physiologiques et de la répartition des transporteurs membranaires). Nous avons quantifié cette variabilité, mais l'intégrer dans un modèle nécessite encore une compréhension importante du système.

Nos prétraitements de saturation n'ont pas permis d'atteindre le but escompté, à savoir mettre en évidence le rôle d'adsorption du compartiment apoplasmique. Les recherches futures devraient s'appliquer à étudier la capacité d'adsorption de l'apoplasme isolé au cours du temps et en fonction de la concentration. De même, la capacité d'échange racinaire (du Cd échangeable vers la solution) devra être mieux caractérisée au cours du temps. L'utilisation de protoplastes (cellules sans leur paroi) permettrait d'étudier l'absorption symplasmique, et l'éventuelle implication de transporteurs membranaires. Le rôle de la voie apoplasmique dans le prélèvement et la translocation du Cd reste encore à déterminer.

# Chapitre 6. Influence de la fonction d'absorption sur le calcul du prélèvement

## 1. Introduction

Pour évaluer le prélèvement d'un végétal, il est indispensable de bien décrire la demande de la plante au niveau de la surface racinaire. Les connaissances sur les transporteurs membranaires et les propriétés d'adsorption des parois cellulaires se sont améliorées ces dernières années en particulier pour les éléments en trace (Clemens, 2001 ; Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999). Cette complexité n'a jamais été intégrée dans un modèle synthétisant l'ensemble de ces comportements. Les fonctions d'absorption sont donc décrites par une relation empirique liant la concentration en solution au voisinage racinaire au taux de prélèvement ou influx dans la racine. Cette relation qualifiée d'isotherme d'absorption présente généralement une forme de type Michaelis-Menten, mais peut aussi être modélisée par d'autres fonctions plus complexes dans certains cas. Dans les chapitres précédents, nous avons par ailleurs décrit les isothermes d'absorption par des fonctions linéaires ou bien de type puissance. Le modèle UPTAKE (Oates et Barber, 1984) constitue une approche intéressante pour comprendre les mécanismes impliqués dans le prélèvement d'éléments minéraux mais il ne permet pas d'utiliser de tels formalismes, et nous n'avons pas accès aux sources du programme informatique. Ainsi nous nous sommes proposé de faire évoluer ce modèle en y intégrant la possibilité de décrire l'absorption par la fonction voulue.

Nous verrons dans un premier temps comment le modèle UPTAKE est construit ainsi que les méthodes de résolution des équations différentielles partielles de ce modèle. Nous développerons notre propre modèle sur cette base. Le modèle obtenu sera validé sur plusieurs jeux de données en comparant les prélèvements calculés par ce dernier à ceux simulés par le modèle UPTAKE. Par la suite, nous modifierons le formalisme de la fonction d'absorption pour simuler de nouveau les prélèvements du maïs et du tabouret.

## 2. Construction du modèle

Le prélèvement d'éléments dans la solution du sol par les racines peut être décrit par la description de l'absorption racinaire combinée au passage des éléments du sol à la solution. Les racines n'occupant qu'un volume de sol limité, les nutriments doivent donc aller à leur rencontre. Deux mécanismes sont importants dans le transport des éléments en solution, le flux de masse et la diffusion (Barber, 1962). Dans le modèle UPTAKE, la description du système racinaire prend en compte essentiellement la vitesse d'augmentation de la surface racinaire, ainsi que les propriétés d'absorption de la racine en fonction de la concentration de l'élément en solution. Pour construire le modèle il advient de définir un certain nombre d'hypothèses sur les mécanismes considérés et les conditions de leur validité.

## 2.1. Hypothèses de modélisation

- Le milieu est homogène et isotrope.

Cette condition permet de définir un système où les processus sont identiques dans tout l'espace, sinon le problème devient multidimensionnel et impose de définir les processus dans l'espace.

- Les conditions d'humidité (du sol) sont maintenues à l'état stationnaire (ou moyennées pour estimer l'humidité moyenne) et proches de la capacité au champ.

Cette condition restrictive simplifie également nettement le problème en assurant une indépendance entre les coefficients de l'équation du transport et l'état d'humidité du milieu.

- Le prélèvement de nutriment a lieu uniquement à la surface racinaire.

Il n'y a pas intervention de la microflore. Les nutriments ne sont donc pas absorbés ou produits dans le voisinage racinaire. Cette restriction peut être supprimée en intégrant un terme de déplétion, dû à la microflore, dans l'équation de transport.

- Le taux de prélèvement peut être décrit par une équation de Michaelis-Menten.

Des fonctions de type Michaelis-Menten ajustent le prélèvement racinaire en fonction de la concentration en solution. Toutefois ceci ne constitue qu'une estimation empirique d'un mécanisme complexe dépendant de nombreuses conditions.

- Le transport des éléments a lieu uniquement par diffusion (en solution) et convection et ceci en direction radiale seulement.

Deux suppositions sont à considérer ici : l'interception racinaire est négligée et d'autre part les flux diffusifs et convectifs latéraux sont également négligés.

- Les propriétés de diffusion, de convection et les caractéristiques d'absorption racinaire sont toutes indépendantes les unes des autres.

Cette hypothèse n'est pas non plus nécessaire, mais permet d'éviter de chercher la relation entre la diffusion et le flux de masse ou entre les paramètres cinétiques et le flux de masse. En effet, le prélèvement est légèrement affecté par le flux de masse, en fonction des plantes, de la composition de la solution et de l'élément étudié (Nye et Marriott, 1969).

- Le système racinaire est assimilé à un cylindre lisse avec un rayon constant et sans poils absorbants.

Cette affirmation définit le système tel qu'il est envisagé pour la modélisation. Les poils absorbants peuvent être pris en compte dans le modèle, mais leur effet est considéré comme négligeable lorsqu'ils sont diffus (Barber et Cushman, 1981).

- Le coefficient de diffusion de l'élément dans l'eau et le pouvoir tampon du sol pour l'élément sont deux grandeurs indépendantes de la concentration en solution.

Cette hypothèse est indispensable pour pouvoir linéariser l'équation de transport de nutriment. Mathématiquement le pouvoir tampon et le coefficient de diffusion sont liés à la concentration en solution, toutefois  $D$  et  $b$  varient moins fortement que  $C_{li}$  et peuvent être considérés comme indépendants de cette grandeur (Barber et Cushman, 1981).

- Les paramètres de la cinétique d'absorption ne changent pas au cours du temps de la culture.

Les variations des paramètres cinétiques au cours du temps ont été considérées comme négligeables (Edwards et Barber, 1976 ; Warncke et Barber, 1974). De plus, des expérimentations pour les mesurer sont assez lourdes à mettre en œuvre.

- Le flux de masse n'est pas influencé par la concentration en solution de l'élément considéré.

Ceci est surtout valable dans les conditions au champ et évite de coupler la concentration de l'élément aux variations d'humidité dans le sol.

## 2.2. Calculs et résolutions de l'équation de transport

Dans le paragraphe qui suit, nous avons repris le développement des équations aux dérivées partielles et leur résolution des travaux de Barber et Cushman (1981) qui décrivent le modèle UPTAKE. Le modèle a été entièrement reprogrammé sous le logiciel MATLAB<sup>®</sup> à partir des considérations explicitées ci-après et sera désigné sous le nom de RUSE (Version 1.0) pour « Root Uptake of Soil Elements » (prélèvement racinaire d'éléments du sol).

### 2.2.1. Formalisation du transport de nutriments au voisinage racinaire

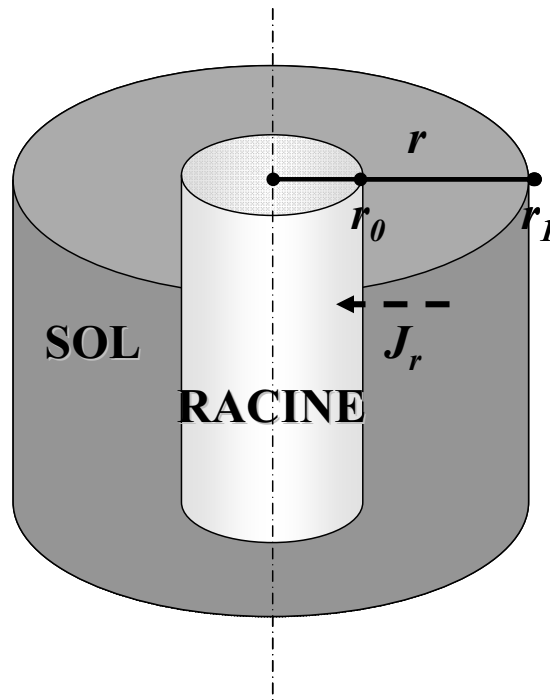
L'équation de continuité (chapitre 1 ; Eq. 1.3) peut être généralisée au système tel qu'il a été défini, c'est-à-dire où le flux est perpendiculaire à un cylindre (représentant la racine). L'équation obtenue en coordonnées cylindrique est la suivante :

$$\text{Eq 6.1 : } \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial(rJ_r)}{\partial r} + \sigma,$$

Où  $J_r$  est le flux diffusif radial de soluté par unité de masse rapporté au temps et à la surface,  $r$  est la distance radiale mesurée depuis l'axe du 'cylindre racinaire',  $C$  est la concentration totale de soluté diffusant dans le volume par unité de masse par volume et  $\sigma$  est la masse de soluté produit par unité de temps et de volume (Figure 6-1).

En négligeant les effets de la dispersion, le flux  $J_r$  peut être défini comme la somme du flux diffusif (première loi de Fick) et du flux convectif :

$$\text{Eq 6.2 : } J_r = D_e \frac{\partial C}{\partial r} + \frac{r_0 v_0}{r} C_l$$



**Figure 6-1. Représentation du système sol-racine**

Où  $C_l$  est la concentration dans la solution du sol,  $D_e$  le coefficient de diffusion apparente,  $r_0$  le rayon racinaire moyen et  $v_0$  le flux d'eau au niveau de  $r_0$ . Le pouvoir tampon  $b$ , est défini par  $b = dC / dC_l$ . Par hypothèse nous avons considéré  $\sigma = 0$ . En remplaçant la valeur de  $J_r$  donnée par Eq 6.2 dans l'Eq 6.1, et en remplaçant  $dC$  par  $b \times dC_l$ , on obtient la relation (donnée par Nye et Marriott, 1969) :

$$\text{Eq 6.3 : } \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r D_e \frac{\partial C_l}{\partial r} + \frac{v_0 r_0}{b} C_l \right) = \frac{\partial C_l}{\partial t}$$

### 2.2.2. Conditions initiales et conditions aux limites

Aux conditions initiales, la distribution de l'élément est définie dans le voisinage racinaire par  $C_l = C_{li}$  pour le temps initial  $t = 0$ .

Deux conditions aux limites sont définies, la condition limite 'interne' au niveau  $r = r_0$  et la condition limite 'externe' au niveau  $r = r_1$ .

La condition limite interne peut être définie sous deux formes. Lorsque la concentration au voisinage racinaire devient suffisamment faible, la racine n'absorbe plus. Ainsi, pour formaliser ce phénomène la condition limite peut intégrer un facteur  $C_{min}$  qui correspond à la concentration en dessous de laquelle la plante n'absorbe plus, ou bien alors définir un efflux  $E$ . Nous avons envisagé cette deuxième possibilité. Ainsi lorsque le taux de prélèvement diminue jusqu'à la valeur du taux d'efflux, l'élément n'est pas absorbé (Claassen et Barber, 1976). La fonction d'absorption est classiquement décrite par une équation de Michaelis-Menten à laquelle l'efflux est soustrait (Nye et Marriott, 1969) :

$$\text{Eq 6.4 : } J_r = \frac{J_{\max} C_l}{K_m + C_l} - E \quad \text{pour } r = r_0, \quad t > 0$$

La combinaison de l'Eq 6.2 et de l'Eq 6.4 permet alors d'écrire l'équation à la limite interne sous la forme :

$$\text{Eq 6.5 : } \frac{J_{\max} C_l}{K_m + C_l} - E = D_e b \frac{\partial C_l}{\partial r} + v_0 C_l \quad \text{pour } r = r_0, \quad t > 0$$

La condition limite externe est définie en  $r_1$ , et dépend donc de la densité racinaire (chapitre 2). Elle peut prendre différentes formes, (1) le cas le plus simple est considérer aucune compétition racinaire, avec  $C_l$  qui reste constante en  $r_1$ . Toutefois cette condition semble valable uniquement pour des ions relativement peu mobiles, (2) dans notre cas nous considérerons une compétition racinaire pour le soluté mais pas pour l'eau. Il faut alors imaginer un flux nul au niveau de  $r_1$ , soit :

$$\text{Eq 6.6 : } D_e b \frac{\partial C_l}{\partial r} + v_1 C_l = 0 \quad \text{pour } r = r_1, \quad t > 0$$

Le problème de transport de soluté sera donc traité grâce à l'Eq 6.3 accompagné des deux équations aux limites Eq 6.5 et Eq 6.6, avec comme conditions initiales  $C_l = C_{li}$  à  $t = 0$ .

### 2.2.3. Techniques mathématiques de résolution de l'équation de transport

Bien que l'Eq 6.3 soit linéaire, il n'existe pas de solution analytique au modèle étant donné que l'équation de la condition limite interne (Eq 6.4) n'est pas linéaire.

La forme développée de l'Eq 6.3 s'écrit :

$$\text{Eq 6.7 : } D_e \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C_l}{\partial r} \times \left( D_e + \frac{v_0 r_0}{b} \right) = \frac{\partial C_l}{\partial t}$$

La méthode de Crank-Nicholson (Annexe III) a été utilisée pour différentier l'Eq 6.7 comme préconisé par Nye et Marriott (1969). La forme différentiée s'écrit (Annexe IV) :

$$\text{Eq 6.8 : } -S1_j \cdot C_{j-1}^{n+1} + D1 \cdot C_j^{n+1} - S2_j \cdot C_{j+1}^{n+1} = S1_j \cdot C_{j-1}^n + D2 \cdot C_j^n + S2_j \cdot C_{j+1}^n$$

$$\text{avec } S = \frac{\Delta r}{2} \left( 1 + \frac{v_0 r_0}{D_e b} \right) ;$$

$$S1_j = \frac{-S}{r_j} + 1 \quad \text{et} \quad S2_j = \frac{S}{r_j} + 1 ;$$

$$D1 = 2 \left[ \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} + 1 \right] \quad \text{et} \quad D2 = 2 \left[ \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} - 1 \right]$$

où l'indice  $j$  correspond à l'index spatial et l'exposant  $n$  à l'index temporel, et  $\Delta t$  et  $\Delta r$  sont respectivement les pas de temps et d'espace du schéma de discrétisation (pas constants).

Le schéma de Crank-Nicholson est dit implicite précis à l'ordre deux et présente une stabilité linéaire inconditionnelle. Or, pour maintenir ce schéma, il est nécessaire de définir des conditions aux limites précises à l'ordre deux. Ainsi Barber et Cushman (1981) ont défini deux nœuds supplémentaires à l'extérieur du système, l'un à l'intérieur de la racine (nœud 1), l'autre à l'extérieur du cylindre après le nœud  $r_I$  (nœud  $k+1$ ). Le schéma du second ordre  $\frac{\partial C_j}{\partial r} = \frac{C_{j+1}^{n+1} - C_{j-1}^{n+1}}{2\Delta r}$  appliqué à la condition de limite interne (Eq 6.5) permet d'écrire :

$$\text{Eq 6.9 : } D_e b \frac{C_3^{n+1} - C_1^{n+1}}{2\Delta r} = \frac{J_{\max} C_2^{n+1}}{K_m + C_2^{n+1}} - E - v_0 C_2^{n+1}$$

ou bien

$$\text{Eq 6.10 : } C_1^{n+1} = C_3^{n+1} - S3 \left[ \frac{J_{\max} C_2^{n+1}}{K_m + C_2^{n+1}} - E - v_0 C_2^{n+1} \right]$$

$$\text{avec } S3 = \frac{2\Delta r}{D_e b}$$

De même la différentiation de la condition aux limites externes (Eq 6.6) s'écrit :

$$\text{Eq 6.11 : } D_e b \frac{C_{k+1}^{n+1} - C_{k-1}^{n+1}}{2\Delta r} = -v_1 C_k^{n+1}$$

En posant  $v_1 = \frac{v_0 r_0}{r_1}$ , Eq 6.11 donne :

$$\text{Eq 6.12 : } C_{k+1}^{n+1} = C_{k-1}^{n+1} - A1 \cdot C_k^{n+1}$$

où  $A1 = \frac{2 \Delta r v_0 r_0}{D_e b r_1}$ .

En substituant l'Eq 6.10 dans l'Eq 6.8 on obtient pour le nœud 2 :

$$\text{Eq 6.13 : } -S1_2 \left[ C_3^{n+1} - S3 \left( \frac{J_{\max} C_2^{n+1}}{K_m + C_2^{n+1}} - E - v_0 C_2^{n+1} \right) \right] + D1 \cdot C_2^{n+1} - S2_2 \cdot C_3^{n+1} = S1_2 \cdot C_1^n + D2 \cdot C_2^n + S2_2 \cdot C_3^n$$

et de même pour le dernier nœud ( $k$ ) en substituant l'Eq 6.12 dans l'Eq 6.8 :

$$-S1_k \cdot C_{k-1}^{n+1} + D1 \cdot C_k^{n+1} - S2_k \cdot \left( C_{k-1}^{n+1} - A1 \cdot C_k^{n+1} \right) = S1_k \cdot C_{k-1}^n + D2 \cdot C_k^n + S2_k \cdot C_{k+1}^n$$



soit après simplification,

$$\text{Eq 6.14 : } -2 \cdot C_{k-1}^{n+1} + (D1 + S2_k \cdot A1) \cdot C_k^{n+1} = S1_k \cdot C_{k-1}^n + D2 \cdot C_k^n + S2_k \cdot C_{k+1}^n.$$

Le système complet d'équation peut alors être écrit à partir des équations Eq 6.8, Eq 6.13 et Eq 6.14 :

Eq 6.15 :

$$\left\{ \begin{array}{l} f_2(\bar{C}^{n+1}) = -S1_2 \left[ C_3^{n+1} - S3 \left( \frac{J_{\max} C_2^{n+1}}{K_m + C_2^{n+1}} - E - v_0 C_2^{n+1} \right) \right] + D1 \cdot C_2^{n+1} - S2_2 \cdot C_3^{n+1} - S1_2 \cdot C_1^n - D2 \cdot C_2^n - S2_2 \cdot C_3^n = 0 \\ f_j(\bar{C}^{n+1}) \Big|_{j \neq 1, 2, k, k+1} = -S1_j \cdot C_{j-1}^{n+1} + D1 \cdot C_j^{n+1} - S2_j \cdot C_{j+1}^{n+1} - S1_j \cdot C_{j-1}^n - D2 \cdot C_j^n - S2_j \cdot C_{j+1}^n = 0 \\ f_k(\bar{C}^{n+1}) = -2 \cdot C_{k-1}^{n+1} + (D1 + S2_k \cdot A1) \cdot C_k^{n+1} - S1_k \cdot C_{k-1}^n - D2 \cdot C_k^n - S2_k \cdot C_{k+1}^n = 0 \end{array} \right.$$

Dans ces équations, le terme  $\bar{C}^{n+1}$  désigne pour le temps  $n+1$ , l'ensemble des valeurs de concentration dans le profil, c'est-à-dire un vecteur dont chacun des éléments est une concentration pour chacun des nœuds.

La première équation du système (Eq 6.15) n'est pas linéaire, c'est pourquoi Barber et Cushman (1981) ont résolu ce système grâce au schéma itératif de Newton-Raphson (Annexe V) :

$$(\bar{X}^{n+1})_{i+1} = -\frac{\bar{f}(\bar{C}^{n+1})_i}{J(\bar{C}^{n+1})_i}$$

$$\text{et } (\bar{C}^{n+1})_{i+1} = (\bar{C}^{n+1})_i + (\bar{X}^{n+1})_{i+1}$$

Avec  $\bar{f}(\bar{C}) = 0$  le système non linéaire défini par Eq 6.15,  $J(\bar{C})$  le jacobien de l'ensemble des fonctions  $\bar{f}$  calculé pour  $\bar{C}$ , et  $i$  l'indice d'itération du calcul de Newton-Raphson. Le modèle approximera la valeur de  $\bar{C}^{n+1}$  tant que la condition  $\|\bar{C}_{i+1}^{n+1} - \bar{C}_i^{n+1}\| > \xi$  avec  $\xi$  faible ne sera pas respectée. Le calcul matriciel sous MATLAB est facilité par la structure tridiagonale de la matrice jacobienne.

La matrice des dérivées partielles, c'est-à-dire le jacobien, va finalement prendre une forme simple puisque la seule fonction non linéaire est la première équation du système soit  $f_2(\bar{C}^{n+1}) = 0$ , le reste des valeurs seront des constantes :

$$J = \begin{bmatrix} Y & -2 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -S1_3 & D1 & -S2_3 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -S1_4 & D1 & -S1_4 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & -S1_{k-2} & D1 & -S2_{k-2} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & -S1_{k-1} & D1 & -S2_{k-1} \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & -2 & D1 + S2_k + A1 \end{bmatrix}$$

$$\text{où } Y = S1_2 S3 \left[ \frac{-J_{\max} (C_2^{n+1})_i}{K_m + (C_2^{n+1})_i^2} + \frac{J_{\max}}{K_m + (C_2^{n+1})_i} - v_0 \right] + D1.$$

#### 2.2.4. Calcul du prélèvement du soluté dans la racine

A ce niveau l'essentiel du calcul est réalisé, il correspond à la valeur de la concentration du soluté en solution dans le profil racinaire, c'est-à-dire entre  $r_0$  et  $r_l$  et ceci pour chaque pas de temps jusqu'au temps final. Le calcul du prélèvement se fera uniquement à partir de la concentration en  $r_0$  exprimée en fonction du temps (Eq 6.10). L'influx racinaire à la surface  $J_r(r_0, s)$  a été ajusté à l'aide de la fonctionnalité *spline* de MATLAB<sup>®</sup> qui ajuste la courbe à partir de fonction continue polynomiale par morceaux. Le calcul du prélèvement  $P$  est réalisé par intégration de cette courbe en fonction de la croissance racinaire de la plante. Ainsi le prélèvement de soluté pour un système racinaire qui ne croit pas (ou très peu) durant un intervalle de temps peut s'exprimer par :

$$\text{Eq 6.16 : } P = 2\pi r_0 L_0 \int_0^{t_f} J_r(r_0, s) \cdot ds$$

où  $L_0$  est la longueur de racine constante durant l'intervalle de temps et  $t_f$  est le temps final du prélèvement.

La fonction de croissance racinaire  $\lambda$  a été définie par une fonction exponentielle du temps pour nos deux plantes, maïs et tabouret calaminaire. Cette fonction s'écrit  $\lambda(t) = L_0 e^{kt}$  avec  $\lambda(0) = L_0$  et  $\lambda(t_f) = L$ . Le calcul du prélèvement pour un système racinaire en croissance s'exprime d'après Cushman (1979) par :

$$\text{Eq 6.17 : } P = 2\pi r_0 L_0 \int_0^{t_f} J_r(r_0, s) \cdot ds + 2\pi r_0 \int_0^{t_f} \left( \frac{d\lambda}{dt} \int_0^{t_f-t} J_r(r_0, s) \cdot ds \right) dt$$

### 2.3. Modification de la fonction d'absorption

Dans les chapitres 4 et 5 les meilleurs ajustements de certaines isothermes d'absorption racinaire ont été obtenus grâce à des régressions linéaires ou des fonctions de type puissance. Pour tester ces formalismes nous avons modifié les équations à la limite interne.

## 2.3.1. Fonction linéaire

L'Eq 6.4 s'écrit alors  $J_r = \alpha \cdot C_l + \beta$  pour  $r = r_0$ ,  $t > 0$  où  $\alpha$  et  $\beta$  sont les coefficients de la régression. La condition limite interne (Eq 6.5) devient :

$$\alpha \cdot C_l + \beta = D_e b \frac{\partial C_l}{\partial r} + v_0 C_l \quad \text{pour } r = r_0, \quad t > 0$$

L'Eq 6.10 donne :  $C_1^{n+1} = C_3^{n+1} - S3[\alpha \cdot C_2^{n+1} + \beta - v_0 C_2^{n+1}]$ . La première fonction du système (Eq 6.15) doit être modifiée également et s'écrit :

$$f_2(\bar{C}^{n+1}) = -S1_2[C_3^{n+1} - S3(\alpha \cdot C_2^{n+1} + \beta - v_0 C_2^{n+1})] + D1 \cdot C_2^{n+1} - S2_2 \cdot C_3^{n+1} - S1_2 \cdot C_1^n - D2 \cdot C_2^n - S2_2 \cdot C_3^n = 0.$$

Ainsi la dérivée partielle pour le calcul du jacobien est de la forme :

$$\frac{\partial f_2}{\partial (C_2^{n+1})} = \alpha \cdot S1_2 S3 - S1_2 S3 \cdot v_0 + D1 = S1_2 S3(\alpha - v_0) + D1 = Y$$

## 2.3.2. Fonction puissance

De la même manière L'Eq 6.4 s'écrit  $J_r = \alpha \cdot C_l^\beta$  pour  $r = r_0$ ,  $t > 0$  où  $\alpha$  et  $\beta$  sont les coefficients de la régression. La condition limite interne (Eq 6.5) devient :

$$\alpha \cdot C_l^\beta = D_e b \frac{\partial C_l}{\partial r} + v_0 C_l \quad \text{pour } r = r_0, \quad t > 0$$

L'Eq 6.10 donne :  $C_1^{n+1} = C_3^{n+1} - S3[\alpha \cdot (C_2^{n+1})^\beta - v_0 C_2^{n+1}]$ . La première fonction du système (Eq 6.15) s'écrit :

$$f_2(\bar{C}^{n+1}) = -S1_2[C_3^{n+1} - S3(\alpha \cdot (C_2^{n+1})^\beta - v_0 C_2^{n+1})] + D1 \cdot C_2^{n+1} - S2_2 \cdot C_3^{n+1} - S1_2 \cdot C_1^n - D2 \cdot C_2^n - S2_2 \cdot C_3^n = 0$$

et la dérivée partielle pour le calcul du jacobien est de la forme :

$$\frac{\partial f_2}{\partial (C_2^{n+1})} = S1_2 S3[\alpha \beta (C_2^{n+1})^{\beta-1} - v_0] + D1 = Y.$$

### 2.3.3. Fonction logarithmique<sup>4</sup>

Les ajustements des isothermes d'absorption du Cd par le maïs du chapitre 4 fournissant les coefficients de détermination les plus élevés sont de la forme :  $\log I = \alpha \log C - \beta$  qui peut s'écrire également  $I = \frac{C^\alpha}{10^\beta}$ .

L'Eq 6.4 s'écrit  $J_r = \frac{C_l^\alpha}{10^\beta}$  pour  $r = r_0$ ,  $t > 0$  où  $\alpha$  et  $\beta$  sont les coefficients de la régression. La condition limite interne (Eq 6.5) devient :

$$\frac{C_l^\alpha}{10^\beta} = D_e b \frac{\partial C_l}{\partial r} + v_0 C_l \quad \text{pour } r = r_0, \quad t > 0$$

L'Eq 6.10 donne :  $C_1^{n+1} = C_3^{n+1} - S3 \left[ \frac{(C_2^{n+1})^\alpha}{10^\beta} - v_0 C_2^{n+1} \right]$ . La première fonction du système (Eq 6.15) s'écrit alors :

$$f_2(\bar{C}^{n+1}) = -S1_2 \left[ C_3^{n+1} - S3 \left( \frac{(C_2^{n+1})^\alpha}{10^\beta} - v_0 C_2^{n+1} \right) \right] + D1 \cdot C_2^{n+1} - S2_2 \cdot C_3^{n+1} - S1_2 \cdot C_1^n - D2 \cdot C_2^n - S2_2 \cdot C_3^n = 0$$

et la dérivée partielle pour le calcul du jacobien est de la forme :

$$\frac{\partial f_2}{\partial (C_2^{n+1})} = S1_2 S3 \left[ \frac{\alpha (C_2^{n+1})^{\alpha-1}}{10^\beta} - v_0 \right] + D1 = Y.$$

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Validation du modèle

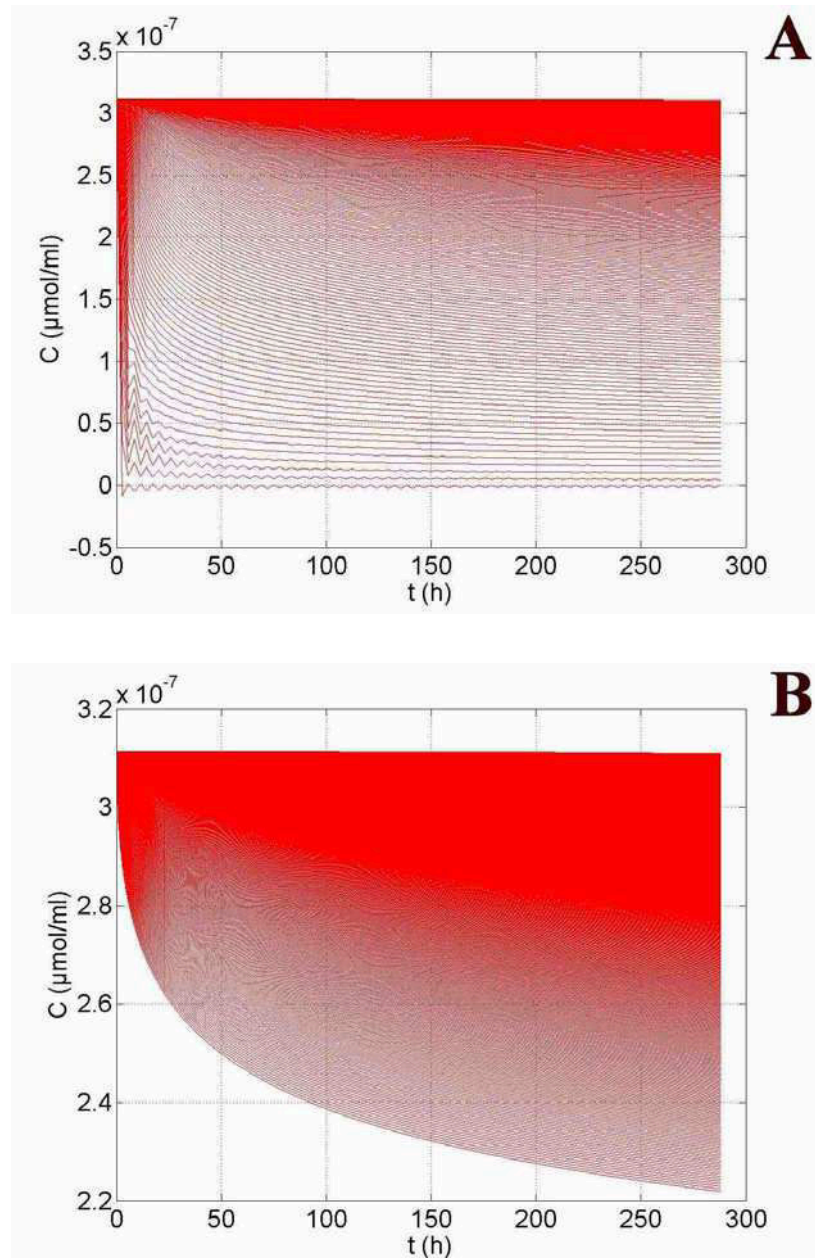
#### 3.1.1. Nombre de pas du maillage

Nous avons déterminé le nombre de pas de temps et d'espace optimaux pour la discrétisation, c'est-à-dire lorsqu'une variation des ces paramètres n'influençait plus le calcul du prélèvement. Le nombre de pas de temps  $N_t$  était beaucoup moins sensible dans le résultat du calcul du prélèvement par rapport au nombre de pas d'espace  $N_x$ .

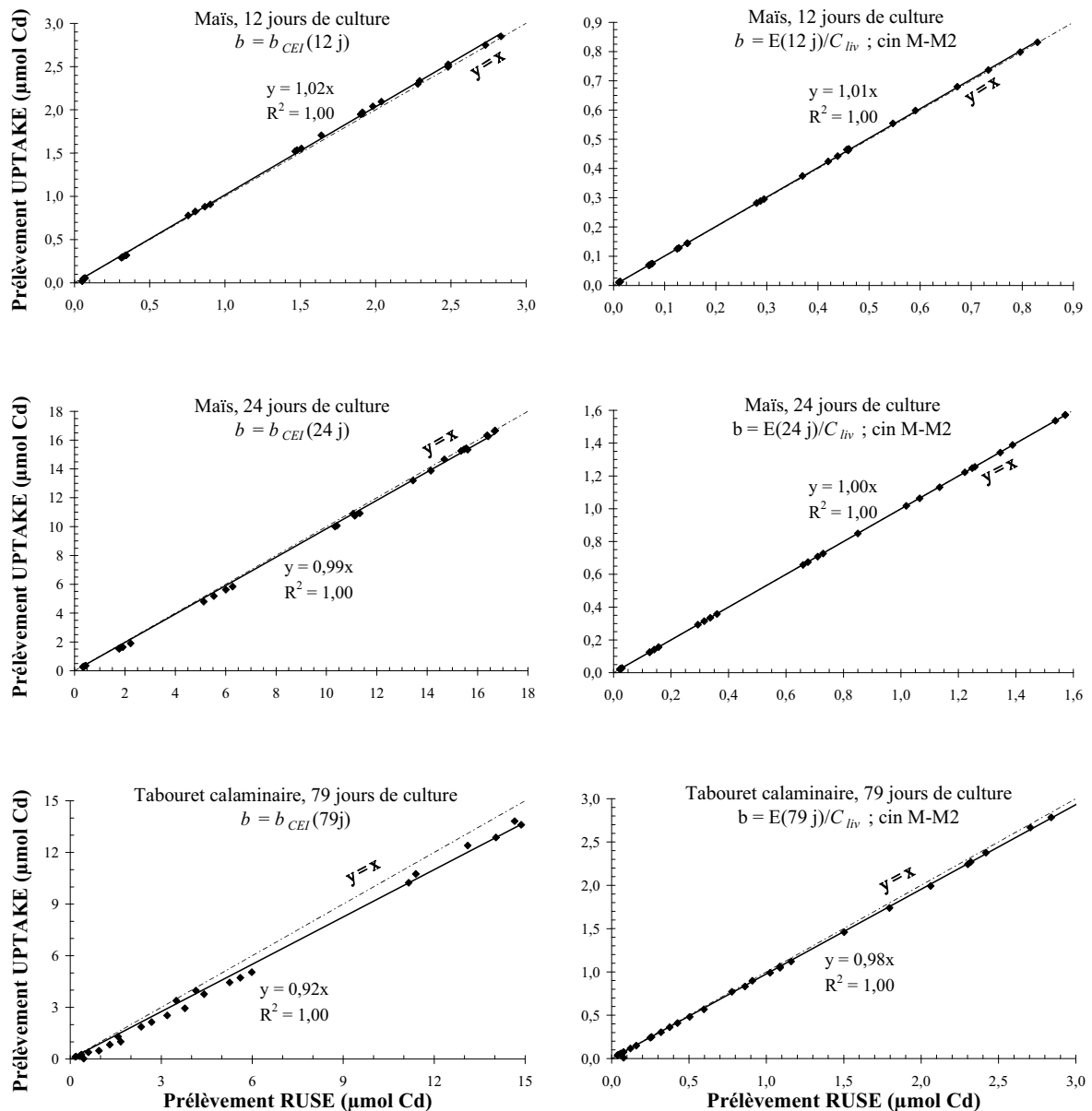
Lorsque le nombre de pas d'espace étaient insuffisants les profils de concentrations au voisinage racinaire présentaient des oscillations (Figure 6-2A) qui s'atténaient lorsque les

<sup>4</sup> Remarque : ce cas est un cas particulier du 2.3.2. ( $\alpha C^\beta$ , avec  $\alpha = 1/10^\beta$ ).

pas de temps augmentaient. Les oscillations apparaissaient lorsque la demande de la plante était forte et l'offre du sol faible. Lorsque  $N_x$  augmentait, le prélèvement augmentait d'autant, jusqu'à ce que les oscillations disparaissent soit pour  $N_x \approx 1500$ . Les valeurs retenues pour que les valeurs de pas d'espace et de temps n'influent plus significativement sur le calcul du prélèvement étaient  $N_x = 3000$  et  $N_t = 100$ . Lors des dernières modélisations réalisées, nous avons augmenté le pouvoir tampon et donc l'offre du sol, et diminué globalement la demande de la plante, ceci a contribué à faire disparaître les oscillations (Figure 6-2B).



**Figure 6-2.** Evolution des concentrations  $C$  au cours du temps  $t$ . Chaque courbe correspond à un pas d'espace (entre  $r_0$  et  $r_1$ ). A. L'illustration montre les oscillations des courbes lorsque le nombre de pas d'espace était trop faible (600). B. les profils sont plus stables pour 3000 pas d'espaces et lorsque l'offre du sol est plus élevée.



**Figure 6-3. Comparaison des simulations entre le modèle RUSE et le modèle UPTAKE pour les deux cultures de maïs et celle du tabouret calaminaire. Différents jeux de données ont été utilisés comprenant différentes valeurs de pouvoir tampon (voir chapitre 3) et différentes valeurs de paramètres cinétiques (dédits des ajustements Michaelis-Menten des cultures H2 et H3 pour le maïs, voir chapitre 4, et dédit de l'essai 5 pour le tabouret calaminaire, voir chapitre 5). Lorsque 'cin M-M2' n'est pas indiqué les paramètres cinétiques sont ceux repris de la littérature (Tableau 2.3).**

### 3.1.2. Comparaison des modèles RUSE et UPTAKE

Bien que le modèle RUSE que nous avons développé ait été programmé sur la base du modèle UPTAKE (Oates et Barber, 1984) décrit par Barber et Cushman (1981), il n'est pas identique en tout point à celui-ci. De ce fait, nous avons validé le calcul du modèle RUSE en le comparant au modèle UPTAKE.

Pour ce faire, nous avons comparé les simulations de chacun des deux modèles sur l'ensemble des traitements et pour les deux plantes. Par ailleurs, nous avons utilisé différentes valeurs de pouvoir tampon,  $b_{CEI}(t)$  et  $E(t)/C_{liv}$  ainsi que différentes valeurs pour les paramètres de Michaelis-Menten,  $I_{max}$  et  $K_m$ , c'est-à-dire les paramètres repris de la littérature pour les deux plantes et ceux mesurés dans les précédents chapitres (cultures H2, H3 et Essai 5).

Le modèle RUSE a fourni des valeurs de prélèvement quasiment semblables à celles calculé par UPTAKE (Figure 6-3) pour différents jeux de données. Il semble donc être valide, et sera utilisé dans la suite de cette étude.

## 3.2. Simulations par le modèle RUSE des prélèvements de Cd des deux plantes

Suite au chapitre 3, nous avons considéré que la méthode des cinétiques d'échange isotopique était la plus apte à décrire le Cd labile, qui permet de calculer le pouvoir tampon ( $b = E(t)/C_{liv}$ ). Dans ce cas, le prélèvement de tabouret calaminaire simulé par le modèle était sous-estimé de 65 % avec les paramètres d'absorption racinaire mesurés par Lombi *et al.* (2001). La simulation réalisée pour le maïs surestimait le prélèvement et suggérait que la demande de la plante déterminée par Mullins et Sommers (1986a) était surestimée.

Dans le chapitre 4, nous avons mesuré des isothermes d'absorption racinaire pour des plants âgés de 12 jours (culture H2) et de 24 jours (culture H3) ainsi que dans des conditions de plus faible compétition ionique (culture H1). Les isothermes ont été modélisées par des fonctions de Michaelis-Menten, pour pouvoir être testées dans le modèle UPTAKE. Ces résultats ont confirmé que la demande du maïs avait été surestimée. Toutefois, ces ajustements n'étaient pas fiables. Les isothermes présentaient une allure linéaire et ont été ajustées par trois types de fonctions : (1) linéaire, (2) puissance et (3) de type logarithmique. Ces fonctions d'ajustement vont pouvoir être testées grâce au modèle RUSE.

Concernant le tabouret calaminaire, nous avons testé, suite à l'essai 5 du chapitre 5, des paramètres cinétiques issus d'un ajustement par la fonction de Michaelis-Menten. Toutefois, un traitement de saturation, avant la détermination de l'isotherme d'absorption des plantes, a probablement conduit à sous-estimer le prélèvement. Nous avons évalué dans ce chapitre les fonctions d'ajustement linéaire et puissance des isothermes de l'essai 3. Ces isothermes ont été obtenues par la méthode de déplétion à partir de  $1 \mu\text{mol Cd L}^{-1}$ , pour l'écotype Viviez non soumis aux traitements de saturation.

### 3.2.1. Maïs

Les différents ajustements des isothermes d'absorption des cultures H1 à H5 ont été obtenus pour différentes fonctions, sans tenir compte du niveau de contamination le plus élevé

(Tableau 6-1). Les résultats des simulations avec ces nouvelles données sont présentés dans le Tableau 3-7.

La Figure 6-4 et le Tableau 3-7 montrent que les prélèvements mesurés et simulés sont très bien corrélés ( $r^2$  compris entre 0,91 et 0,96). Bien que chacune des fonctions d'ajustement étaient appropriées pour modéliser les isothermes d'absorption, la variation maximale des prélèvements calculés selon les trois ajustements s'élève en moyenne à 15 %. Ceci révèle donc la forte sensibilité du modèle quant au choix de cette fonction et confirme l'inadéquation de l'ajustement de Michaelis-Menten pour décrire nos données. Les paramètres des nouvelles fonctions fournissent de meilleures simulations des prélèvements observés que celles réalisées avec les paramètres issus des ajustements de Michaelis-Menten (Tableau 6-3).

**Tableau 6-1. Paramètres des équations d'ajustement des isothermes d'absorption du maïs (voir chapitre 4).**

Paramètres pour les différentes cultures	Fonction d'ajustement			
	Linéaire $\alpha.x + \beta$	Puissance $\alpha.x^\beta$	Logarithmique $x^\alpha / 10^\beta$	
H1	$\alpha$	1,99E-05	1,12E-05	0,949
	$\beta$	0	0,938	4,884
	$r^2$	0,993	0,992	0,995
H2	$\alpha$	9,45E-06	7,33E-06	0,996
	$\beta$	0	1,000	5,108
	$r^2$	0,914	0,975	0,991
H3	$\alpha$	3,67E-06	2,76E-06	0,974
	$\beta$	0	0,987	5,642
	$r^2$	0,982	0,991	0,993
H4	$\alpha$	6,97E-06	2,41E-06	0,921
	$\beta$	0	0,906	5,515
	$r^2$	0,925	0,948	0,963
H5	$\alpha$	1,10E-05	8,18E-06	0,916
	$\beta$	0	0,955	5,336
	$r^2$	0,990	0,988	0,990

Les influx calculés à partir de l'isotherme de la culture H1 entraînent une évaluation du prélèvement du maïs de 12 j par le modèle 60 à 80 % supérieure à celui simulé à partir des influx des cultures H2. Les prélèvements calculés pour le maïs de 24 j à partir de la culture H1 sont en moyenne 2,7 fois sur-estimés, ceci probablement car ces influx, mesurés sur des plants de 12 j, sont inadaptés.

Nous avons également simulé les prélèvements des plantes à partir des influx mesurés dans les cultures H4 et H5, qui ont été ajustés uniquement par des fonctions logarithmiques, car elles fournissaient les  $r^2$  les plus élevés. Les influx de Cd mesurés dans les plants qui n'ont



pas connu de Cd durant la culture (H5) sous-estiment le prélèvement de 18 % pour le maïs âgé de 12 jours et sur-estiment le prélèvement de 64 % pour le maïs de 24 jours.

Les prélèvements simulés avec les paramètres issus des cultures H2 ou H3, respectivement pour les plants de 12 ou 24 j, étaient sous-estimés (33 à 47 %), alors que la culture H1 entraînait une sur-estimation d'un facteur 1,4 pour les plants de 12 jours. La composition de la solution du sol de la culture en pots était probablement moins riche en éléments nutritifs que la solution utilisée dans les cultures H2 et H3, mais plus riche en éléments nutritifs et moins pourvue en chlorures que la solution H1. Ceci suggère qu'il est difficile de mimer les conditions de la culture en pot lors de la mesure de l'absorption en hydroponie, sans compter que certains paramètres pouvant influencer l'absorption restent méconnus.

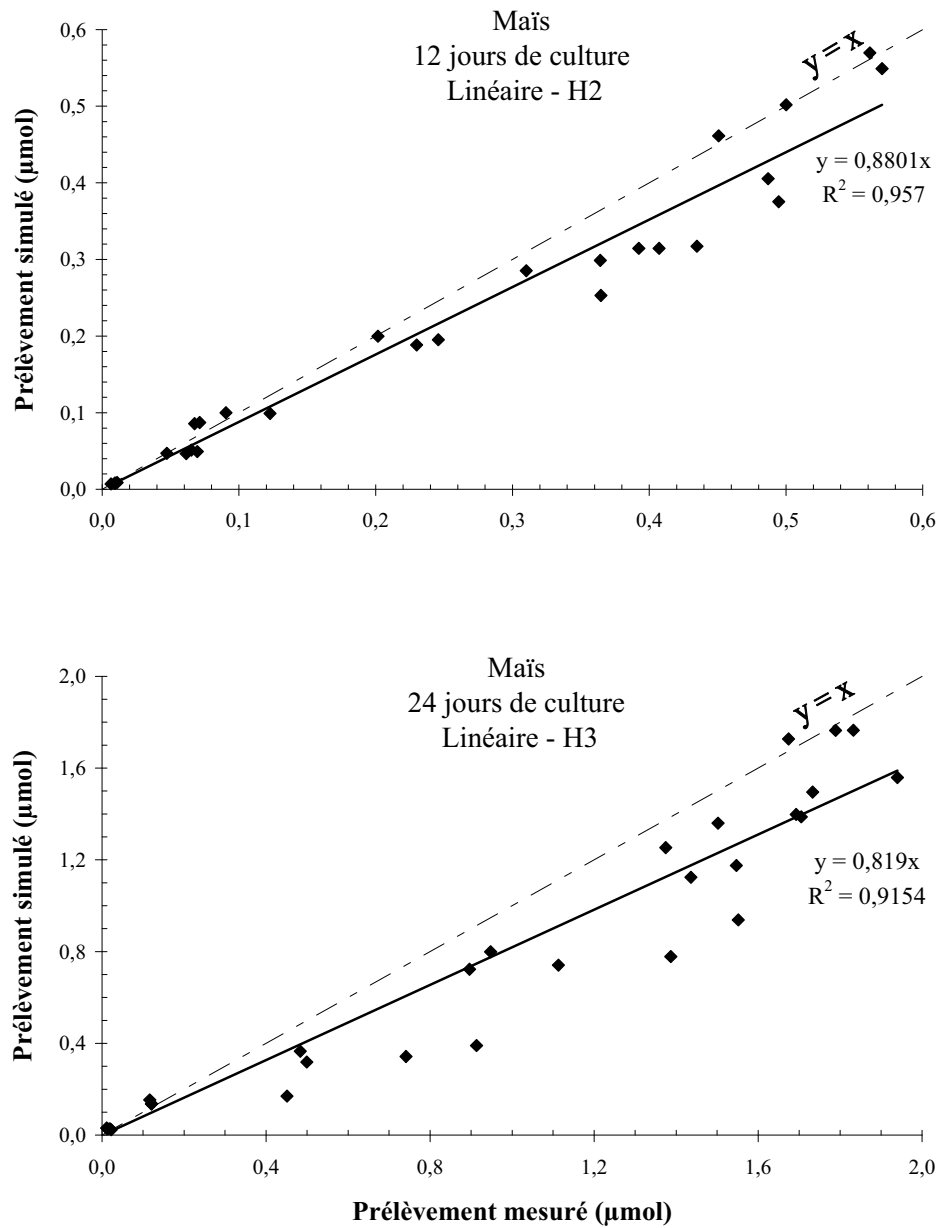
### 3.2.2. Tabouret calaminaire

Les fonctions d'ajustement de l'isotherme d'absorption (issu de l'essai 3), qu'elles soient linéaire ou puissance, fournissent des calculs similaires du prélèvement. Aux basses concentrations (inférieures à  $5 \cdot 10^{-2} \mu\text{mol L}^{-1}$ ), les ajustements sont inadaptés. Les prélèvements dans les traitements T et D1 sont donc mal simulés. Dans le cas de l'ajustement linéaire, les valeurs de prélèvement sont même parfois négatives.

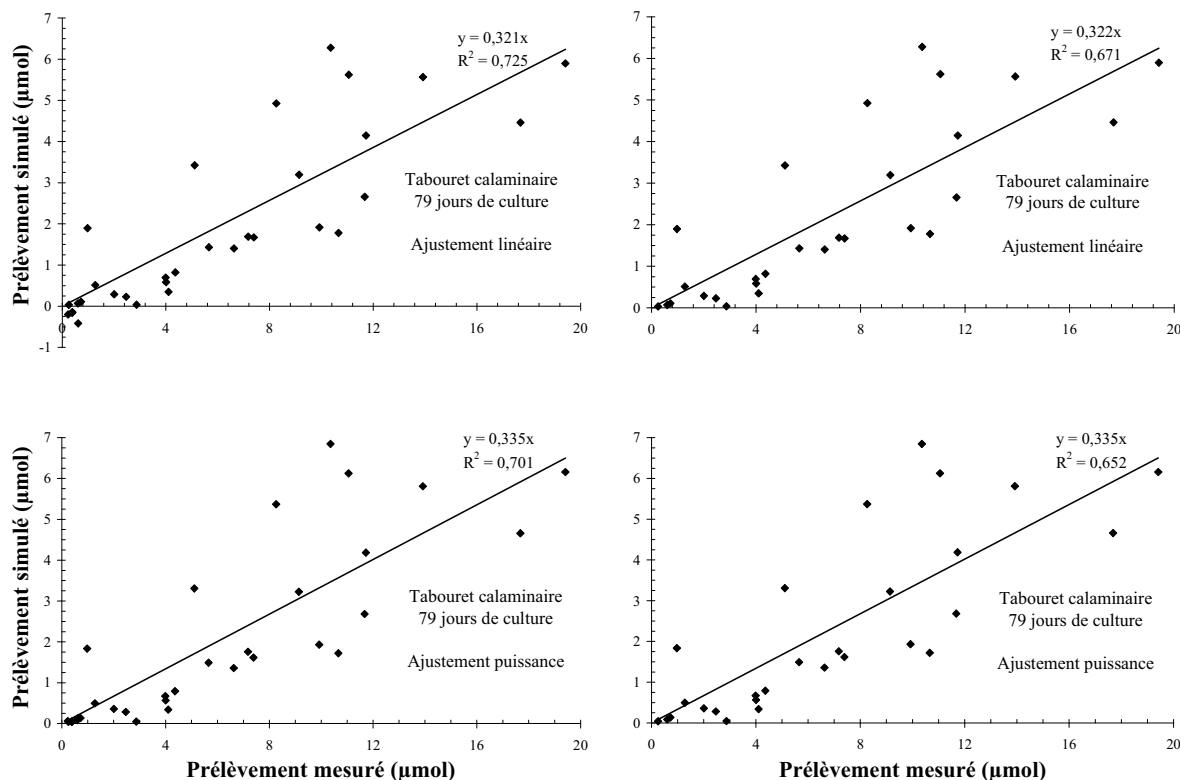
Les prélèvements simulés par le modèle restent sous-estimés de 66 %. L'influx racinaire semble donc encore sous-estimé dans cette expérimentation. Lors de la mesure des paramètres de l'absorption par épuisement (chapitre 5), il semble que durant les premiers instants de la déplétion, la plante se sature et ralentisse son influx au cours du temps, comme nous l'avons déjà suggéré dans le chapitre 5. Cela ne s'est probablement pas produit pour les plants de la culture en terre, en raison de concentrations plus faibles dans la solution du sol. Conceptuellement la déplétion sans saturation semble plus adaptée que la méthode des gammes de concentrations (essai 5) pour simuler les conditions réelles, c'est pourquoi la simulation est améliorée avec ces paramètres d'absorption. Nous rappelons que le prélèvement avait été sous-estimé de 83 % avec les paramètres cinétiques obtenues dans l'essai 5, au cours duquel les plants étaient probablement saturés en Cd (Tableau 6-3).

**Tableau 6-2. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction de la fonction d'ajustement des cinétiques d'absorption des cultures H1 à H5. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination.**

Corrélation entre prélèvements simulé et mesuré		Fonction d'ajustement		
		Linéaire $\alpha \cdot x + \beta$	Puissance $\alpha \cdot x^\beta$	Logarithmique $x^\alpha / 10^\beta$
Maïs 12 j				
H1	$a$	1,4368	1,3538	1,4142
	$r^2$	0,9552	0,9585	0,9579
H2	$a$	0,8801	0,7272	0,7766
	$r^2$	0,957	0,9575	0,9575
H4	$a$	-	-	0,5742
	$r^2$	-	-	0,9607
H5	$a$	-	-	0,8225
	$r^2$	-	-	0,9607
Maïs 24 j				
H1	$a$	2,8075	2,6618	2,7744
	$r^2$	0,906	0,9143	0,9124
H3	$a$	0,819	0,693	0,6371
	$r^2$	0,9154	0,9184	0,921
H4	$a$	-	-	1,1549
	$r^2$	-	-	0,9264
H5	$a$	-	-	1,6425
	$r^2$	-	-	0,9239



**Figure 6-4. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle RUSE et mesurés dans la plante pour des ajustements linéaires des cinétiques d'absorption des cultures H2 et H3.**



**Figure 6-5. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle RUSE et mesurés dans la plante pour deux types d'ajustements : puissance et linéaire. Les ajustements dans les figures de gauche sont réalisés sur l'ensemble des points, alors qu'à droite le premier niveau de contamination (T) a été retiré.**

**Tableau 6-3. Résumé des paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements calculés et mesurés en fonction des paramètres d'absorption racinaire utilisés au cours de ce travail. Le pouvoir tampon utilisé est la valeur  $b = E(t)/C_{liv}$ .**

	Paramètres de l'absorption racinaire utilisés pour la modélisation									
	D'après la littérature $\mu, \tau$	Mesuré pour la population								
		Ajustement Michaelis-Menten	Ajustement Michaelis-Menten				Ajustement Logarithmique			
		H1	H2	H4	H5	H1	H2	H4	H5	H2
Mais 12 j	3,1	2,44	1,29	0,42	0,57	1,41	0,78	0,57	0,82	0,88
		H1	H3	H4	H5	H1	H3	H4	H5	H3
Mais 24 j	3,89	3,73	0,63	0,72	0,98	2,77	0,64	1,15	1,64	0,82
		Gamme de concentrations								Déplétion
Tabouret 79 j	0,35	0,17								0,32

## 4. Conclusion partielle

Nous avons programmé un modèle de prélèvement racinaire d'éléments du sol, RUSE, basé sur la résolution de l'équation de transport décrite par Nye et Marriott (1969) avec les méthodes de résolution proposé par Barber et Cushman (1981). Bien que le calcul du prélèvement par RUSE nécessite d'être optimisé pour limiter les oscillations en fonction du choix des nombres de pas en espace et en temps, il corrèle très bien les prélèvements calculés par UPTAKE. Nous avons testé différentes conditions de limite interne, c'est-à-dire différents formalismes pour décrire la fonction d'absorption. Nous avons montré que lorsque la fonction d'absorption était mal décrite, comme c'est le cas avec la fonction de Michaelis-Menten pour les isothermes d'absorption du maïs, le prélèvement calculé peut être nettement faussé. Par ailleurs lorsque les influx étaient bien modélisés par des fonctions d'ajustement linéaire, puissance ou logarithmique, les prélèvements simulés étaient améliorés. L'étude montre une variation non négligeable du prélèvement calculé selon le choix de la fonction d'ajustement de l'isotherme d'absorption parmi plusieurs fonctions en apparence fiables.

Les prélèvements simulés sous-estiment de 66 % le prélèvement mesuré de Cd par le tabouret calaminaire. Ceci suppose, que les influx de Cd aient été sous-estimés dans les conditions de la déplétion, comme nous l'avons déjà suggéré. La mesure par déplétion semble donc mal adaptée. Par ailleurs, les paramètres estimées par (Lombi *et al.*, 2001) entraînaient également une sous-estimation des prélèvements de 65 %. La mesure des paramètres racinaires peut être envisagée avec la méthode de la gamme de concentration sans saturation préalable.

Concernant le maïs, les prélèvements simulés étaient soit sous-estimés soit sur-estimés si on considère des paramètres d'absorption mesurés dans des solutions nutritives plus ou moins bien pourvues en éléments minéraux. La solution nutritive en apparence la plus proche des conditions simulées a entraîné une sous-estimation de 12 % du prélèvement. Les différentes conditions expérimentales de la mesure des isothermes d'absorption du maïs évaluées dans le chapitre 4, ne permettent donc pas de simuler les conditions semblables à celles de la culture en pot.

La variabilité des mesures de la demande de la plante suggèrent que le mécanisme d'absorption est encore mal compris et qu'il peut expliquer des écarts importants entre les prélèvements simulés et observés. Il reste toutefois à vérifier que les autres processus du modèle sont bien estimés en particulier l'offre du sol.



## Conclusion générale

Les objets de la recherche contemporaine appartiennent à des systèmes complexes. Dans ce treillis d'innombrables objets en interactions, nous n'avons d'autre choix que de théoriser l'ensemble des processus qui nous apparaissent. Expérience et théorie sont devenues inséparables, et ce sont les modèles qui permettent de faire vivre cette relation (Legay, 1996). Pour étudier les transferts d'éléments minéraux du sol dans les plantes, nous avons adopté l'opinion de Jean Maire Legay selon laquelle le modèle est un outil indispensable, et utile à condition qu'il soit bien construit, bien utilisé et surtout que l'on n'en oublie pas les limites. Nous avons ainsi repris une formalisation ancienne des processus de mobilisation-transport qui s'est avérée plusieurs fois réaliste pour certains éléments nutritifs. Dans les rares cas où cette approche a été adaptée au cadmium, elle était sans succès. Cette voie a donc été de nouveau explorée, en concentrant les efforts sur l'évaluation expérimentale précise des paramètres d'entrée du modèle, afin de décider si d'autres mécanismes que ceux formalisés devaient être imaginés.

### Hierarchisation des processus

Le modèle offre la possibilité d'observer l'influence de chacun des paramètres descripteurs d'un processus (paramètres d'entrée) sur le calcul du prélèvement (la sortie). Cette analyse nous a permis de mieux comprendre la hiérarchie des processus. Ils ont été classés de la sensibilité la plus faible à la plus élevée en tenant compte toutefois d'une potentielle variabilité de mesure. Les seuls paramètres d'entrée du modèle qui n'ont montré que peu d'influence sur le calcul sont la vitesse de transfert d'eau dans la plante, qui décrit le flux de masse, et la longueur initiale de racine qui dans notre cas était relativement faible pour les deux plantes. Nous avons mis en évidence la prééminence de la diffusion par rapport au flux de masse dans les mécanismes responsables de l'apport de cadmium à la racine, comme cela a déjà été démontré pour certains nutriments. Nous avons intégré la compétition de l'absorption entre les racines par la mesure de la demi distance moyenne entre deux racines. Les flux sol-racine ont été calculés depuis la surface racinaire jusqu'à cette distance. Cette variable se montre peu sensible lorsque la colonisation racinaire du sol est importante, alors qu'elle le devient lorsque le système racinaire est moins développé. Ceci indique que des

difficultés supplémentaires pourraient survenir pour simuler le prélèvement de plantes jeunes avec un système racinaire peu développé ou très épars. Plus généralement, définir la zone d'influence de la racine n'est pas chose facile. La géométrie du système racinaire décrite grâce à sa longueur totale et son rayon moyen est assimilée à une surface d'absorption qui conditionne fortement le calcul de l'absorption. Bien que ces paramètres soient très sensibles, l'erreur expérimentale de mesure est probablement suffisamment faible, pour que le calcul de modèle ne soit pas trop affecté. La mobilisation du Cd du sol vers la solution, exprimée par le pouvoir tampon, s'est révélée comme un paramètre clé qui alimente l'équation de transport de l'élément à la racine. Nous avons donc par la suite cherché à mieux caractériser ce processus. La concentration initiale de Cd en solution, utilisée comme condition initiale du modèle, compte parmi les facteurs les plus sensibles dans le calcul. Sa détermination par une méthode de centrifugation en respectant l'humidité du sol semble être la plus adaptée. Il est probable que la spéciation du Cd en solution soit telle que toutes les formes de Cd ne soient pas absorbables. Toutefois l'étude précise de la spéciation du Cd pour alimenter le modèle ne semble pas prioritaire, car il semblerait qu'une réduction modérée de la concentration de Cd initiale en solution soit partiellement compensée dans le calcul du modèle par une augmentation du pouvoir tampon. Rappelons ici que le pouvoir tampon a une influence antagoniste à la concentration en solution sur le calcul du prélèvement. Il reste que des modifications importantes de la concentration en solution ne sont pas compensées par le pouvoir tampon, et dans ce cas, elles ont un impact important sur le résultat de la simulation du prélèvement. Les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire décrivant la demande de la plante étaient jusqu'alors considérés comme relativement peu sensibles dans le calcul du modèle. Toutefois nous avons montré que ces paramètres peuvent varier dans de larges proportions selon les conditions dans lesquelles ils sont mesurés et selon la plante. Avec ces nouvelles considérations, la description la plus juste de la fonction d'absorption devient tout à fait prioritaire. Par ailleurs, nous avons montré que le type de fonction d'ajustement de l'isotherme d'absorption influence sensiblement le prélèvement calculé.

Nous avons constaté que la plupart des paramètres d'entrée du modèle sont sensibles dans le calcul. Ils peuvent varier dans des proportions importantes selon les méthodes de détermination, entraînant des résultats de simulations très variables.



### Offre du sol-mobilisation

Le pouvoir tampon s'exprime comme la capacité du sol à maintenir la concentration constante d'un ion en solution. La notion traduit une variation du facteur Quantité consécutive à une variation d'Intensité. Ceci met en jeu de nombreuses réactions de sorption/désorption, de précipitation/dissolution, de complexation de surface, de diffusion dans le sol et de complexation en solution. Une lourde tâche incombe donc au pouvoir tampon : celle d'intégrer une multitude de paramètres, notamment les paramètres thermodynamiques et cinétiques qui régissent les réactions chimiques. A l'issue d'une première série de simulations du prélèvement de Cd par le maïs, nous avons utilisé l'extraction au  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  pour estimer la disponibilité du Cd des terres. Même si le Cd extrait au  $\text{CaCl}_2$  est corrélé au Cd absorbé dans le maïs, les quantités disponibles pour la plante durant la culture sont probablement nettement supérieures à celles extraites. En effet le tabouret calaminaire a prélevé des quantités proches et parfois supérieures de celles estimées par cet extractant. Une étude détaillée concernant l'estimation des quantités labiles, nous a permis d'évaluer d'autres méthodes d'estimation du pouvoir tampon. Les isothermes d'adsorption ou de désorption, la méthode de référence selon Barber (1995) ne permettent pas d'estimer des valeurs de pouvoir tampon car les conditions expérimentales sont souvent trop éloignées des conditions simulées. En revanche, il est possible que des isothermes de désorption obtenues par des extractions à l'eau puissent décrire correctement le pouvoir tampon. Dans ce cas, le nouveau modèle construit pourrait tester la description du pouvoir tampon en fonction de la concentration en solution. Parmi les extractants, le DTPA a permis de corrélérer correctement le prélèvement mesuré de Cd dans le tabouret calaminaire au prélèvement simulé. Il en est de même pour les cinétiques d'échange isotopique, qui semblent extrapoler correctement le Cd labile (facteur Quantité) pour des temps correspondant aux temps de la culture. Nous avons fait l'hypothèse que cette méthode était la plus adaptée pour la mesure du pouvoir tampon du sol, car elle nous apparaît conceptuellement comme la plus réaliste pour décrire le phénomène. L'utilisation des cinétiques d'échange isotopique ne semble toutefois pas indispensable car les quantités extrapolées pour les différents temps de cultures des deux plantes ne sont pas sensiblement différentes. Aussi nous préconisons l'utilisation d'une mesure du facteur Quantité, par dilution isotopique pour des temps d'échange (équilibre) d'au moins une semaine.

### Modèle conceptuel de l'absorption

Les nombreuses études de la littérature visant à mesurer l'absorption des éléments en solution par les racines ont surtout permis de déterminer l'allure de la fonction d'absorption. Toutefois, les conditions de l'expérience sont souvent peu respectueuses des conditions que l'on cherche à simuler. Les mesures de l'absorption racinaire de Cd par le maïs et le tabouret calaminaire nous ont amenés à plusieurs conclusions. Tout d'abord la translocation du Cd vers les feuilles, observée chez maïs en pot, était supérieure à celle mesurée en hydroponie. L'exposition préalable au Cd avant de réaliser la mesure de l'absorption par la plante ne semble pas modifier l'influx significativement ni chez le maïs, ni chez le tabouret. Il n'y a donc pas d'effet de ce traitement sur l'influx de Cd dans la racine, et celui-ci ne semble pas avoir engendré de régulation de l'absorption. De même, nous avons montré que les influx mesurés durant la journée ou durant un cycle circadien ne différaient pas significativement chez le maïs. En revanche, l'âge de la plante est une variable très importante dans la mesure des influx racinaires. En effet, nous avons montré que les influx étaient près de trois fois supérieurs chez le maïs âgé de 12 jours par rapport au maïs de 24 jours. Ceci est à prendre en compte dans la mesure des paramètres racinaires, et nous pouvons même envisager de décrire la fonction d'absorption en fonction de l'âge de la plante pour les modèles mécanistes. Bien que les compétitions des éléments nutritifs avec le Cd aient été très étudiées en montrant des effets notables de certains oligo-éléments comme Zn, Cu, Fe ou Mn par exemple, ces considérations n'ont pas été intégrées dans la plupart des études d'absorption réalisées souvent dans des solutions simplifiées de  $\text{CaCl}_2$ . Nous avons mesuré des influx de Cd trois fois supérieurs dans le maïs placé dans des solutions nutritives dont la composition était plus proche de celle du sol par rapport à des solutions bien pourvues en oligo-éléments.

Dans les conditions de culture hydroponique, une toxicité du Cd s'est exprimée chez maïs pour des teneurs plus élevées en solution par rapport à celles mesurées dans la culture en pot. Aussi nous n'avons pas pu confirmer une baisse de l'absorption racinaire pour expliquer le ralentissement du prélèvement du maïs pour des teneurs de Cd potentiellement toxiques dans le sol. Il conviendrait de tester cette hypothèse dans des conditions plus proches de la culture en pot.

Nous avons mesuré les influx racinaires de Cd chez le tabouret calaminaire par deux méthodes : (1) l'épuisement de la concentration et (2) la méthode de la gamme de concentrations constantes. Dans les deux cas, nous avons considéré plusieurs compartiments

de Cd dans la racine. Lorsque la racine est placée en présence de Cd, une fraction supérieure à 60 % durant les premières minutes serait sorbée réversiblement sur les racines et dans l'apoplasme. Cette quantité se stabilise après quelques minutes, mais semble augmenter avec la quantité de Cd en solution. Pour la première méthode (épuisement), nous avons exclu les 25 à 45 premières minutes de l'isotherme d'absorption, considérant qu'elles sont assimilées majoritairement à de l'adsorption réversible pouvant surestimer l'influx de Cd dans les conditions de l'expérience par rapport aux conditions simulées. Pour la seconde méthode, nous avons désorbé le Cd radioactif de cette fraction à l'aide de Cd froid concentré. Ce traitement a été effectué pour des temps plus longs que ceux utilisés dans la littérature.

Une fraction non échangeable correspondrait au Cd adsorbé irréversiblement au niveau des parois pecto-cellulosiques. Elle augmente au cours de l'expérience et peut représenter 52 % du Cd absorbé après six heures d'absorption. Enfin le compartiment symplasmique a été évalué en lysant les contenus des cellules par un traitement au méthanol-chloroforme. Le Cd absorbé dans ce compartiment représente près de 30 % du Cd total absorbé après six heures. Afin de limiter l'adsorption irréversible, nous avons tenté de saturer les apoplasmes des plants en les exposant au préalable au Cd. Ce traitement a montré une efficacité assez modérée. A part quelques cas, les influx mesurés n'étaient pas systématiquement inférieurs chez les plants traités. Chez le tabouret calaminaire, entre 70 et 87 % du Cd racinaire semble localisé à l'extérieur du compartiment symplasmique. Le flux de Cd dans l'apoplasme serait nettement favorisé en hydroponie en raison du développement plus faible de l'exoderme et dans une moindre mesure de l'endoderme par rapport à des racines développées dans la terre. Ceci suggère que les quantités apoplasmiques mesurées pourraient être surestimées par rapport à celles qui rentrent dans les racines cultivées dans la terre. Les influx mesurés dans différents écotypes de tabouret calaminaire n'étaient pas significativement différents malgré leurs aptitudes contrastées à accumuler le Cd, probablement en raison de la prééminence de la voie apoplasmique en hydroponie, alors que dans les sols la voie symplasmique serait dominante.

Dans des conditions expérimentales similaires, nous avons observé une grande variabilité des influx d'un individu à l'autre, dont l'origine est en partie génétique. Cette variabilité reste difficile à intégrer dans un modèle.

### Allure de la fonction d'absorption chez les deux plantes

Les isothermes d'absorption mesurées chez le maïs n'étaient pas correctement ajustées par une fonction de Michaelis-Menten. En excluant le dernier niveau dans lequel une toxicité a pu modifier le prélèvement de la plante, les isothermes présentaient des allures linéaires. Des ajustements par des fonctions linéaires, puissances ou logarithmiques étaient les plus pertinents pour simuler le prélèvement. Concernant le tabouret calaminaire, nous avons ajusté les influx par des fonctions linéaire ou puissance à partir des épuisements ou de type Michaelis-Menten pour la mesure à concentrations constantes. Nous n'avons pas pu confirmer clairement l'hypothèse d'un transporteur facilité de Cd pour le maïs et le tabouret avec ces mesures. La plus forte adsorption apoplasmique pourrait être à l'origine de l'allure des fonctions d'absorption observée en hydroponie.

### Le modèle est-il adapté ?

Le modèle a permis de réaliser plusieurs simulations du prélèvement de Cd par le maïs et le tabouret calaminaire, en testant les nouvelles données expérimentales acquises pour décrire la même situation expérimentale de culture en terre. Nous avons vérifié que durant cette culture les plants n'ont probablement pas été influencés par des mycorhizes. Nous avons fait l'hypothèse que l'influence des processus rhizosphériques était négligeable sur l'absorption du tabouret calaminaire et du maïs relativement jeune. La mesure du pouvoir tampon par les cinétiques d'échange isotopique a conduit à l'hypothèse que la demande de maïs était surestimée par Mullins et Sommers (1986a). Cette hypothèse a été confirmée en mesurant les paramètres d'absorption du maïs. Selon la composition de la solution d'absorption utilisée, les ajustements les plus adaptés aux isothermes d'absorption ont montré que le prélèvement était soit sous-estimé de 18 à 36 % soit sur-estimé de 41 %. Il reste difficile de mimer les conditions de la culture en pot lors de la mesure des paramètres d'absorption en hydroponie. Concernant, le tabouret calaminaire les simulations réalisées avec les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire mesurés par Lombi *et al.* (2001) ont sous-estimé d'un facteur trois le prélèvement de Cd. De même, les paramètres d'absorption mesurés au cours de l'épuisement, c'est-à-dire dans les conditions les plus proches de celles simulées, ont conduit à sous-estimer le prélèvement d'un facteur trois.

Les mesures expérimentales des fonctions d'absorption des deux plantes montrent que les influx racinaires de Cd diffèrent nettement entre les deux plantes. Cela semble vouloir dire

que les prélèvements contrastés, entre le maïs et le tabouret calaminaire, s'expliquent en grande partie par des absorptions racinaires bien différentes. Le mode de construction du modèle, considérant que la demande de la plante pilote le système, semble donc une bonne conception. Toutefois les paramètres d'entrée restent difficiles à acquérir en particulier l'absorption racinaire, et cela semble expliquer pourquoi nous n'avons pas réussi à simuler précisément le prélèvement de Cd par nos plantes.

### Perspectives de recherches

Différentes investigations pourraient être menées à la suite des simulations réalisées et des difficultés rencontrées pour mesurer l'absorption des plantes. Les isothermes d'absorption par la racine en fonction de la concentration de l'élément en solution, semblent décrire l'influx de manière trop simpliste par rapport à la demande de la plante tout au long de la culture. En effet, les méthodes utilisées intègrent l'absorption sur un temps court. Bien que nous ayons démontré que les conditions de l'expérience doivent être proches des conditions simulées, il reste plusieurs interrogations. Les différents compartiments décrits : adsorbé réversiblement – apoplasmique – symplasmique échangeable doivent être caractérisés pour des racines dont la structure est plus proche de celles en terre, et il serait utile d'en connaître leur contribution, notamment de l'adsorption apoplasmique, au cours de la culture. Des cultures en aéroponie pourraient être envisagées pour répondre à cette question. Nous avons également évoqué la possibilité de décrire la fonction d'absorption en fonction de l'âge des racines en intégrant par exemple la maturation des tissus racinaires et le ralentissement conséquent de l'absorption ou en décrivant les capacités d'absorption des différentes zones racinaires au cours du développement de la plante. Il faut chercher également d'autres paramètres pour mieux décrire ce processus et en particulier envisager de relier le prélèvement de l'élément par la racine à son contenu interne, ou sa répartition à l'intérieur de la plante entière (séquestration dans les cellules, complexation par des molécules organiques, translocation vers les parties aériennes ou transfert dans les graines ou les fruits), ou encore le statut physiologique de la plante (nutrition, toxicité...). Ceci pourrait nous aider à décrire également l'absorption au cours du temps de culture.

Au vu des difficultés que nous avons rencontrées, le modèle reste difficile à paramétrer. Par ailleurs, il existe des risques que le modèle simule correctement le prélèvement en apparence sous l'effet de compensations entre certains facteurs d'entrée. Pour tester le modèle, nous avons confronté les résultats de la simulation à la réalité expérimentale,

mais une autre approche peut être employée. Elle consiste à vérifier directement une partie du calcul du modèle. En effet la concentration de l'élément est calculée en fonction de la distance à la racine pour des périodes de temps déterminées. Ainsi, Claassen *et al.* (1986) ont pu vérifier que la conception théorique de l'équation de mobilisation-transport était réaliste pour simuler les concentrations de potassium au niveau racinaire. Cette méthodologie est difficile à mettre en œuvre pour des éléments en trace comme le cadmium mais l'amélioration de la sensibilité des techniques d'analyses et les dispositifs récents (Wenzel *et al.*, 2001) pour l'étude de la rhizosphère laissent présager que cette vérification peut être effectuée. Il est probable qu'une telle approche nous amène à devoir décrire plus finement les mécanismes de mobilisation et de transport. Comme pour l'absorption, le pouvoir tampon est une valeur moyenne qui pourrait être mieux décrite à partir d'autres paramètres.

Le modèle propose la fourniture des éléments nutritifs par diffusion et flux de masse à des racines dispersées dans le sol au hasard comme dans un sol homogène et assume que les processus de transport ne sont pas affectés par l'activité biologique de la rhizosphère. Toutefois ceci n'est valable que si le volume de sol fournissant l'élément à la racine est largement plus grand que celui influencé par la rhizosphère comme dans le cas des nitrates ou du potassium. Pour le cas des éléments en traces, cela paraît moins évident, et nous manquons encore de données sur l'influence des microorganismes et des racines elles-mêmes sur la concentration de la solution en ions  $\text{Cd}^{2+}$  par exemple. Une caractérisation expérimentale fine des mécanismes est nécessaire avant de pouvoir intégrer ce formalisme dans un modèle mécaniste.

Enfin, il serait utile de décrire plus précisément l'architecture du système racinaire et en particulier la fonction de croissance. En effet, une petite variation des paramètres de la fonction exponentielle de croissance racinaire peut conduire à des variations importantes dans le calcul du prélèvement. Ceci pourrait être testé à l'aide du modèle que nous avons construit.

Les objectifs du modèle sont multiples, mais le but est principalement d'acquérir plus de connaissance du système sol-plante. Il tend donc plutôt vers une complexification qu'une simplification. Il est très probable que le modèle de prélèvement à l'échelle de la plante entière soit difficile à maîtriser avec notre niveau de connaissances actuelles et qu'il faille recentrer les modélisations à des échelles plus fines pour tester les hypothèses de mécanismes.

Le développement d'un modèle d'application, avec éventuellement une simplification des processus, ne pourra être envisagé qu'après la validation du modèle mécaniste dans de larges conditions.





## Références bibliographiques

- Aas G., Maier J., Baltisberger M. et Metzger S., **1994**, Morphology, isozyme variation, cytology, and reproduction of hybrids between *Sorbus aria* (L.) Crantz and *S. torminalis* (L.) Crantz. *Botanica Helvetica* 104, p. 195-214.
- Abrahams P. W., **2002**, Soils: their implications to human health. *Sci. Total Environ.* 291, p. 1-32.
- Adams F., **1974**, Soil solution. *dans* The plant root and its environment, Ed E. W. Carson. p. 441-482. University Press of Virginia, Charlottesville.
- Adhikari T. et Rattan R. K., **2000**, Modelling zinc uptake by rice crop using a Barber-Cushman approach. *Plant Soil* 227, p. 235-242.
- Adriano D. C., **1986**, Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag, New York. 533 p.
- Alcantara E., Romera F. J., Canete M. et De la Guardia M. D., **1994**, Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *J. Exp. Bot.* 45, p. 1893-1898.
- Alloway B. J., **1995a**, Cadmium. *dans* Heavy metals in soils, Ed B. J. Alloway. p. 122-151. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Alloway B. J., **1995b**, The origins of heavy metals in soils. *dans* Heavy metals in soils, Ed B. J. Alloway. p. 38-57. Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- André M., Massimino D. et Dagueneat A., **1978**, Daily patterns under the life cycle of a Maize crop II. Mineral nutrition, root respiration and root excretion. *Physiol. Plantarum* 44, p. 197-204.
- Arnon D. I. et Stout P. R., **1939**, The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiol.* 14, p. 371-375.
- Arsenault J.-L., Pouleur S., Messier R. et Guay R., **1995**, WinRHIZO, a root-measuring system with a unique overlap correction method. *HortScience* 30, p. 906.
- Awad F. et Römheld V., **2000**, Mobilization of heavy metals from contaminated calcareous soils by plant born, microbial and synthetic chelators and their uptake by wheat plants. *J. Plant Nutr.* 23, p. 1847-1855.
- Backes C. A., McLaren R. G., Rate A. W. et Swift R. G., **1995**, Kinetics of cadmium and cobalt desorption from iron and manganese oxides. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, p. 778-785.
- Bäckström M., Dario M., Karlsson S. et Allard B., **2003**, Effects of a fulvic acid on the adsorption of mercury and cadmium on goethite. *Sci. Total Environ.* 304, p. 257-268.
- Baize D., **2000**, Teneurs totales en "métaux lourds" dans les sols français. Résultats généraux du programme ASPITET. *dans* Le Courrier de l'Environnement de l'INRA. p. 39-54.
- Baize D., Deslais W. et Gaiffe M., **1999**, Anomalies naturelles en cadmium dans les sols de France. *Etude Gestion Sols* 6, p. 85-104.
- Baker A. J. M., McGrath S. P., Sidoli C. M. D. et Reeves R. D., **1994**, The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources, Conservation and Recycling* 11, p. 41-49.
- Baker J. R., Edwards R. J., Lasker J. M., Moore M. R. et Satarug S., **2005**, Renal and hepatic accumulation of cadmium and lead in the expression of CYP4F2 and CYP2E1. *Toxicology Letters* 159, p. 182-191.

- Balestrasse K. B., Gardey L., Gallego S. M. et Tomaro M. L., **2001**, Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. *Functional Plant Biology* 28, p. 497-504.
- Barber S. A., **1962**, A diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. *Soil Sci.* 93, p. 39-49.
- Barber S. A., **1995**, Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. John Wiley & Sons, New York. 414 p.
- Barber S. A. et Claassen N., **1975**, A mathematical method to simulate metal uptake by plants growing in soil. *dans* Biological implications of metals in the environment, Proceedings of the 15th annual Hanford Life Sciences Symposium at Richland, Washington September 29-October 1, 1975. p. 358-364.
- Barber S. A. et Cushman J. H., **1981**, Nitrogen uptake model for agronomic crops. *dans* Modeling waste water renovation-land treatment, Ed J. K. Iskandar. p. 382-409. J. Wiley Inter-Science, New York.
- Barber S. A. et Lee R. B., **1974**, The effect of microorganisms on the absorption of manganese by plants. *New Phytologist* 73, p. 97-106.
- Bauer P. et Berezky Z., **2003**, Gene networks involved in iron acquisition strategies in plants. *Agronomie* 23, p. 447-454.
- Belimov A. A., Hontzeas N., Safronova V. I., Demchinskaya S. V., Piluzza G., Bullitta S. et Glick B. R., **2005**, Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry* 37, p. 241-250.
- Bermond A., **1992**, Thermodynamics applied to the study of the limits of sequential extraction procedures used for the speciation of trace elements in sediments and soils. *Environ. Technol.* 13, p. 1175-1179.
- Bernard C., Roosens N., Czernic P., Lebrun M. et Verbruggen N., **2004**, A novel CPx-ATPase from the cadmium hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *FEBS Lett.* 569, p. 140-148.
- Berthelin J. et Leyval C., **2000**, Contamination des milieux par les éléments en traces. Les conséquences sur les sols et les eaux superficielles. *dans* C. R. Acad. Agric. Fr. p. 25-37.
- Beveridge A., Waller P. et Pickering W. F., **1989**, Evaluation of "labile" metal in sediments by use of ion-exchange resins. *Talanta* 36, p. 535-542.
- Bhadoria P. B. S., Kaselowsky J., Claasen N. et Jungk A., **1991**, Phosphate diffusion coefficient in soil as affected by bulk density and water content. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 154, p. 53-57.
- Blaudez D., Botton B. et Chalot M., **2000**, Cadmium uptake and subcellular compartmentation in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *Microbiology* 146, p. 1109-1117.
- Boisset M., **1996a**, Effets toxiques majeurs du cadmium chez l'animal et l'homme. *dans* Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : Evaluation et gestion du risque, Ed C. S. d. H. P. d. France. p. 119-130. Lavoisier Technique et Documentation, Paris.
- Boisset M., **1996b**, Proposition de valeurs-limites pour le cadmium dans les aliments et les boissons. *dans* Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : Evaluation et gestion du risque, Ed C. S. d. H. P. d. France. p. 165. Lavoisier, Paris.
- Boisset M. et Cumont G., **1996**, Origine et évolution de l'apport alimentaire de cadmium. *dans* Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : Evaluation et gestion du risque, Ed C. S. d. H. P. d. France. p. 145-164. Lavoisier Technique et Documentation, Paris.

- Bolan N. S., Adriano D. C., Duraisamy A., Mani A. et Arulmozhiselvan K., **2003**, Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. I. Effect of phosphate addition. *Plant Soil* 250, p. 83-94.
- Boominathan R. et Doran P. M., **2003a**, Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnology Bioengineering* 83, p. 158-167.
- Boominathan R. et Doran P. M., **2003b**, Organic acid complexation, heavy metal distribution and the effect of ATPase inhibition in hairy roots of hyperaccumulator plant species. *Journal of Biotechnology* 101, p. 131-146.
- Boukhars L., Rada A. et Yatribi A., **2000**, Prélèvement de cadmium issu de boues urbaines par le pois cultivé en hydroponie avec des concentrations croissantes en chlorures. *Agrochimica XLIV*, p. 211-220.
- Bourrelier P. H. et Berthelin J., **1998**, Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion, Paris. 434 p.
- Brooks R. R., Chambers M. F., Nicks L. J. et Robinson B. H., **1998**, Phytomining. *Trends in Plant Science* 3, p. 359-362.
- Brown P. H., Dunemann L., Schulz R. et Marschner H., **1989**, Influence of redox potential and plant species on the uptake of nickel and cadmium from soils. *Zeitschrift für Pflanzenernaehrung und Bodenkunde* 152, p. 85-91.
- Brown S. L., Chaney R. L., Angle J. S. et Baker A. J. M., **1994**, Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and Blader Champion for zinc- and cadmium-contaminated soil. *Journal of Environmental Quality* 23, p. 1151-1157.
- Brown S. L., Chaney R. L., Angle J. S. et Baker A. J. M., **1995**, Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, p. 125-133.
- Bruemmer G. W., Gerth J. et Herms U., **1986**, Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Zeitschrift für Pflanzenernaehrung und Bodenkunde* 149, p. 382-398.
- Brzoska M. M. et Moniuszko-Jakoniuk J., **2005**, Disorders in bone metabolism of female rats chronically exposed to cadmium. *Toxicology and Applied Pharmacology* 202, p. 68-83.
- Buatier M. D., Sobanska S. et Elsass F., **2001**, TEM-EDX investigation on Zn- and Pb-contaminated soils. *Appl. Geochem.* 16, p. 1165-1177.
- Burzynski M., Migocka M. et Klobus G., **2005**, Cu and Cd transport in cucumber (*Cucumis sativus* L.) root plasma membranes. *Plant Sci.* 168, p. 1609-1614.
- Byrne D., **2001**, Règlement (CE) N°466/2001 de la Commission du 8 mars 2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. *dans* Journal Officiel des Communautés européennes. p. L77/71-L77/12. Commission des Communautés européennes, Union Européenne.
- Carrier P., Baryla A. et Havaux M., **2003**, Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmium-contaminated soil. *Planta* 216, p. 939-950.
- Cataldo D. A., Garland T. R. et Wildung R. E., **1983a**, Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiol.* 73, p. 844-848.
- Cataldo D. A., Wildung R. E. et Garland T. R., **1983b**, Root Absorption and transport behaviour of technitium in soybean. *Plant Physiol.* 73, p. 849-852.
- Chardonens A. N., ten Bookum W. M., Kuijper L. D. J., Verkleij J. A. C. et Ernst W. H. O., **1998**, Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plantarum* 104, p. 75-80.

- Checkai R. T., Corey R. B. et Helmke P. A., **1987**, Effects of ionic and complexed metal concentrations on plant uptake of cadmium and micronutrient metals from solution. *Plant Soil* 99, p. 335-345.
- Chen Y. X., Lin Q., Luo Y. M., He Y. F., Zhen S. J., Yu Y. L., Tian G. M. et Wong M. H., **2003**, The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere* 50, p. 807-811.
- Choi Y.-E., Harada E., Wada M., Tsuboi H., Morita Y., Kusano T. et Sano H., **2001**, Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta* 213, p. 45-50.
- Christensen T. H., **1984a**, Cadmium soil sorption at low concentrations. I: Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. *Water Air Soil Pollut.* 21, p. 105-114.
- Christensen T. H., **1984b**, Cadmium soil sorption at low concentrations. II: Reversibility, effect of changes in solute composition, and effect of soil aging. *Water Air Soil Pollut.* 21, p. 115-125.
- Christensen T. H., **1987**, Cadmium soil sorption at low concentrations. V. Evidence of competition by other heavy metals. *Water Air Soil Pollut.* 34, p. 293-303.
- Christensen T. H., **1989**, Cadmium soil sorption at low concentrations. VII: Effect of stable solid waste leachate complexes. *Water Air Soil Pollut.* 44, p. 43-56.
- Christensen T. H. et Haung P. M., **1999**, Solid phase cadmium and the reactions of aqueous cadmium with soil surfaces. *dans* Cadmium in Soils and Plants, Eds M. J. McLaughlin et B. R. Singh. p. 65-96. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Cieslinski G., Van Rees K. C. J., Szmigielska A. M., Krishnamurti G. S. R. et Huang P. M., **1998**, Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. *Plant Soil* 203, p. 109-117.
- Claassen N. et Barber S. A., **1974**, A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. *Plant Physiol.* 54, p. 564-568.
- Claassen N. et Barber S. A., **1976**, Simulation model for nutrient uptake from soil by growing plant root system. *Agron. J.* 68, p. 961-964.
- Claassen N., Castaneda-Ortiz N., Neumann G., Gweyi-Onyango J. P. et Rao I. M., **2005**, Root exudation of organic acids and/or acid phosphatase cannot explain phosphorus mobilization by *Arachis pintoi*. *dans* XV IPNC. Plant nutrition for food security, human health and environmental protection, Beijing, China, Eds C. J. Li, F. S. Zhang, A. Dobermann, P. Hinsinger, H. Lambers, X. L. Li, P. Marschner, L. Maene, S. P. McGrath, O. Oenema, S. B. Peng, Z. Rengel, Q. R. Shen, R. Welch, N. von Wirén, X. L. Yan et Y. G. Zhu. p. 460-461.
- Claassen N., Syring K. M. et Jungk A., **1986**, Verification of a mathematical model by simulating potassium uptake from soil. *Plant Soil* 95, p. 209-220.
- Clemens S., **2001**, Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212, p. 475-486.
- Cobbett C. S., **2000**, Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol.* 123, p. 825-832.
- Cosio C., DeSantis L., Frey B., Diallo S. et Keller C., **2005**, Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. *J. Exp. Bot.* 56, p. 765-775.
- Costa G., **1992**, Réponses physiologiques de *Lactuca sativa* (L.) et de *Lupinus albus* (L.) aux faibles concentrations en Cadmium. *dans* Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. p. 132. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-Les-Nancy.
- Costa G. et Morel J. L., **1993**, Cadmium uptake by *Lupinus Albus* (L.): Cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance. *J. Plant Nutr.* 16, p. 1921-1929.
- Crank J., **1975**, The mathematics of diffusion. Oxford University press, New York. 414 p.

- Crowley D. E., **2001**, Effect of bacterial processes on metal and trace nutrient uptake by plant roots, rhizosphere, preferential flow and bio-availability: a holistic view of soil-to-plant transfer, Ascona, Suisse.
- Cushman J. H., **1979**, An analytical solution to solute transport near root surfaces for low initial concentration: I. Equations development. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, p. 1087-1090.
- Cutler J. M. et Rains D. W., **1974**, Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol.* 54, p. 67-71.
- Dakora F. D. et Phillips D. A., **2002**, Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil* 245, p. 35-47.
- Darrah P. R. et Roose T., **2001**, Modeling the rhizosphere. *dans* The rhizosphere, Eds R. Pinton, Z. Varanini et P. Nannipieri. p. 327-372. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Das P., Samantaray S. et Rout G. R., **1997**, Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environ. Pollut.* 98, p. 29-36.
- de Willigen P. et van Noordwijk M., **1994a**, Mass flow and diffusion of nutrients to a root with constant or zero-sink uptake I. Constant uptake. *Soil Sci.* 157, p. 162-170.
- de Willigen P. et van Noordwijk M., **1994b**, Mass flow and diffusion of nutrients to a root with constant or zero-sink uptake II. Zero-sink uptake. *Soil Sci.* 157, p. 171-175.
- Degryse F., Broos K., Smolders E. et Merckx R., **2003**, Soil solution concentration of Cd and Zn can be predicted with a CaCl<sub>2</sub> soil extract. *Eur. J. Soil Sci.* 54, p. 149-157.
- del Castilho P., Chardon W. J. et Salomons W., **1993**, Influence of cattle-manure slurry application on the solubility of cadmium, copper, and zinc in a manured acidic, loamy-sand soil. *Journal of Environmental Quality* 22, p. 689-697.
- Dhankher O. P., Shasti N. A., Rosen B. P., Fuhrmann M. et Meagher R. B., **2003**, Increased cadmium tolerance and accumulation by plants expressing bacterial arsenate reductase. *New Phytologist* 159, p. 431-441.
- DiTomaso J. M., Hart J. J. et Kochian L. V., **1992**, Transport kinetics and metabolism of exogenously applied putrescine in roots of intact Maize seedlings. *Plant Physiol.* 98, p. 611-620.
- Dobos D. A., **1994**, Handbook for Electrochemists in Industry and Universities. p. p 88. Elsevier Scientific, Amsterdam, The Netherlands.
- Doyle J. J., Marshall R. T. et Pfander W. H., **1975**, Effects of Cadmium on the Growth and Uptake of Microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 29, p. 562-564.
- Drouet J.-L. et Pagès L., **2003**, GRAAL: a model of GRowth, Architecture and carbon ALlocation during the vegetative phase of the whole maize plant: Model description and parameterisation. *Ecological Modelling* 165, p. 147-173.
- Dunbabin V. M., Diggle A. J., Rengel Z. et van Hugten R., **2002**, Modelling the interactions between water and nutrient uptake and root growth. *Plant Soil* 239, p. 19-38.
- Duquene L., **2003**, Evaluation de la phytodisponibilité du Cd et du Zn des sols par des méthodes isotopiques. *dans* ENSAIA. p. 27. Institut national Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-Lès-Nancy.
- Echevarria G., Morel J. L., Fardeau J. C. et Leclerc-Cessac E., **1998**, Assessment of phytoavailability of nickel in soils. *J. Environ. Quality* 27, p. 1064-1070.
- Edwards J. H. et Barber S. A., **1976**, Phosphorus uptake rate of soybean roots as influenced by plant age, root trimming, and solution P concentration. *Agron. J.* 68, p. 973-975.
- Engqvist L. G., Martensson A., Orłowska E., Turnau K., Belimov A. A., Borisov A. Y. et Gianinazzi-Pearson V., **2006**, For a successful pea production on polluted soils, inoculation with beneficial microbes requires active interaction between the microbial components and the plant. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant* 56, p. 9-16.

- Enstone D. E. et Peterson C. A., **1998**, Effects of exposure to humid air on epidermal viability and suberin deposition in maize (*Zea mays L.*) roots. *Plant Cell Environ.* 21, p. 837-844.
- Epstein E., **1961**, The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. *Plant Physiol.* 36, p. 437-444.
- Epstein E., **1966**, Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. *Nature* 212, p. 1324-1327.
- Epstein E. et Hagen C. E., **1952**, A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. *Plant Physiol.* 27, p. 457-474.
- Eriksson J., Öborn I., Jansson G. et Andersson A., **1996**, Factors influencing Cd-content in crops. Results from Swedish field investigations. *Swed. J. Agric. Res.* 26, p. 125-133.
- Fardeau J.-C., **1981**, Cinétique de dilution isotopique et phosphore assimilable des sols. p. 198. Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Paris.
- Fardeau J.-C., **1993**, Le phosphore assimilable des sols : Sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie* 13, p. 317-331.
- Fardeau J.-C., Morel C. et Jappe J., **1985**, Cinétique d'échange des ions phosphate dans les systèmes sol-solution. Vérification expérimentale de l'équation théorique. *C. R. Acad. Sci.* t. 300, Série III, p. 371-376.
- Filius A., Streck T. et Richter J., **1998**, Cadmium sorption and desorption in limed topsoils as influenced by pH: Isotherms and simulated leaching. *J. Environ. Quality* 27, p. 12-18.
- Florijn P. J. et Van Beusichem M. L., **1993**, Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. *Plant Soil* 150, p. 25-32.
- Fodor J., Gullner G., Adam A. L., Barna B., Komives T. et Kiraly Z., **1997**, Local and Systemic Responses of Antioxidants to Tobacco Mosaic Virus Infection and to Salicylic Acid in Tobacco (Role in Systemic Acquired Resistance). *Plant Physiol.* 114, p. 1443-1451.
- Fotovat A. et Naidu R., **1998**, Changes in the composition of soil aqueous phase influence chemistry of indigenous heavy metal in alkaline sodic and acidic soils. *Geoderma* 84, p. 213-234.
- Frensch J., Stelzer R. et Steudle E., **1992**, NaCl Uptake in Roots of *Zea mays* Seedlings: Comparison of Root Pressure Probe and EDX Data. *Ann. Bot.* 70, p. 543-550.
- Freundl E., Steudle E. et Hartung W., **2000**, Apoplastic transport of abscisic acid through roots of maize: effect of the exodermis. *Planta* 210, p. 222-231.
- Fujii R. et Corey R. B., **1986**, Estimation of isotopically exchangeable cadmium and zinc in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, p. 306-308.
- Garcia-Miragaya J. et Page A. L., **1978**, Sorption of trace quantities of cadmium by soils with different chemical and mineralogical composition. *Water Air Soil Pollut.* 9, p. 289-299.
- Geelhoed J. S., Mous S. L. J. et Findenegg G. R., **1997**, Modeling zero sink nutrient uptake by roots with root hairs from soil: Comparaison of two models. *Soil Sci.* 162, p. 544-553.
- Geelhoed J. S., Van Riemsdijk W. H. et Findenegg G. R., **1999**, Simulation of the effect of citrate exudation from roots on the plant availability of phosphate adsorbed on goethite. *Eur. J. Soil Sci.* 50, p. 379-390.
- Gérard E., **2000**, Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par des méthodes isotopiques. *dans* Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. p. 153. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy.
- Gérard E., Echevarria G., Sterckeman T. et Morel J. L., **1999**, Phytoavailability of cadmium in soils as assessed by isotopic methods. *dans* 5th International Conference on Biogeochemistry of Trace Elements, Vienna, 11-15 July 1999, Eds W. W. Wenzel, D.

- C. Adriano, B. J. Alloway, H. E. Doner, C. Keller, N. W. Lepp, M. Mench, R. Naidu et G. M. Pierzynski. p. 134-135.
- Gerke J., Wessels E., Egle K. et Römer W., **1999**, Heavy metal acquisition by white lupin and yellow lupin. *dans* Lupin, an ancient crop for the new millenium. 9th International Lupin Conference, Klink/Müriz, 20-24 June, Eds E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann et P. Roemer. p. 254-257.
- Gray C. W., McLaren R. G., Günther D. et Sinaj S., **2004**, An assessment of cadmium availability in cadmium-contaminated soils using isotope exchange kinetics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, p. 1210-1217.
- Gray C. W., McLaren R. G., Roberts H. C. et Condrón L. M., **1998**, Sorption and desorption of cadmium from New Zealand soils: effect of pH and contact time. *Aust. J. Soil Res.* 36, p. 199-216.
- Gray C. W., McLaren R. G. et Shioatana J., **2003**, The determination of labile cadmium in some biosolids-amended soils by isotope dilution plasma mass spectrometry. *Aust. J. Soil Res.* 41, p. 589-597.
- Gupta K. C. et D'Arc M. J., **2000**, Effect of concentration of ion exchanger, plasticizer and molecular weight of cyanocopolymers on selectivity and sensitivity of Cd(II) ion selective electrode. *Talanta* 52, p. 1087-1103.
- Gupta S. K. et Aten C., **1993**, Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in a simple model to predict the biological relevance of heavy metal concentrations in contaminated soils. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, p. 25-46.
- Haghiri F., **1973**, Cadmium uptake by plants. *J. Environ. Quality* 2, p. 93-95.
- Hall G. E. M., MacLaurin A. I. et Garrett R. G., **1998**, Assessment of the 1 M NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> extraction protocol to identify mobile forms of Cd in soils. *J. Geochem. Explor.* 64, p. 153-159.
- Hammer D. et Keller C., **2002**, Changes in the Rhizosphere of Metal-Accumulating Plants Evidenced by Chemical Extractants. *J Environ Qual* 31, p. 1561-1569.
- Hamon R., Wundke J., McLaughlin M. J. et Naidu R., **1997**, Availability of zinc and cadmium to different plant species. *Aust. J. Soil Res.* 35, p. 1267-1277.
- Hanikenne M., Motte P., Wu M. C. S., Wang T., Loppes R. et Matagne R. F., **2005**, A mitochondrial half-size ABC transporter is involved in cadmium tolerance in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Environ.* 28, p. 863-873.
- Harper M. P., Davison W., Zhang H. et Tych W., **1998**, Kinetics of metal exchange between solids and solutions in sediments and soils interpreted from DGT measured fluxes. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62, p. 2757-2770.
- Harris N. et Taylor G., **2004**, Cadmium uptake and translocation in seedlings of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation. *BMC Plant Biology* 4, p. 4.
- Harrison-Murray R. S. et Clarkson D. T., **1973**, Relationship between structural development and the absorption of ions system of *Cucurbita pepo*. *Planta* 114, p. 1-16.
- Hart J. J., Welch R. M., Norvell W. A., Sullivan L. A. et Kochian L. V., **1998**, Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol.* 116, p. 1413-1420.
- Harter R. D. et Naidu R., **2001**, An assessment of environmental and solution parameter impact on trace-metal sorption by soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, p. 597-612.
- Helmke P. A., **1999**, Chemistry of cadmium in the soil solution. *dans* Cadmium in Soils and Plants, Eds M. J. McLaughlin et B. R. Singh. p. 39-64. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Hernandez L. E., Carpena-Ruiz R. et Garate A., **1996**, Alterations in the mineral nutrition of pea seedlings exposed to cadmium. *J. Plant Nutr.* 19, p. 1581-1598.

- Hesterberg D., Sayers D. A., Zhou W., Plummer G. M. et Robarge W. P., **1997**, X-ray Absorption Spectroscopy of Lead and Zinc Speciation in a Contaminated Groundwater Aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 31, p. 2840-2846.
- Hill K. A. et Lion L. W., **2002**, Reduced Cd accumulation in Zea mays : a protective role for phytosiderophore? *Environ. Sci. Technol.* 36, p. 5363-5368.
- Hinesly T. D., Alexander D. E., Ziegler E. L. et Barrett G. L., **1978**, Zinc and Cd accumulation by corn inbreds grown on sludge amended soil. *Agron. J.* 70, p. 425-428.
- Hoffland E., **1992**, Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. *Plant Soil* 140, p. 279-289.
- Holm P. E., Andersen S. et Christensen T. H., **1995**, Speciation of dissolved cadmium: Interpretation of dialysis, ion exchange and computer (GEOCHEM) methods. *Water Res.* 29, p. 803-809.
- Homma Y. et Hirata H., **1984**, Kinetics of cadmium and zinc absorption by rice seedling roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 30, p. 527-532.
- Hooda P. S. et Alloway B. J., **1993**, Effects of time and temperature on the bioavailability of Cd and Pb from sludge-amended soils. *J. Soil Sci.* 44, p. 97-110.
- Hopkins B. G., Whitney D. A., Lamond R. E. et Jolley V. D., **1998**, Phytosiderophore release by sorghum, wheat, and corn under zinc deficiency. *J. Plant Nutr.* 21, p. 2623-2637.
- Horvath A. L., **1985**, Handbook of Aqueous Electrolyte Solutions. p. p 229. Ellis Horwood: West Sussex, UK.
- Hose E., Clarkson D. T., Steudle E., Schreiber L. et Hartung W., **2001**, The exodermis: a variable apoplastic barrier. *J. Exp. Bot.* 52, p. 2245-2264.
- Houba V. J. G., Temminghoff E. J. M., Gaikhorst G. A. et van Vark W., **2000**, Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 31, p. 1299-1396.
- Hsu Y. T. et Kao C. H., **2003**, Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Cell Environ.* 26, p. 867-874.
- Hutchinson J. J., Young S. D., McGrath S. P., West H. M., Black C. R. et Baker A. J. M., **2000**, Determining uptake of 'non-labile' soil cadmium by *Thlaspi caerulescens* using isotopic dilution techniques. *New Phytologist* 146, p. 453-460.
- ISO, **2001**, Soil quality - Dissolution for the determination of total element content - Part 1: Dissolution with hydrofluoric and perchloric acids. 5 p. International Organization for Standardization.
- ISO, **2002**, Soil quality - Extraction of trace elements by buffered DTPA solution. 4 p. International Organization for Standardization.
- Jackson A. P. et Alloway B. J., **1991**, The bioavailability of cadmium to lettuce and cabbage in soils previously treated with sewage sludges. *Plant Soil* 132, p. 179-186.
- Janot C., **1990**, Contribution à l'étude du transfert sol-plante du cadmium. Essai de validation du modèle "Uptake" (Barber) pour *Lactuca sativa* L. & *Lupinus albus* L. dans Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. p. 50. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy.
- Jarvis S. C., Jones L. H. P. et Hopper M. J., **1976**, Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots. *Plant Soil* 44, p. 179-191.
- Jezequel K., Perrin J. et Lebeau T., **2005**, Bioaugmentation with a *Bacillus* sp. to reduce the phytoavailable Cd of an agricultural soil: comparison of free and immobilized microbial inocula. *Chemosphere* 59, p. 1323-1331.
- Joner E., Briones R. et Leyval C., **2000**, Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil* 226, p. 227-234.



- Joner E. et Leyval C., **1997**, Uptake of  $^{109}\text{Cd}$  by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist* 135, p. 353-360.
- Jones D. L. et Darrah P. R., **1994**, Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil* 166, p. 247-257.
- Jost W., **1952**, Diffusion in Solids, Liquids and Gases. Academic Press, New York.
- Jung M. C. et Thornton I., **1997**, Environmental contamination and seasonal variation of metals in soils, plants and water in the paddy fields around a Pb-Zn mine in Korea. *Sci. Total Environ.* 198, p. 105-121.
- Jungk A. et Barber S. A., **1975**, Plant age and the phosphorus uptake characteristics of trimmed and untrimmed corn root Systems. *Plant Soil* 42, p. 227-239.
- Jungk A. et Claasen N., **1997**, Ion diffusion in the soil-root system. *Adv. Agron.* 61, p. 53-110.
- Juste C. et Tauzin J., **1992**, Comparaison de la biodisponibilité du cadmium contenu dans différentes matières fertilisantes. *C. R. Acad. Agric. France* 78, p. 71-79.
- Kabata-Pendias A., **2001**, Trace elements in soils and plants. CRC Press. 413 p.
- Kah M., **2003**, Caractérisation du cadmium des sols par cinétique d'échange isotopique. *dans* ENSAIA. p. 20. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France.
- Kashem M. A. et Singh B. R., **2001**, Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Plant Soil* 61, p. 247-255.
- Keltjens W. G. et van Beusichem M. L., **1998**, Phytochelatins as biomarkers for heavy metal stress in maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.): combined effects of copper and cadmium. *Plant Soil* 203, p. 119-126.
- Khalid B. A., Gambrell R. P. et Patrick Jr W. H., **1981**, Chemical availability of cadmium in Mississippi river sediment. *J. Environ. Quality* 10, p. 523-528.
- Kirk G. J. D., **1999**, A model of phosphate solubilization by organic anion excretion from plant roots. *Eur. J. Soil Sci.* 50, p. 369-378.
- Kirk G. J. D., **2002**, Use of modelling to understand nutrient acquisition by plants. *Plant Soil* 247, p. 123-130.
- Kirk G. J. D., Santos E. E. et Findenegg G. R., **1999**, Phosphate solubilization by organic anion excretion from rice (*Oryza sativa* L.) growing in aerobic soil. *Plant Soil* 211, p. 11-18.
- Knight B., Zhao F. J., McGrath S. P. et Shen Z. G., **1997**, Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution. *Plant Soil* 197, p. 71-78.
- Kochian L. V., Pence N. S., Letham D. L. D., Pineros M. A., Magalhaes J. V., Hoekenga O. A. et Garvin D. F., **2002**, Mechanisms of metal resistance in plants : aluminium and heavy metals. *Plant Soil* 247, p. 109-119.
- Krishnamurti G. S. R., Cieslinski G., Huang P. M. et Van Rees K. C. J., **1997**, Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: Implication in cadmium availability. *J. Environ. Quality* 26, p. 271-277.
- Krishnamurti G. S. R., Huang P. M., Van Rees K. C. J., Kozak L. M. et Rostad H. P. W., **1995a**, A new soil test method for the determination of plant-available cadmium in soils. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 26, p. 2857-2867.
- Krishnamurti G. S. R., Huang P. M., Van Rees K. C. J., Kozak L. M. et Rostad H. P. W., **1995b**, Speciation of particulate-bound cadmium of soils and its bioavailability. *Analyst* 120, p. 659-665.

- Krishnamurti G. S. R. et Naidu R., **2003**, Solid-solution equilibria of cadmium in soils. *Geoderma* 113, p. 17-30.
- Krishnamurti G. S. R., Smith L. H. et Naidu R., **2000**, Method for assessing plant-available cadmium in soils. *Aust. J. Sci. Res.* 38, p. 823-836.
- Kuboi T., Noguchi A. et Yazaki J., **1986**, Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil* V92, p. 405-415.
- Kuo S., **1990**, Cadmium buffering capacity and accumulation in Swiss chard in some sludge-amended soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, p. 86-91.
- Küpper H., Lombi E., Zhao F. J. et McGrath S. P., **2000**, Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Planta* 212, p. 75-84.
- Kurek E., Czaban J. et Bollag J.-M., **1982**, Sorption of Cadmium by Microorganisms in Competition with Other Soil Constituents *Appl. Environ. Microbiol.* 43, p. 1011-1015.
- Lagriffoul A., Mocquot B., Mench M. et Vangronsveld J., **1998**, Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant Soil* 200, p. 241-250.
- Larsson E. H., Asp H. et Bornman J. F., **2002**, Influence of prior Cd<sup>2+</sup> exposure on the uptake of Cd<sup>2+</sup> and other elements in the phytochelatin-deficient mutant, *cad1-3*, of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 53, p. 447-453.
- Lasat M. M., Baker A. J. M. et Kochian L. V., **1996**, Physiological characterisation of root Zn<sup>2+</sup> absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiol.* 112, p. 1715-1722.
- Le Bot J., Adamowicz S. et Robin P., **1998**, Modelling plant nutrition of horticultural crops : a review. *Sc. Hort.* 74, p. 47-82.
- Lebourg A., **1996**, Etude de l'extractibilité des métaux en traces de sols pollués en vue de la détermination de leur biodisponibilité. *dans* Spectroscopie et réactivité des systèmes chimiques. p. 148. Université des Sciences et Techniques, Lille.
- Lebourg A., Sterckeman T., Ciesielski H. et Proix N., **1996**, Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces des sols. *Agronomie* 16, p. 201-205.
- Lebourg A., Sterckeman T., Ciesielski H. et Proix N., **1998**, Trace metal speciation in three unbuffered salt solutions used to assess their bioavailability in soil. *J. Environ. Quality* 27, p. 584-590.
- Lee D.-Y., **1993**, Chelating resin membrane method for estimation of soil cadmium phytoavailability. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 24, p. 685-700.
- Lee D.-Y. et Zheng H.-C., **1994**, Simultaneous extraction of soil phytoavailable cadmium, copper, and lead by chelating resin membrane. *Plant Soil* 164, p. 19-23.
- Legay J. M., **1996**, L'expérience et le modèle INRA. INRA, Paris. 119 p.
- Lepp N. W., **1981**, Effect of heavy metal pollution on plants. Volume 1. Effects of trace metals on plant function. Applied Science Publishers, London, U.K. 352 p.
- Leyval C. et Joner E., **2001**, Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. *dans* Trace elements in the rhizosphere, Eds G. R. Gobran, W. W. Wenzel et E. Lombi. p. 165-185. CRC Press, Boca Raton.
- Leyval C., Singh B. R. et Joner E., **1995**, Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties. *Water Air Soil Pollut.* 84, p. 203-216.
- Leyval C., Surtiningsih T. et Berthelin J., **1993**, Mobilization of P and Cd From Rock Phosphates By Rhizospheric Microorganisms (Phosphate-Dissolving Bacteria and Ectomycorrhizal Fungi). *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements* 77, p. 685-688.

- Leyval C., Turnau K. et Haselwandter K., **1997**, Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7, p. 139-153.
- Lindberg S., Landberg T. et Greger M., **2004**, A new method to detect cadmium uptake in protoplasts. *Planta* 219, p. 526-532.
- Lindsay W. L. et Norwell W. A., **1978**, Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42, p. 421-423.
- Liu D. et Kottke I., **2003**, Subcellular localization of Cd in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectrometry. *Journal of biosciences* 28, p. 471-478.
- Logan T. J., Lindsay B. J., Goins L. E. et Ryan J. A., **1997**, Field assessment of sludge metal bioavailability to crops : sludge rate response. *J Environ Qual* 26a, p. 534-550.
- Lombi E., Hamon R., McGrath S. P. et McLaughlin M. J., **2003**, Lability of Cd, Cu and Zn in polluted soils treated with lime, beringite, and red mud and identification of a non-labile colloidal fraction of metals using isotopic techniques. *Environ. Sci. Technol.* 37, p. 979-984.
- Lombi E., Tearall K. L., Howarth J. R., Zhao F.-J., Hawkesford M. J. et McGrath S. P., **2002**, Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.* 128, p. 1359-1367.
- Lombi E., Zhao F. J., Dunham S. J. et McGrath S. P., **2000**, Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New Phytologist* 145, p. 11-20.
- Lombi E., Zhao F. J., McGrath S. P., Young S. D. et Sacchi G. E., **2001**, Physiological evidence for a high-affinity cadmium transporter highly expressed in a *Thlaspi caerulescens* ecotype. *New Phytologist* 149, p. 53-60.
- Lorenz S. E., Hamon R. E. et McGrath S. P., **1994**, Differences between soil solutions obtained from rhizosphere and non-rhizosphere soils by water displacement and soil centrifugation. *Eur. J. Soil Sci.* 45, p. 431-438.
- Lozano-Rodriguez E., Hernandez L. E., Bonay P. et Carpena-Ruiz R. O., **1997**, Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. *J. Exp. Bot.* 48, p. 123-128.
- Lux A., Sotnikova A., Opatrna J. et Greger M., **2004**, Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. *Physiol. Plantarum* 120, p. 537-545.
- Ma M., Lau P.-S., Jia Y.-T., Tsang W.-K., Lam S. K. S., Tam N. F. Y. et Wong Y.-S., **2003**, The isolation and characterization of type 1 metallothionein (MT) cDNA from a heavy-metal-tolerant plant, *Festuca rubra* cv. Merlin. *Plant Sci.* 164, p. 51-60.
- Maier E. A., Matthews R. D., McDowell J. A., Walden R. R. et Ahner B. A., **2003**, Environmental cadmium levels increase phytochelatin and Glutathione in Lettuce grown in a chelator-buffered nutrient solution. *J. Environ. Quality* 32, p. 1356-1464.
- Marschner H., **1991**, Root-induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. *dans Plant Roots : The Hidden Half*, Eds Y. Waisel, A. Eshel et U. Kafkafi. p. 503-528. Dekker, M.
- Marschner H., **1995**, Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. 889 p.
- Marschner H. et Römheld V., **1983**, In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface : Effect of plant species and nitrogen source. *Z. Pflanzenphysiologie* 111, p. 241-251.
- Matoh T., **1997**, Boron in plant cell walls. *Plant Soil* 193, p. 59-70.
- McBride M., **1980**, Chemisorption of Cd<sup>2+</sup> on calcite surfaces. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, p. 26-28.

- McBride M. B., **1989**, Reactions controlling heavy metal solubility in soils. *Adv. Soil Sci.* 10, p. 1-56.
- McLaughlin M. J., Tiller K. G. et Smart M. K., **1997**, Speciation of cadmium in soil solutions of saline/sodic soils and relationship with cadmium concentrations in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Aust. J. Soil Res.* 35, p. 183-198.
- Meda A. R., Scheuermann E., Erenoglu B., Schaaf G. et von Wirén N., **2005**, Transcriptional regulation of the iron-phytosiderophore transporter ZmYS1 in dependency of iron supply and heavy metal excess in maize. *dans XV IPNC. Plant nutrition for food security, human health and environmental protection*, Beijing, Eds C. J. Li, F. S. Zhang, A. Dobermann, P. Hinsinger, H. Lambers, X. L. Li, P. Marschner, L. Maene, S. P. McGrath, O. Oenema, S. B. Peng, Z. Rengel, Q. R. Shen, R. Welch, N. von Wirén, X. L. Yan et Y. G. Zhu. p. 648-649.
- Meeussen J. C. L., **2003**, ORCHESTRA: An object-oriented framework for implementing chemical equilibrium models. *Environ. Sci. Technol.* 37, p. 1175-1182.
- Mench M., Baize D., Denaix L., Sappin-Didier V. et Sterckeman T., **2001**, Exposition de végétaux aux éléments traces via la solution du sol : diagnostic de contamination des récoltes, diagnostic de danger, pratiques agricoles pour prévenir ou assainir. *dans Semes Rencontres de la Fertilisation Raisonnée et de l'Analyse de Terre. Les nouveaux Défis de la Fertilisation Raisonnée.*, Blois, 27-29 novembre 2001, Eds G. Thévenet et A. Joubert. p. 317-331.
- Mench M., Juste C. et Solda P., **1992**, Effets de l'utilisation de boues urbaines en essai de longue durée : accumulation des métaux par les Végétaux supérieurs. *Bull. Soc. Bot. France* 139, p. 141-156.
- Mench M. et Martin E., **1991**, Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. *Plant Soil* 132, p. 187-196.
- Mench M., Morel J. L. et Guckert A., **1985**, Liaison du cadmium avec la fraction macromoléculaire soluble des exsudats racinaires de maïs (*Zea mays* L.). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, t.301, série III 7, p. 379-381.
- Mench M., Morel J. L. et Guckert A., **1987**, Metal binding properties of high molecular weight soluble exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biol. Fertility Soils* 3, p. 165-169.
- Mench M. J. et Fargues S., **1994**, Metal uptake by iron-efficient and inefficient oats. *Plant Soil* 165, p. 227-233.
- Mermut A. R., Jain J. C., Song L., Kerrich R., Kozak L. et Jana S., **1996**, Trace element concentrations of selected soils and fertilizers in Saskatchewan, Canada. *J. Environ. Quality* 25, p. 845-853.
- Meychik N. R. et Yermakov I. P., **2001**, Ion exchange properties of plant root cell walls. *Plant Soil* 234, p. 181-193.
- Meychik N. R., Yermakov I. P. et Prokoptseva O. S., **2003**, Diffusion of an organic cation into root cell walls. *Biochemistry (Moscow)* 68, p. 760-771.
- Mitchell L. G., Grant C. A. et Racz G. J., **2000**, Effect of nitrogen application on concentration of cadmium and nutrient ions in soil solution and in durum wheat. *Can. J. Soil Sci.* 80, p. 107-115.
- Mitchell R. L., **1964**, Trace elements in soils. *dans Chemistry of the soil*, Ed F. E. Bear. p. 320-368. Reinhold, New York.
- Molina Millan I., Fitz W. J., Unterbrunner R. et Wenzel W. W., **2006**, Comparison of methods for measuring metal desorption from soils for parameterizing rhizosphere models. *Eur. J. Soil Sci.* 57, p. 38-46.

- Morel J. L. et Guckert A., **1984**, Evolution en plein champ de la solubilité dans DTPA des métaux lourds du sol introduits par des épandages de boues urbaines chaulées. *Agronomie* 4, p. 377-386.
- Morel J. L., Mench M. et Guckert A., **1986**, Measurements of  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biol. Fertility Soils* 2, p. 29-34.
- Morel J. L., Mench M. et Guckert A., **1987**, Dynamique des métaux lourds dans la rhizosphère : rôle des exsudats racinaires. *Rev. Ecol. Biol. Sol* 24, p. 485-492.
- Moritsuka N., Yanai J. et Kosaki T., **2001**, Effect of soil heating on the dynamics of soil available nutrients in the rhizosphere. *Soil Sci. Plant Nutr.* 47, p. 323-331.
- Mühling K. H. et Läuchli A., **2003**, Interaction of NaCl and Cd stress on compartmentation pattern of cations, antioxidant enzymes and proteins in leaves of two wheat genotypes differing in salt tolerance. *Plant Soil* 253, p. 219-231.
- Mullins G. L. et Sommers L. E., **1986a**, Cadmium and zinc influx characteristics by intact corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Soil* 96, p. 153-164.
- Mullins G. L. et Sommers L. E., **1986b**, Characterisation of cadmium and zinc in four soils treated with sewage sludge. *J. Environ. Quality* 15, p. 382-387.
- Mullins G. L., Sommers L. E. et Barber S. A., **1986**, Modelling the plant uptake of cadmium and zinc from soils treated with sewage sludge. *Soil Science Society of America Journal* 50, p. 1245-1250.
- Murakami T., Yamada K. et Yoshida S., **1999**, Improved method for easy and rapid determination of root length of vegetables. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45, p. 471-478.
- Mustafa G., Singh B. et Kookana R. S., **2004**, Cadmium adsorption and desorption behaviour on goethite at low equilibrium concentrations: effects of pH and index cations. *Chemosphere* 57, p. 1325-1333.
- Naidu R. et Harter R. D., **1998**, Effect of different organic ligands on cadmium sorption by extractability from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, p. 644-650.
- Nakhone L. N. et Young S. D., **1993**, The significance of (radio-)labile cadmium pools in soil. *Environ. Pollut.* 82, p. 73-77.
- Narbonne J. F. et Boisset M., **1996a**, Chapitre 2. Effets génotoxiques du plomb, du cadmium et du mercure. *dans Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque*, Ed CSHPF. p. 47-69. Lavoisier Technique et Documentation, Paris.
- Narbonne J. F. et Boisset M., **1996b**, Estimation des doses tolérables de cadmium en cas d'ingestion. *dans Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque*, Ed CSHPF. Lavoisier Technique et Documentation, Paris.
- Nedelkoska T. V. et Doran P. M., **2000**, Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnology Bioengineering* 67, p. 607-615.
- Nies D. et Silver S., **1989a**, Metal ion uptake by a plasmid-free metal-sensitive *Alcaligenes eutrophus* strain. *J. Bacteriol.* 171, p. 4073-4075.
- Nies D. et Silver S., **1989b**, Plasmid-determined inducible efflux is responsible for resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* 171, p. 896-900.
- Nirel P. M. V. et Morel F. M. M., **1990**, Pitfalls of sequential extractions. *Water Res.* 24, p. 1055-1056.
- Nocito F. F., Pirovano L., Cocucci M. et Sacchi G. A., **2002**, Cadmium-induced sulfate uptake in maize roots. *Plant Physiol.* 129, p. 1872-1879.
- Nolan A. L., Zhang H. et McLaughlin M. J., **2005**, Prediction of Zinc, Cadmium, Lead, and Copper Availability to Wheat in Contaminated Soils Using Chemical Speciation, Diffusive Gradients in Thin Films, Extraction, and Isotopic Dilution Techniques. *J. Environ. Qual.* 34, p. 496-507.

- Novozamsky I., Lexmond T. M. et Houba V. J. G., **1993**, A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, p. 47-58.
- Nriagu J. O., **1979**, Global Inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. *Nature* 279, p. 409-411.
- Nye P. H., **1966**, The measurement and mechanism of ion diffusion in soil. I. The relation between self-diffusion and bulk diffusion. *J. Soil Sci.* 17, p. 16-23.
- Nye P. H., **1984**, On estimating the uptake of nutrients solubilized near roots or other surfaces. *J. Soil Sci.* 35, p. 439-446.
- Nye P. H., **1992**, Towards the quantitative control of crop production and quality. I. The role of computer models in soil and plant research. *J. Plant Nutr.* 15, p. 1121-1150.
- Nye P. H. et Marriott F. H. C., **1969**, A theoretical study of the distribution of substances around roots resulting from simultaneous diffusion and mass flow. *Plant Soil* 30, p. 459-473.
- Nye P. H. et Tinker, **1977**, Solute movement in the soil-root system. University Of California, Oxford.
- Oates K. M. et Barber S. A., **1984**, Barber-Cushman nutrient uptake model, Purdue.
- Obata H., Inoue N. et Umebayashi M., **1996**, Effects of Cd on plasma membrane ATPase from plant roots differing in tolerance to Cd. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42, p. 361-366.
- Oliver S. et Barber S. A., **1966**, An evaluation of the mechanisms governing the supply of Ca, Mg, K, and Na to soybean roots. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 30, p. 82-86.
- Onyatta J. O. et Huang P. M., **1999**, Chemical speciation and bioavailability index of cadmium for selected tropical soils in Kenya. *Geoderma* 91, p. 87-101.
- Ortiz D. F., Ruscitti T., McCue K. T. et Ow D. W., **1995**, Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *J. Biol. Chem.* 270, p. 4721-4728.
- Page A. L., Bingham F. T. et Chang A. C., **1981**, Cadmium. *dans* Effect of heavy metal pollution on plants. Volume 1. Effects of trace metals on plant function, Ed N. W. Lepp. p. 77-109. Applied Science Publishers, London.
- Pagès L., Vercambre G., Drouet J.-L., Lecompte F., Collet C. et Le Bot J., **2004**, Root Typ: a generic model to depict and analyse the root system architecture. *Plant Soil* 258, p. 103-119.
- Pandeya S. B., Singh A. K. et Jha P., **1998**, Labile pool of cadmium in sludge-treated soils. *Plant Soil* 203, p. 1-13.
- Pardo R., Barrado E., P. L. et Vega M., **1990**, Determination and speciation of heavy metals in sediments of the Pisuerga river. *Water Res.* 24, p. 373-379.
- Peijnenburg W., Baerselman R., de Groot A., Jager T., Leenders D., Posthuma L. et Van Veen R., **2000**, Quantification of metal bioavailability for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in field soils. *Arch. Environ. Contamination* 39, p. 420-430.
- Pence N. S., Larsen P. B., Ebbs S. D., Letham D. L. D., Lasat M. M., Garvin D. F., Eide D. et Kochian L. V., **2000**, The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 97, p. 4956-4960.
- Peterson C. A. et Cholewa E., **1998**, Structural modifications of the apoplast and their potential impact on ion uptake. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 161, p. 521-531.
- Petit C. M., Ringoet A. et Myttenaere C., **1978**, Simulation of cadmium uptake in relation to the cadmium content of plants. *Plant Physiol.* 62, p. 554-557.
- Pickering I. J., Prince R. C., George G. N., Rauser W. E., Wickramasinghe W. A., Watson A. A., Dameron C. T., Dance I. G., Fairlie D. P. et Salt D. E., **1999**, X-ray absorption spectroscopy of cadmium phytochelatin and model systems. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1429, p. 351-364.

- Pineros M. A., Shaff J. E. et Kochian L. V., **1998**, Development, characterization, and application of a cadmium-selective microelectrode for the measurement of cadmium fluxes in roots of *Thlaspi* species and wheat. *Plant Physiol.* 116, p. 1393-1401.
- Prasad M. N. V., **1995**, Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environ. Exper. Bot.* 35, p. 525-545.
- Prüeb A., **1995**, Action values for mobile (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>-extractable) trace elements in soils based on the German national standard DIN 19730. *dans Contaminated Soils. 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris, 15-19 May*, Ed R. Prost. p. 415-423.
- Prüeb A., Turian G. et Schweikle V., **1991**, Ableitung kritischer Gehalte an NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>-extrahierbaren ökotoxikologisch relevanten Spurenelementen in Böden SW-Deutschlands. *Mitt. Dtsch. Bodenkundl. Gesellschaft* 66, p. 1-4.
- Rains D. W., Schmid W. E. et Epstein E., **1964**, Absorption of cations by roots. Effects of hydrogen ions and essential role of calcium. *Plant Physiol.* 39, p. 274-278.
- Ranathunge K., Steudle E. et Lafitte R., **2005**, A new precipitation technique provides evidence for the permeability of Casparian bands to ions in young roots of corn (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ.* 28, p. 1450-1462.
- Rangsayatorn N., Upatham E. S., Kruatrachue M., Pokethitiyook P. et Lanza G. R., **2002**, Phytoremediation potential of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: biosorption and toxicity studies of cadmium. *Environ. Pollut.* 119, p. 45-53.
- Rauser W. E., **1987**, Compartmental efflux analysis and removal of extracellular cadmium from roots. *Plant Physiol.* 85, p. 62-65.
- Rauser W. E., **1995**, Phytochelatin and related peptides. Structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiol.* 109, p. 1141-1149.
- Rauser W. E., **2003**, Phytochelatin-based complexes bind various amounts of cadmium in maize seedlings depending on the time of exposure, the concentration of cadmium and the tissue. *New Phytologist* 158, p. 269.
- Rauser W. E. et Meuwly P., **1995**, Retention of cadmium in roots of maize seedlings. Role of complexation by phytochelatin and related thiol peptides. *Plant Physiol.* 109, p. 195-202.
- Reeves R. D., Schwartz C., Morel J. L. et Edmondson J., **2001**, Distribution and metal-accumulating behaviour of *Thlaspi caerulescens* and associated metallophytes in France. *Int. J. Phytoremediation* 3, p. 145-172.
- Reginato J. C., Palumbo M. C., Moreno I. S., Bernardo I. C. et Tarzia D. A., **2000**, Modeling nutrient uptake using a moving boundary approach: Comparison with the barber-cushman model. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, p. 1363-1367.
- Rélot A., **1999**, Etude en conditions contrôlées de l'influence de la microflore, du statut phosphaté et du zinc sur une plante hyperaccumulatrice : *Thlaspi caerulescens*. *dans DUT Génie Biologique, génie de l'environnement.* p. 40. IUT Louis Pasteur Schiltigheim, Vandoeuvre-les-Nancy.
- Riseman A., Craig R. et Lynch J. P., **2005**, Zinc Uptake and Shoot Partitioning Between Zinc Efficient and Inefficient *Exacum* Genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130, p. 674-679.
- Roca J. et Pomares F., **1991**, Prediction of available heavy metals by six chemical extractants in a sewage sludge-amended soil. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 22, p. 2119-2136.
- Romagni J. G., Meazza G., Dhammika Nanayakkara N. P. et Dayan F. E., **2000**, The phytotoxic lichen metabolite, usinic acid, is a potent inhibitor of plant *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Letters* 480, p. 301-305.

- Römheld V., **1991**, The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in gramineous species - an ecological approach. *Plant Soil* 130, p. 127-134.
- Römheld V. et Awad F., **2000**, Significance of root exudates in acquisition of heavy metals from a contaminated calcareous soil by graminaceous species. *J. Plant Nutr.* 23, p. 1857-1866.
- Römheld V. et Marschner H., **1990**, Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phyrosiderophores. *Plant Soil* 123, p. 147-153.
- Rovira A. D., **1969**, plant root exudates. *The Botanical Review* 35, p. 35-53.
- Rovira A. D., Foster R. C. et Martin J. K., **1979**, Note on terminology : origin, nature and nomenclature of the organic materials in the rhizosphere. *dans* The soil-root interface, Eds L. Harley et R. S. Russell. p. 1-4. Academic Press, New York.
- Sadana U. S. et Claassen N., **2000**, Manganese dynamics in the rhizosphere and Mn uptake by different crops evaluated by a mechanistic model. *Plant Soil* 218, p. 233-238.
- Saha U. K., Iwasaki K. et Sakurai K., **2003**, Desorption behavior of Cd, Zn and Pb sorbed on hydroxyaluminum- and hydroxyaluminosilicate-montmorillonite complexes. *Clays Clay Miner.* 51, p. 481-492.
- Saha U. K., Taniguchi S. et Sakurai K., **2001**, Adsorption Behavior of Cadmium, Zinc, and Lead on Hydroxyaluminum- and Hydroxyaluminosilicate-Montmorillonite Complexes. *Soil Sci Soc Am J* 65, p. 694-703.
- Salt D., Blaylock M., Kumar N. P. B. A., Dushenkov V., Ensley B. D., Chet I. et Raskin I., **1995a**, Phytoremediation : a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/Technology* 13, p. 468-474.
- Salt D. E., Pickering I. J., Prince R. C., Gleba D., Dushenkov S., Smith R. D. et Raskin I., **1997**, Metal Accumulation by Aquacultured Seedlings of Indian Mustard. *Environ. Sci. Technol.* 31, p. 1636-1644.
- Salt D. E., Prince R. C., Pickering I. J. et Raskin I., **1995b**, Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiol.* 109, p. 1427-1433.
- Salt D. E. et Rauser W. E., **1995**, MgATP-dependent transport of phytochelatin across the tonoplast of oat roots. *Plant Physiol.* 107, p. 1293-1301.
- Salt D. E. et Wagner G. J., **1993**, Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. Evidence for a Cd<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> antiport activity. *J. Biol. Chem.* 268, p. 12297-12302.
- Sandalio L. M., Dalurzo H. C., Gomez M., Romero-Puertas M. C. et del Rio L. A., **2001**, Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52, p. 2115-2126.
- Sanita di Toppi L. et Gabbrielli R., **1999**, Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exper. Bot.* 41, p. 105-130.
- Santillan-Medrano J. et Jurinak J. J., **1975**, The chemistry of lead and cadmium in soil: solid phase formation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 39, p. 851-856.
- Satarug S., Nishijo M., Ujjin P., Vanavanitkun Y. et Moore M. R., **2005**, Cadmium-induced nephropathy in the development of high blood pressure. *Toxicology Letters* 157, p. 57-68.
- Sattelmacher B., **2001**, The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. *New Phytologist* 149, p. 167-192.
- Schmitt-Sirguy C., **2004**, Dynamique du Cd disponible du sol sous l'influence de l'hyperaccumulateur *Thlaspi caerulescens*. *dans* Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. p. 137. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-Les-Nancy.



- Schofield R. K. et Graham-Bryce I. J., **1960**, Diffusion of ions in soils. *Nature* 188, p. 1048-1049.
- Schreiber L., Hartmann K., Skrabs M. et Zeier J., **1999**, Review article. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *J. Exp. Bot.* 50, p. 1267-1280.
- Schwartz C., **1997**, Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*. dans sciences agronomiques. p. 175, Nancy.
- Senden M., van der Meer A., Verburg T. et Wolterbeek H., **1995**, Citric acid in tomato plant roots and its effect on cadmium uptake and distribution. *Plant Soil* 171, p. 333-339.
- Sery A., Manceau A. et Greaves G. N., **1996**, Chemical state of Cd in apatite phosphate ores as determined by EXAFS spectroscopy. *American Mineralogist* 81, p. 864-873.
- Sharma S. S., Kaul S., Metwally A., Goyal K. C., Finkemeier I. et Dietz K.-J., **2004**, Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. *Plant Sci.* 166, p. 1287-1295.
- Shenker M., Fan T. W.-M. et Crowley D. E., **2001**, Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. *J. Environ. Quality* 30, p. 2091-2098.
- Shuman L. M., **1988**, Effect of organic matter on the distribution of manganese, copper, iron, and zinc in soil fractions. *Soil Sci.* 146, p. 192-198.
- Silberbush M. et Barber S. A., **1983a**, Prediction of phosphorus and potassium uptake by soybeans with a mechanistic mathematical model. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, p. 262-265.
- Silberbush M. et Barber S. A., **1983b**, Sensitivity of simulated phosphorus uptake to parameters used by a mechanistic-mathematical model. *Plant Soil* 74, p. 93-100.
- Silva W. P. et Silva C. M. D. P. S., **2006**, LAB Fit Curve Fitting Software (Nonlinear Regression and Treatment of Data Program), Brazil.
- Singh B. R., Narwal R. P., Jeng A. S. et Almas A., **1995**, Crop uptake and extractability of cadmium in soils naturally high in metals at different pH levels. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 26, p. 2123-2142.
- Skinner A. J. et Lafemina J. P., **1994**, Structure and bonding of calcite: A theoretical study. *American Mineralogist* 79, p. 205-214.
- Slavek J., Waller P. et Pickering W. F., **1990**, Labile metal content of sediments--fractionation scheme based on ion-exchange resins. *Talanta* 37, p. 397-406.
- Smeyers-Verbeke J., De Graeve M., Francois M. et De Jaegere R., **1978**, Cd uptake by intact wheat plants. *Plant Cell Environ.* 1, p. 291-296.
- Smiejan A., Wilkinson K. J. et Rossier C., **2003**, Cd bioaccumulation by a freshwater bacterium, *Rhodospirillum rubrum*. *Environ. Sci. Technol.* 37, p. 701-706.
- Smolders E., Brans K., Földi A. et Merckx R., **1999**, Cadmium fixation in soils measured by isotopic dilution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, p. 78-85.
- Smolders E. et McLaughlin M. J., **1996a**, Chloride increases cadmium uptake in swiss chard in a resin-buffered nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, p. 1443-1447.
- Smolders E. et McLaughlin M. J., **1996b**, Effect of Cl on Cd uptake by Swiss chard in nutrient solutions. *Plant Soil* 179, p. 57-64.
- Souza J. F. et Rauser W. E., **2003**, Maize and radish sequester excess cadmium and zinc in different ways. *Plant Sci.* 165, p. 1009-1022.
- Springob G. et Böttcher J., **1998**, Parameterization and regionalization of Cd sorption characteristics of sandy soils. II. Regionalization: Freundlich *k* estimates by pedotransfer functions. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 161, p. 689-696.

- Springob G., Tetzlaff D., Schön A. et Böttcher J., **2001**, Quality of estimated Freundlich parameters of Cd sorption from pedotransfer functions to predict cadmium concentrations of soil solution. *dans* Trace elements in soils. Bioavailability, flux, and transfert, Eds I. K. Iskandar et K. M.B. p. 229-245. Lewis Publishers, London.
- Srayeddin I., **2004**, Utilisation de la dilution isotopique et de l'extraction chimique pour la mesure du cadmium phytodisponible du sol. p. 27. Université Henri Poincaré, Nancy.
- Steingrobe B., Claassen N. et Syring K. M., **2000**, The effect of the function type for describing the soil buffer power on calculated ion transport to roots and nutrient uptake from the soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, p. 459-465.
- Sterckeman T., **2000**, Comparaison de trois méthodes d'extraction chimique d'estimation de la phytodisponibilité de Cd, Cu, Pb et Zn pour le blé. p. 50. INRA, Arras.
- Sterckeman T., Duquene L., Perriguet J. et Morel J. L., **2005**, Quantifying the effect of rhizosphere processes on the availability of soil cadmium and zinc. *Plant Soil* 276, p. 335-345.
- Sterckeman T., Perriguet J., Caël M., Schwartz C. et Morel J. L., **2004**, Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant Soil* 262, p. 289-302.
- Stuedle E. et Peterson C. A., **1998**, How does water get through roots? *J. Exp. Bot.* 49, p. 775-788.
- Stevenson F. J., **1976**, Stability constants of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , and  $\text{Cd}^{2+}$  complexes with humic acids. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40, p. 665-672.
- Street J. J., Lindsay W. L. et Sabey B. R., **1977**, Solubility and plant uptake of cadmium in soils amended with cadmium and sewage sludge. *J. Environ. Quality* 6, p. 72-77.
- Sun Q., Wang X. R., Ding S. M. et Yuan X. F., **2005**, Effects of exogenous organic chelators on phytochelatin production and its relationship with cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) under cadmium stress. *Chemosphere* 60, p. 22-31.
- Suzuki N., **2005**, Alleviation by calcium of cadmium-induced root growth inhibition in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Biotechnology* 22, p. 19-25.
- Symeonides C. et McRae S. G., **1977**, The assessment of plant-available cadmium in soils. *J. Environ. Quality* 6, p. 120-123.
- Syring K. M. et Claassen N., **1995**, Estimation of the influx and the radius of the depletion zone developing around a root during nutrient uptake. *Plant Soil* 175, p. 115-123.
- Tennant D., **1975**, A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* 63, p. 995-1001.
- Tessier A., Campbell P. G. C. et Bisson N., **1979**, Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51, p. 844-850.
- Thiry M. et Van Oort F., **1999**, De l'échantillonnage à la spéciation : pertinence des analyses minéralogiques par diffraction des rayons X dans les sites et sols pollués par des métaux. *dans* Spéciation des métaux dans les sols, Ed A. ECRIN. p. 96-107, Paris.
- Thornton I., **1988**, Metal content of soils and dusts. Morgan H, editor. The Shipham Report. *Sci. Total Environ.* 75, p. 21-39.
- Tiller K. G., Gerth J. et Brümmer G., **1984**, The relative affinities of Cd, Ni and Zn for different soil clay fractions and goethite. *Geoderma* 34, p. 17-35.
- Tinker P. B. et Nye P. H., **2000**, Solute movement in the rhizosphere. Oxford University press, Oxford. 444 p.
- Tipping E., **1994**, WHAM - a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computers & Geosciences* 20, p. 973-1023.

- Tonin C., **2003**, Approche de la diversité et de la fonction de champignons mycorhiziens à arbuscules associés à *Viola calaminaria*. dans Centre de Pédologie Biologique. p. 233. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy.
- Traina S. J., **1999**, The Environmental chemistry of cadmium, *An overview*. dans Cadmium in Soils and Plants, Eds M. J. McLaughlin et B. R. Singh. p. 11-37. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Trouvelot A., Kough J. L. et Gianinazzi-Pearson V., **1986**, Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. dans Physiological and genetical aspects of mycorrhizae, Paris, Eds V. Gianinazzi-Pearson et S. Gianinazzi. p. 217-221.
- Tu C., Zheng C. R. et Chen H. M., **2000**, Effect of applying chemical fertilizers on forms of lead and cadmium in red soil. *Chemosphere* 41, p. 133-138.
- Tudoreanu L. et Phillips C. J., **2004a**, Empirical models of cadmium accumulation in maize, rye grass and soya bean plants. *J Sci. Food Agri.* 84, p. 845-852.
- Tudoreanu L. et Phillips C. J. C., **2004b**, Modeling Cadmium Uptake and Accumulation in Plants. *Adv. Agron. Volume 84*, p. 121-157.
- Uchida E., Ouchi T., Suzuki Y., Yoshida T., Habe H., Yamaguchi I., Omori T. et Nojiri H., **2005**, Secretion of bacterial xenobiotic-degrading enzymes from transgenic plants by an apoplastic expressional system: An applicability for phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* 39, p. 7671-7677.
- van der Lee J., **1998**, Thermodynamic and mathematical concepts of CHESS. p. 99. Ecole des Mines de Paris, Fontainebleau.
- Van Rees K. C. J., Comerford N. B. et Rao P. S. C., **1990**, Defining soil buffer power: Implications for ion diffusion and nutrient uptake modelling. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, p. 1505-1507.
- Vangronsveld J. et Clijsters H., **1994**, Toxic effects of metals. dans *Plants and the Chemical Elements, Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity*, Ed M. E. Farago. p. 150-177. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, D.
- Vazquez M. D., Barcelo J., Poschenrieder C., Madico J., Hatton P., Baker A. J. M. et Cope G. H., **1992**, Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. *J. Plant Physiol.* 140, p. 350-355.
- Vivas A., Barea J. M. et Azcon R., **2005**, Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *Environ. Pollut.* 134, p. 257-266.
- Vögeli-Lange R. et Wagner G. J., **1990**, Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. Implication of a transport function for cadmium-binding peptides. *Plant Physiol.* 92, p. 1086-1093.
- Vögeli-Lange R. et Wagner G. J., **1996**, Relationship between cadmium, glutathione and cadmium-binding peptides (phytochelatins) in leaves of intact tobacco seedlings. *Plant Sci.* 114, p. 11-18.
- von Wirén N., Marschner H. et Römheld V., **1996**, Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. *Plant Physiol.* 111, p. 1119-1125.
- Waalkes M. P., **2003**, Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research* 533, p. 107-120.
- Waisberg M., Joseph P., Hale B. et Beyersmann D., **2003**, Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 192, p. 95-117.
- Warncke D. D. et Barber S. A., **1974**, Root development and nutrient uptake by corn grown in solution culture. *Agron. J.* 66, p. 514-516.
- Wegglar K., McLaughlin M. J. et Graham R. D., **2004**, Effect of chloride in soil solution on the plant availability of biosolid-borne cadmium. *J. Environ. Quality* 33, p. 496-504.

- Weissenhorn I. et Leyval C., **1995**, Root colonization of maize by a Cd-sensitive and a Cd-tolerant *Glomus mosseae* and cadmium uptake in sand culture. *Plant Soil* 175, p. 233-238.
- Weissenhorn I. et Leyval C., **1996**, Spore germination of arbuscular mycorrhizal fungi in soils differing in heavy metal content and other parameters. *European Journal of Soil Biology* 32, p. 165-172.
- Weissenhorn I., Leyval C., Belgy G. et Berthelin J., **1995a**, Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* 5, p. 245-251.
- Weissenhorn I., Leyval C. et Berthelin J., **1993**, Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy metals-polluted soils. *Plant Soil* 157, p. 247-256.
- Weissenhorn I., Leyval C. et Berthelin J., **1995b**, Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza in a soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. *Biol. Fertility Soils* 19, p. 22-28.
- Weissenhorn I., Mench M. et Leyval C., **1995c**, Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage-sludge-amended sandy soil. *Soil Biol. Biochem.*, p.
- Welch R. M., **1995**, Micronutrient nutrition of plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14, p. 49-82.
- Welch R. M., Hart J. J., Norvell W. A., Sullivan L. A. et Kochian L. V., **1999**, Effects of nutrient solution zinc activity on net uptake, translocation, and root export of cadmium and zinc by separated sections of intact wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*) seedling roots. *Plant Soil* 208, p. 243-250.
- Welch R. M. et Norvell W. A., **1999**, Mechanisms of Cadmium uptake, translocation and deposition in plants. *dans* Cadmium in Soils and Plants, Eds M. J. McLaughlin et B. R. Singh. p. 125-150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Weng L., Temminghoff E. J. M., Lofts S., Tipping E. et Van Riemsdijk W. H., **2002**, Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil. *Environ. Sci. Technol.* 36, p. 4804-4810.
- Wenzel W. W., Wieshammer G., Fitz W. J. et Puschenreiter M., **2001**, Novel rhizobox design to assess rhizosphere characteristics at high spatial resolution. *Plant Soil* 237, p. 37-45.
- White P. J., Whiting S. N., Baker A. J. M. et Broadley M. R., **2002**, Does zinc move apoplastically to the xylem in roots of *Thlaspi caerulescens*? *New Phytologist* 153, p. 201-207.
- Whiting S. N., De Souza M. P. et Terry N., **2001**, Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Environmental Science and Technology* 35, p. 3144-3150.
- Williams C. R. et Harrison R. M., **1984**, Cadmium in the atmosphere. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* V40, p. 29-36.
- Wu Q. T., **1989**, Biodisponibilité du cadmium dans les systèmes sol-plante. *dans* Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. p. 101. Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy.
- Wu Q. T., Morel J. L. et Guckert A., **1994**, A mechanistic model for predicting the transfert of heavy metals in the soil-solution-plant system. *dans* 15th World Congress of Soil Science, Transactions, Volume 3a: commission II symposia., Acapulco, Mexico 10-16 july, 1994. p. 586-597.
- Wu Q. T., Xu Z., Meng Q., Gérard E. et Morel J. L., **2004**, Characterization of cadmium desorption in soils and its relationship to plant uptake and cadmium leaching. *Plant Soil* 258, p. 217-226.
- Xian X. et Shokohifard G. I., **1989**, Effect of pH on chemical forms and plant availability of cadmium, zinc and lead in polluted soils. *Water Air and Soil Pollution* 45, p. 265-273.

- Yang H. S., Cheung A. P., Han D. K., Sim J. C., Lee E. J. et Kim J. H., **2002**, Cadmium-induced toxicity on testicular tissue and spermatogenesis in rats and the protective effects of [alpha]-tocopherol. *Fertility and Sterility* 78, p. S274-S275.
- Young S. D., Tye A., Carstensen A., Resende L. et Crout N., **2000**, Methods for determining labile cadmium and zinc in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 51, p. 129-136.
- Zachara J. M., Cowan C. E. et Resch C. T., **1991**, Sorption of divalent metals on calcite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 55, p.
- Zhang F.-S., Römheld V. et Marschner H., **1991a**, Diurnal rhythm of release of phytosiderophores and uptake rate of zinc in iron-deficient wheat. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37, p. 671-678.
- Zhang F. S., Römheld V. et Marschner H., **1991b**, Role of root apoplasm for iron acquisition by wheat plants. *Plant Physiol.* 97, p. 1302-1305.
- Zhang H., Davison W., Knight B. et McGrath S., **1998**, In Situ measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. *Environ. Sci. Technol.* 32, p. 704-710.
- Zhao F.-J., Hamon R. E., Lombi E., McLaughlin M. J. et McGrath S. P., **2002**, Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *J. Exp. Bot.* 53, p. 535-543.
- Zhao F. J., Hamon R. E. et McLaughlin M. J., **2001**, Root exudates of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* do not enhance metal mobilization. *New Phytologist* 151, p. 613-620.
- Zimmermann H. M., Hartmann K., Schreiber L. et Steudle E., **2000**, Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). *Planta* 210, p. 302-311.
- Zimmermann H. M. et Steudle E., **1998**, Apoplastic transport across young maize roots: effect of the exodermis. *Planta* 206, p. 7-19.



# Annexe I. Evaluation de la mycorhization du maïs et de plusieurs écotypes du tabouret calaminaire

## 1. Introduction

L'association symbiotique de la racine d'une plante avec un champignon peut dans certains cas augmenter le prélèvement de Cd alors que dans d'autres cas les mycorhizes jouent le rôle de filtre en limitant le transfert du métal à la plante. Ce type de processus n'étant pas formalisé dans le modèle de Barber-Cushman, il convenait donc de caractériser le taux de mycorhization du système racinaire dans les mêmes conditions de culture en pot pour les deux plantes utilisées au cours de notre travail, le tabouret calaminaire (*Thlaspi caerulescens*) et le maïs (*Zea mays*).

Le tabouret calaminaire appartient à la famille des Brassicaceae, réputée comme l'une des rares à ne pas être mycorhizée. Cette plante sauvage présente une forte variabilité génétique inter-spécifique, c'est pourquoi nous avons utilisé 10 de ses écotypes. Nous avons également utilisé le tabouret des champs (*T. arvense*), à titre de témoin.

Le maïs est en revanche très souvent mycorhizé. Toutefois les conditions édaphiques doivent être favorables et le temps de culture suffisant. Il n'est donc pas certain que les cultures de 12 et 24 jours dans nos essais aient permis le développement d'arbuscules dans les racines de maïs.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Culture des champignons et extraction des spores

Les champignons utilisés étaient *Glomus mosseae* (BEG12, culture non tolérante au métaux), et *G. mosseae* P2 (BEG69, culture tolérante au métal, issue de sol pollué – Weissenhorn *et al.*, 1993). Les spores ont été mises à germer puis inoculées à une culture de poireau (*Allium porrum*). C'est ainsi que les souches de champignon sont conservées et sélectionnées chaque année. Après un an environ de culture du poireau sur des pots de 500 g ou 1 kg d'attapulгите (Terragreen<sup>®</sup>) (pour *G. mosseae* BEG12) ou de mélange de terre (20 ppm de Cd) 1:1 et d'attapulгите (pour *G. mosseae* P2 BEG12), les spores sont dénombrées selon le protocole qui suit.

Une première étape d'extraction à l'eau a permis d'éliminer toute matière organique indésirable. Dix grammes de substrat ont été mélangés à environ 45 ml d'eau distillée, et ont été centrifugés à 600 g durant 5 min. Le surnageant a été remplacé par une solution (environ 45 ml) de saccharose à 50% (poids/volume) permettant de séparer les spores par gradient de densité. Le culot a été remis en suspension et les tubes ont de nouveau été centrifugés à 600 g durant 1 minute avec une décélération minimale. Les spores étaient dans le surnageant, elles

ont ainsi été récupérées sur un tamis (63 µm) et rincées à l'eau distillée. Les spores ont ensuite été dénombrées sur papier quadrillé sous la loupe binoculaire, afin de caractériser les lots provenant des différents pots de culture.

## 2.2. Culture et inoculation

### 2.2.1. Germination préalable des plantes

#### 2.2.1.1. *Thlaspi* sp.

Les graines de *Thlaspi* sp. provenaient de deux espèces différentes : *T. cærulescens* et *T. arvense*. Cette dernière n'est pas hyperaccumulatrice de métaux, contrairement à *T. cærulescens* pour laquelle 10 écotypes différents ont été utilisés dans cet essai de mycorhization. Les graines ont germé à l'obscurité à 20 °C, sur du papier filtre humidifié par du coton placé dans une boîte de Pétri. Les plantules ont été transférées dans des solutions hydroponiques dès que la racine apparaissait. Le développement racinaire de tabouret est relativement lent les premières semaines et la durée de vie des hyphes mycéliens après germination des spores est estimée à deux semaines s'il n'y a pas rencontre avec une racine jeune. Ainsi, pour maximiser les chances de rencontre entre les racines jeunes et les hyphes, les spores seront mises en contact avec des plants âgés de 30 jours.

#### 2.2.1.2. *Zea mays*

Les grains de maïs (MB862) ont germé à l'obscurité et à 20 °C sur du papier filtre humidifié par du coton. Dès l'apparition de la racine (après 3 à 4 jours environ) les plantules ont été transférées dans les pots.

#### 2.2.1.3. *Allium porrum*

Les graines de poireau ont germé dans les mêmes conditions que celles mises en place pour le maïs. Les plantules ont été transférées sur les pots après 5 jours environ.

### 2.2.2. Culture hydroponique des populations de *Thlaspi* sp.

La culture hydroponique a été réalisée dans les conditions suivantes : photopériode de 16 h, 20 °C le jour et 17°C la nuit, 80 % d'humidité de l'air. La solution nutritive utilisée était celle de Mullins et Sommers (1986a) :  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  1 mM ;  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  0,5 mM ;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 mM ;  $\text{MgSO}_4$  1 mM ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1,5 mM ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  46 µM ;  $\text{KCl}$  20 µM ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  0,3 µM ;  $\text{EDTA-Fe-Na}$  75 µM ;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  9 µM ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  0,8 µM ;  $\text{ZnSO}_4$  0,8 µM. Après 1 semaine de germination environ les plantules ont été placées dans les dispositifs "boîtes magentas" (Rélot, 1999) contenant 100 ml de solution nutritive. La culture hydroponique a été menée durant 30 jours pour obtenir la quantité de racines escomptée. Nous avons cultivé 12 plantules par populations en hydroponie, et 6 parmi les mieux développées ont été sélectionnées pour la culture en terre.



### 2.2.3. Préparation des pots et installation de la culture

#### 2.2.3.1. *Thlaspi* sp.

Des pots contenant 200 grammes de terre agricole de texture limono-argileuse (Tableau 1, Chapitre II) ont été inoculés en disposant en leur centre 5 g d'une préparation de terre qui contenait environ 500 spores. Cet inoculum était constitué d'un mélange, en quantités égales de *Glomus mosseae* et *Glomus mosseae* P2, et de terre additionnée d'attapulгите. Le sol a été progressivement amené à une humidité de 60 à 80 % de la capacité au champ. La germination des spores a nécessité environ 15 jours. Une semaine après humidification du sol, les plantules de *Thlaspi* sp. ont été transplantées dans les pots, et les racines mises en contact avec l'inoculum. Les six répétitions de chacun des 11 taxons de *Thlaspi* ont été disposées en randomisation totale au phytotron (16 h photopériode, 80 % d'humidité, 22 °C jours / 16 °C nuit), pendant trois mois. Les arrosages ont été réalisés par pesées afin de maintenir une humidité du sol entre 60 et 80 % de la capacité au champ.

#### 2.2.3.2. *Zea mays*

Le maïs a été cultivé pendant 12 jours et 24 jours dans des pots contenant respectivement 2,2 et 4 kg de sol de Vannecourt. Les pots ont été inoculés de la même manière que pour la culture des tabourets. L'humidité du sol a été maintenue à 80 % de la capacité au champ. Pour chaque temps de culture, nous avons réalisé 4 répétitions. La culture a été menée en phytotron dans les conditions suivantes : 16 h de photopériode, 80 % d'humidité relative, 25 °C jours / 18 °C nuit.

#### 2.2.3.3. *Allium porrum*

Les poireaux ont joué le rôle de témoins positifs. Comme pour le tabouret, des pots contenant 200 g de sol ont été inoculés par des spores puis ont accueillis une dizaine de semis de poireau. Deux pots ont été placés dans les mêmes conditions d'humidité et de culture que celles mises en place pour le tabouret, deux autres pots ont été placés dans les conditions de la culture de maïs.

### 2.2.4. Récolte

Dans le cas de *Thlaspi* sp., une première récolte a été effectuée après un mois de culture en pot (plants âgés de deux mois), puis une deuxième récolte après deux mois de culture (plants âgés de trois mois). La première récolte a consisté à vérifier la mycorhization sur un plant par population. Les poireaux ont été récoltés après un mois, un mois et demi et deux mois de culture. Les plants de maïs ont été récoltés après 12 et 24 jours. Pour toutes les cultures, les parties aériennes ont été coupées, et les racines extraites du sol. Les racines ont été lavées à l'eau tiède pour enlever les particules de sol adhérent.

## 2.3. Observation en lame mince

### 2.3.1. Coloration des racines

Les racines ont été coupées en fragments (environ 1 cm) et immergées successivement dans différentes solutions. Entre chaque solution les racines ont été rincées à l'eau distillée. La succession des bains fut la suivante :

- une solution d'éthanol à 50 %, durant une nuit ;
- une solution de potasse (KOH à 1%) durant 15 minutes à 20 °C, puis au bain marie à 80 °C durant 15 minutes ;
- une solution d'acide chlorhydrique (HCl à 1 %) durant une nuit ;
- une solution de bleu Trypan à 0,5 % (glycérol 500 mL, H<sub>2</sub>O 450 mL, HCl 1% 50 mL, bleu Trypan 0,5 g) durant au minimum une demi-journée ;
- enfin une solution de décoloration (glycérol 500 mL, H<sub>2</sub>O 450 mL, HCl 1% 50 mL) durant 2 heures.

### 2.3.2. Préparation et observation des lames

Les lames ont été observées en microscopie optique afin de chercher la présence d'arbuscules dans les racines. Pour chaque échantillon, trois lames de 10 fragments de racines ont été préparées. Chaque échantillon représentait une répétition de tabouret ou de maïs, alors que dans la cas du poireau, un échantillon correspondait à six plants.

### 2.3.3. Paramètres d'estimation

Le taux de mycorhization est alors estimé par la méthode de Trouvelot *et al.* (1986). Lors de l'observation des lames, deux valeurs sont mesurées : un indice d'intensité de mycorhization (*M*) des racines par les hyphes (Figure AI-1) et un indice de richesse arbusculaire (*A*) (Figure AI-2).

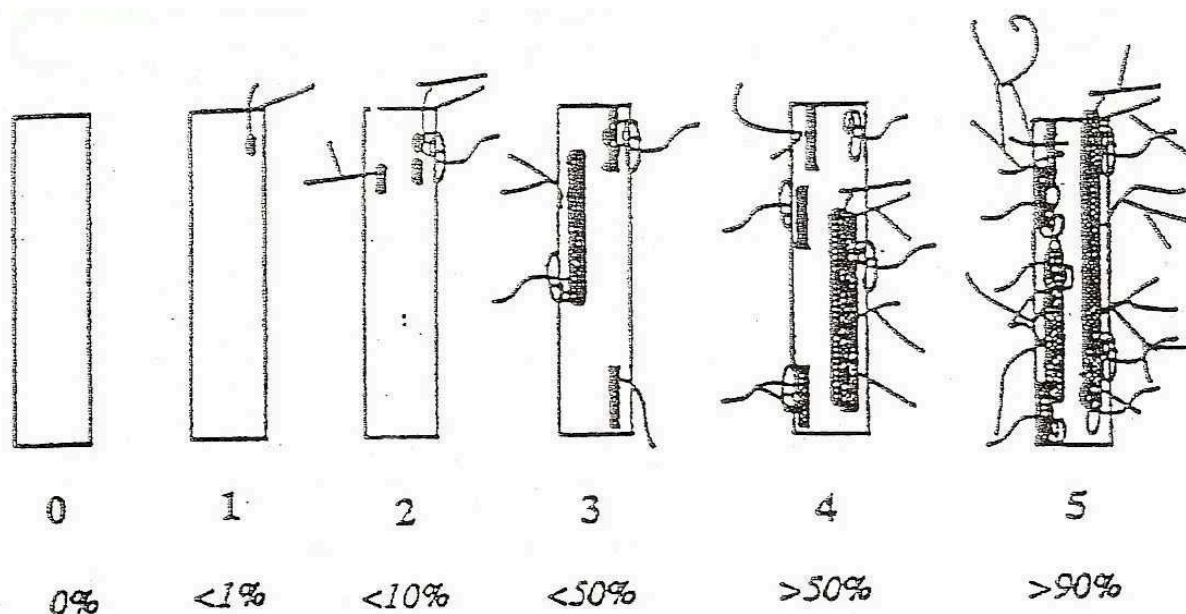


Figure AI-1. Valeurs des classes de mycorhization de 0 à 5 correspondant à 0 : pas d'infection ; 1 : trace ; 2 : moins de 10 % ; 3 : de 11 à 50 % ; 4 : de 51 à 90 % ; 5 : plus de 90 % (d'après Trouvelot *et al.*, 1986).

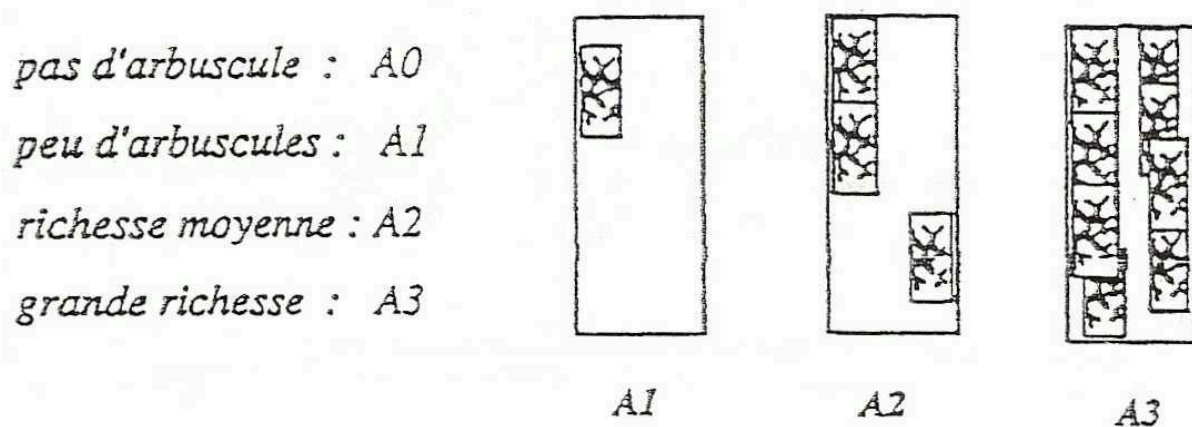


Figure AI-2. Valeurs des classes de richesse arbusculaire de 0 à 3 correspondant à A0 : 0 % ; A1 : 10 % ; A2 : 50 % ; A3 : 100 % (d'après Trouvelot *et al.*, 1986).

La fréquence de mycorhization a été calculée selon l'expression :

$$F(\%) = \frac{n \times 100}{N},$$

où  $n$  : nombre de fragments mycorhizés et  $N$  : nombre total de fragments.

L'intensité globale de mycorhization du cortex a été appréciée par :

$$M(\%) = \frac{(95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1)}{N},$$

où les  $n_x$  représentent le nombre de fragment de la classe de mycorhization  $x$  (Figure AI-1 ; 1 : 1%, 2 : 5%, 3 : 30%, 4 : 70%, 5 : 95%),

$$\text{et } m(\%) = \frac{M \times 100}{F}$$

La richesse arbusculaire du système racinaire est donnée par :

$$A(\%) = \frac{a \times M}{100},$$

où  $a$  est la richesse arbusculaire de la partie mycorhizée.

$$a(\%) = \frac{100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1}{100},$$

où les  $A_x$  correspondent à une classe  $x$  de richesse en arbuscules (Figure AI-2 ; 1 : 10%, 2 : 50%, 3 : 100%). Les grandeurs  $mA_3$ ,  $mA_2$ ,  $mA_1$  sont les pourcentages de  $m$  respectivement affectés des classes  $A_3$ ,  $A_2$ ,  $A_1$ ,

$$\text{ainsi } mA_x = \frac{95n_5A_x + 70n_4A_x + 30n_3A_x + 5n_2A_x + n_1A_x}{n} \times \frac{100}{m}.$$

### 3. Résultats et discussion

L'examen des racines en lame mince a révélé la présence d'hyphes, de vésicules et de nombreux arbuscules dans les cellules racinaires des poireaux. Ce résultat s'observait déjà après un mois de culture. Après deux mois de culture les racines de poireau étaient presque toutes infectées par les hyphes. Ces derniers occupaient environ 60 % des racines avec une teneur en arbuscules très élevée atteignant 40 % (Tableau AI-1). Les conditions étaient donc favorables à l'installation du champignon dans les plantes.

Concernant les racines de maïs, 10 % étaient infectées après 12 jours de culture et presque 30 % après 24 jours. Cette fréquence de mycorhization peut avoir un effet significatif sur la croissance de la plante et sur l'absorption. Toutefois le pourcentage de cortex mycorhizé restait très faible. La richesse d'arbusculaire était inférieure à 1 % dans les racines âgées de 24 jours, alors qu'elle était nulle après 12 jours de culture. L'effet des mycorhizes sur le prélèvement de Cd par le maïs ou de sa séquestration par le champignon a donc été probablement limité dans ces conditions de culture.

Par ailleurs, la présence d'hyphes autour des racines a été constatée après observation des lames de racines de tabouret calaminaire âgé de 3 mois, bien que plus abondants à deux mois, en raison de leur dépérissement par la suite et de la fin des germinations des spores de l'inoculum à trois mois. Cependant, aucune structure d'arbuscule n'a été découverte pour l'ensemble des populations.

**Tableau AI-1. Paramètres d'estimation de mycorhization des racines de poireau, maïs et des tabourets : fréquence de mycorhization ( $F$ ), intensité de mycorhization du cortex ( $M$ ), et richesse arbusculaire ( $A$ ). Les chiffres entre parenthèses représentent les écarts types sur 4 répétitions.**

mycorhization (%)	Poireau			Maïs		Tabouret
	1 mois	1 mois 1/2	2 mois	12 jours	24 jours	2 et 3 mois
Fréquence, $F$	40,00	57,14	93,33	10.8 (10.0)	28.3 (14.5)	/
Intensité, $M$	6,53	14,53	57,50	0.4 (0.6)	2.2 (2.7)	/
Teneur arbusculaire, $A$	2,72	5,93	39,43	/	0.9 (1.6)	/

Nous avons vérifié que les prélèvements du tabouret et des maïs âgés de 12 ou 24 jours n'ont probablement pas été modifiés par la présence de champignons mycorhiziens lors des cultures décrites dans le chapitre 2. Toutefois une culture de maïs de plus de 24 jours risquerait d'être influencée par les mycorhizes.

Aucune généralisation n'est possible, les mycorhizes tantôt augmentent, diminuent ou encore n'ont aucun effet sur le transfert des éléments vers la plante. Une meilleure connaissance des nombreux paramètres d'influence et une compréhension des effets des champignons mycorhiziens sur la dynamique des éléments en traces permettraient de modéliser l'effet des mycorhizes sur le prélèvement.

## Annexe II. Etude simple de la spéciation du cadmium dans la solution du sol

La quantité de cadmium absorbable par la plante a été considérée comme la quantité totale de Cd en solution. Des calculs de spéciation du cadmium en solution ont été réalisés à partir des solutions de sol de la culture du maïs. Deux modèles ont été testés : le modèle WHAM (Tipping, 1994) et le modèle CHESS (van der Lee, 1998). Le premier tient compte de la présence de composés organiques simples alors qu'avec le modèle CHESS nous n'avons pas pris en compte la matière organique. Les calculs de spéciation du cadmium en solution montrent que tout le cadmium n'est pas sous forme directement absorbable par les racines.

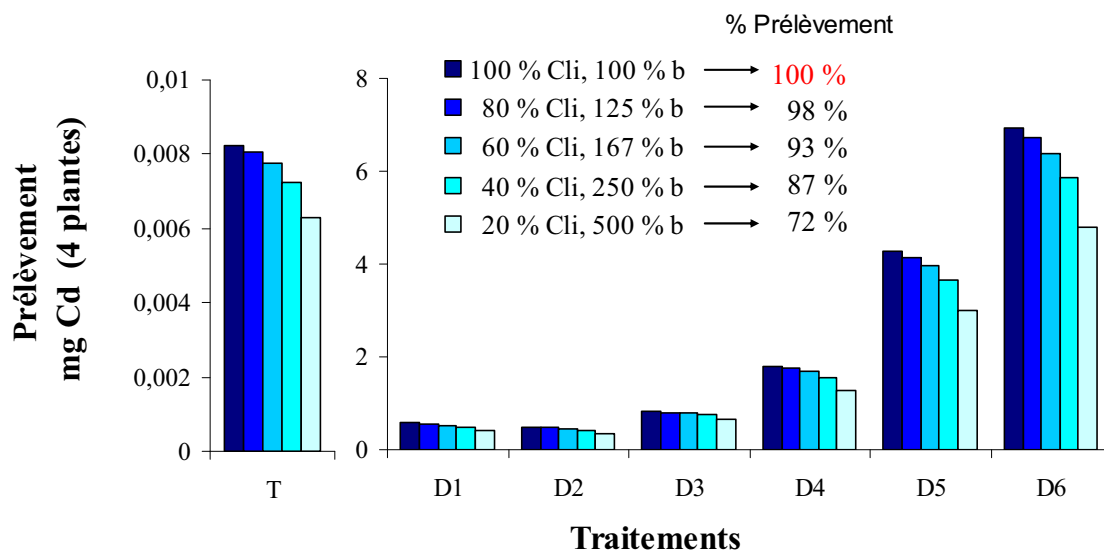
**Tableau AII-1. Spéciation du cadmium en solution selon les modèles CHESS et WHAM**

Modèle CHESS	D2	D4	D6	Modèle WHAM	D2	D4	D6
	1 mg Cd kg <sup>-1</sup>	3 mg Cd kg <sup>-1</sup>	7 mg Cd kg <sup>-1</sup>		1 mg Cd kg <sup>-1</sup>	3 mg Cd kg <sup>-1</sup>	7 mg Cd kg <sup>-1</sup>
	Concentration, mol L <sup>-1</sup>				Concentration, mol L <sup>-1</sup>		
Cd <sup>2+</sup>	1.25E-08	5.10E-08	1.85E-07	Cd <sup>2+</sup>	1.92E-09	3.18E-09	5.13E-08
CdCl <sup>+</sup>	5.46E-09	2.34E-08	1.33E-07	Cd(CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	4.17E-10	7.12E-09	5.13E-08
CdNO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	2.61E-10	1.22E-09	6.33E-09	CdCl <sup>+</sup>	1.54E-10	2.64E-10	6.75E-09
CdCl <sub>2</sub>	2.73E-11	1.23E-10	1.18E-09	CdSO <sub>4</sub>	3.38E-11	5.42E-11	1.02E-09
CdHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	1.55E-11	7.89E-11	2.05E-10	CdHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	2.08E-11	8.23E-11	1.16E-09
CdOH <sup>+</sup>	8.41E-12	4.27E-11	1.11E-10	CdCl <sub>2</sub>	6.97E-13	1.26E-12	5.30E-11
Cd(OH)Cl	4.29E-12	2.30E-11	1.01E-10	CdCO <sub>3</sub>	2.89E-13	4.85E-12	3.04E-11
CdSO <sub>4</sub>	2.77E-13	1.08E-12	4.69E-12	CdOH <sup>+</sup>	4.64E-14	3.24E-13	2.23E-12
CdCO <sub>3</sub>	2.49E-13	1.59E-12	3.16E-12	Cd(OH) <sub>2</sub>	9.41E-19	2.79E-17	8.58E-17
Cd(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	1.49E-13	7.57E-13	2.11E-12	<b>Cd total</b>	1.83E-08	7.59E-08	3.26E-07
CdCl <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.02E-14	4.88E-14	8.49E-13	<b>Cd org</b>	1.57E-08	6.46E-08	2.13E-07
Cd(OH) <sub>2</sub>	4.94E-15	3.15E-14	6.25E-14	<b>Cd inorg</b>	2.55E-09	1.07E-08	1.12E-07
Cd(CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	4.21E-17	4.30E-16	6.21E-16	<b>Part Cd org, %</b>	85.5	85.1	65.4
CdP <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	1.54E-17	2.22E-17	4.29E-17	<b>Part Cd inorg, %</b>	13.9	14.1	34.2
Cd(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	1.15E-18	7.37E-18	1.58E-17	<b>Part Cd<sup>2+</sup>, %</b>	<b>10.5</b>	<b>4.2</b>	<b>15.7</b>
Cd <sub>2</sub> OH <sup>3+</sup>	9.72E-19	2.03E-17	2.20E-16	<b>Part Cd<sup>2+</sup>, % inorg</b>	75.41	29.68	45.97
Cd(OH) <sub>3</sub> <sup>-</sup>	8.22E-21	6.61E-20	1.08E-19				
<b>Cd total</b>	1.83E-08	7.59E-08	3.26E-07				
<b>Part Cd inorg, %</b>	100.0	100.0	100.0				
<b>Part Cd<sup>2+</sup>, %</b>	<b>68.5</b>	<b>67.2</b>	<b>56.8</b>				
<b>Part Cd<sup>2+</sup>+CdCl<sup>+</sup>, %</b>	<b>98.3</b>	<b>98.0</b>	<b>97.6</b>				

Le résultat est assez surprenant avec WHAM puisque ce dernier considère que 65 à 85 % du cadmium est complexé à la matière organique et donc probablement non absorbable (Tableau AII-1). La part de  $Cd^{2+}$  est assez variable d'un traitement à l'autre (30 à 75 % du Cd inorganique) selon WHAM alors qu'elle avoisine 60 % selon CHES. Par ailleurs, le calcul de CHES révèle 17 formes de Cd contre 9 seulement pour WHAM. A noter que dans la cas de CHES si l'on considère les formes  $Cd^{2+}$  et  $CdCl^+$  comme absorbables (McLaughlin *et al.*, 1997 ; Smolders et McLaughlin, 1996a ; Smolders et McLaughlin, 1996b), cela représente 98% du cadmium de la solution.

Il apparaît de grandes différences entre les deux modèles qui sont liées en grande partie à la prise en compte de la matière organique. Celle-ci étant très difficile à caractériser WHAM surestime probablement son effet sur la spéciation du cadmium. Les concentrations des formes inorganiques fournies par CHES sont au contraire certainement trop importantes car ne considérant pas l'effet de la matière organique.

Par ailleurs, nous pouvons présumer un effet compensateur au niveau du calcul de prélèvement par le modèle de Barber-Cushman, entre la  $C_{li}$ , concentration de  $Cd^{2+}$  en solution et  $b$ , le pouvoir tampon. Ces deux paramètres ont une influence très voisine et antagoniste au niveau de la sortie du modèle. Comme  $b=Q/C_{li}$ , diminuer  $C_{li}$  d'un facteur donné conduit à augmenter  $b$  du même facteur.



**Figure AII-1. Influence de la réduction de la  $C_{li}$  (quantité réellement absorbable de Cd en fonction de sa spéciation) et du  $b$  recalculé, sur la valeur de prélèvement calculé par le modèle pour le maïs âgé de 12 jours et pour chacun des traitements.**

La Figure AII-1 montre que si nous considérons seulement 60 % du Cd de la solution du sol comme absorbable, le prélèvement calculé résultant ne diminue que de 7 % en moyenne par rapport au prélèvement témoin calculé. L'étude précise de la spéciation du métal en solution n'est donc pas prioritaire pour nos objectifs.

## Annexe III. Méthode de Crank-Nicholson

Les méthodes analytiques ne permettent pas toujours de résoudre les problèmes d'équations différentielles et on a alors recours à des méthodes numériques. Parmi les méthodes de résolution couramment pratiquées, la méthode des différences finies permet de trouver la solution approchée d'une équation aux dérivées partielles. Elle repose sur la discrétisation des opérateurs de dérivation/différentiation d'une part, et la convergence du schéma numérique ainsi obtenu d'autre part.

Une première étape consiste à discrétiser l'espace (entre  $r_0$  et  $r_l$ ) et le temps ( $t_0$  à  $t_{final}$ ) sur un réseau régulier appelé maillage. Un maillage est un ensemble de points du domaine de définition sur lequel on va appliquer la méthode des différences finies. On appelle le pas du maillage la distance entre deux points successifs ou nœuds du maillage voisins.

La difficulté réside ensuite dans le choix du schéma de discrétisation. Nous avons repris celui de Crank-Nicholson (comme suggéré par Barber et Cushman, 1981).

Le schéma d'intégration temporelle détermine la solution à l'instant  $n+1$  à partir de celle obtenue à l'instant précédent  $n$ . L'équation est évaluée à l'instant intermédiaire  $n + \frac{1}{2}$  (Figure AIII-1).

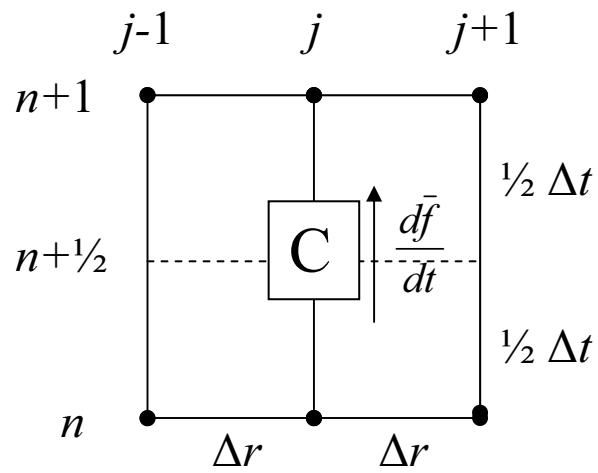
Ce schéma est d'une précision d'ordre 2 en temps et il est implicite. Il permet d'évaluer les dérivées premières en temps en en espace ainsi que les dérivées secondes en espace de la manière suivante :

$$- \frac{\partial^2 C_j^n}{\partial r^2} = \frac{1}{2} \times \left( \frac{C_{j+1}^{n+1} - 2C_j^{n+1} + C_{j-1}^{n+1}}{(\Delta r)^2} + \frac{C_{j+1}^n - 2C_j^n + C_{j-1}^n}{(\Delta r)^2} \right);$$

$$- \frac{\partial C_j}{\partial t} = \frac{C_j^{n+1} - C_j^n}{\Delta t};$$

$$- \text{et } \frac{\partial C^n}{\partial r} = \frac{1}{2} \times \left( \frac{C_{j+1}^{n+1} - C_{j-1}^{n+1}}{2\Delta r} + \frac{C_{j+1}^n - C_{j-1}^n}{2\Delta r} \right).$$





**Figure AIII-1.** Représentation du schéma implicite de Crank-Nicholson dans le maillage.

## Annexe IV. Différentiation de l'équation initiale

Afin d'écrire le schéma numérique de l'équation différentielle initiale, nous allons y substituer les approximations des dérivées premières et secondes selon le schéma de Crank-Nicholson puis nous réorganiserons l'équation générale pour faire apparaître un schéma implicite (une équation lie les valeurs passées, présentes et futures sans qu'on arrive à exprimer ces dernières seules).

On peut écrire  $D_e \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C_I}{\partial r} \times \left( D_e + \frac{v_0 r_0}{b} \right) = \frac{\partial C_I}{\partial t}$  de la façon suivante :

$$D_e \frac{1}{2} \times \left( \frac{C_{j+1}^{n+1} - 2C_j^{n+1} + C_{j-1}^{n+1}}{(\Delta r)^2} + \frac{C_j^n - 2C_j^{n+1} + C_{j-1}^n}{(\Delta r)^2} \right) + \frac{1}{2r} \times \left( \frac{C_{j+1}^{n+1} - C_{j-1}^{n+1}}{2\Delta r} + \frac{C_j^{n+1} - C_{j-1}^n}{2\Delta r} \right) \times \left( D_e + \frac{v_0 r_0}{b} \right) = \frac{C_j^{n+1} - C_j^n}{\Delta t}$$

En posant  $K = D_e + \frac{v_0 r_0}{b}$  et en regroupant les différents termes, l'équation donne :

$$\left( \frac{1}{2} \times \frac{D_e \times C_{j+1}^{n+1}}{(\Delta r)^2} + \frac{K}{2r} \times \frac{C_{j+1}^{n+1}}{2\Delta r} \right) - \left( \frac{D_e \times C_j^{n+1}}{(\Delta r)^2} + \frac{C_j^{n+1}}{\Delta t} \right) + \left( \frac{D_e \times C_{j-1}^{n+1}}{2(\Delta r)^2} - \frac{K}{2r} \times \frac{C_{j-1}^{n+1}}{2\Delta r} \right) + \left( \frac{D_e \times C_j^n}{(\Delta r)^2} - \frac{C_j^n}{\Delta t} \right) - \left( \frac{D_e \times C_{j-1}^n}{2(\Delta r)^2} - \frac{K \times C_{j-1}^n}{4r \cdot \Delta r} \right) + \left( \frac{D_e \times C_{j-1}^n}{2(\Delta r)^2} - \frac{K \times C_{j-1}^n}{4r \cdot \Delta r} \right) = 0$$

$$\left( \frac{D_e}{2(\Delta r)^2} + \frac{K}{4r \cdot \Delta r} \right) C_{j+1}^{n+1} - \left( \frac{D_e}{(\Delta r)^2} + \frac{1}{\Delta t} \right) C_j^{n+1} + \left( \frac{D_e}{2(\Delta r)^2} - \frac{K}{4r \cdot \Delta r} \right) C_{j-1}^{n+1} + \left( \frac{D_e}{2(\Delta r)^2} + \frac{K}{4r \cdot \Delta r} \right) C_j^n - \left( \frac{D_e}{(\Delta r)^2} - \frac{1}{\Delta t} \right) C_j^n + \left( \frac{D_e}{2(\Delta r)^2} - \frac{K}{4r \cdot \Delta r} \right) C_{j-1}^n = 0$$

Après factorisation :

$$\frac{D_e}{2(\Delta r)^2} \left[ \left( 1 + \frac{K \times \Delta r}{2r D_e} \right) C_{j+1}^{n+1} - 2 \left( 1 + \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} \right) C_j^{n+1} + \left( 1 - \frac{K \times \Delta r}{2r D_e} \right) C_{j-1}^{n+1} + \left( 1 + \frac{K \times \Delta r}{2r D_e} \right) C_j^n - 2 \left( 1 - \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} \right) C_j^n + \left( 1 - \frac{K \times \Delta r}{2r D_e} \right) C_{j-1}^n \right] = 0$$

$\frac{D_e}{2(\Delta r)^2} \neq 0$  donc :

$$-\left(1 + \frac{K \times \Delta r}{2rD_e}\right) C_j^{n+1} + 2 \left(1 + \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t}\right) C_j^{n+1} - \left(1 - \frac{K \times \Delta r}{2rD_e}\right) C_{j-1}^{n+1} = \left(1 + \frac{K \times \Delta r}{2rD_e}\right) C_{j+1}^n - 2 \left(1 - \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t}\right) C_j^n + \left(1 - \frac{K \times \Delta r}{2rD_e}\right) C_{j-1}^n$$

En posant  $S = \frac{\Delta r}{2} \left(1 + \frac{v_0 r_0}{D_e b}\right)$

et  $S1_j = \frac{-S}{r_j} + 1$        $S2_j = \frac{S}{r_j} + 1$

$$D1 = 2 \left[ \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} + 1 \right] \quad D2 = 2 \left[ \frac{(\Delta r)^2}{D_e \Delta t} - 1 \right]$$

On obtient alors :

$$-S1_j \cdot C_{j-1}^{n+1} + D1 \cdot C_j^{n+1} - S2_j \cdot C_{j+1}^{n+1} = S1_j \cdot C_{j-1}^n + D2 \cdot C_j^n + S2_j \cdot C_{j+1}^n$$

## Annexe V. Méthode de Newton-Raphson

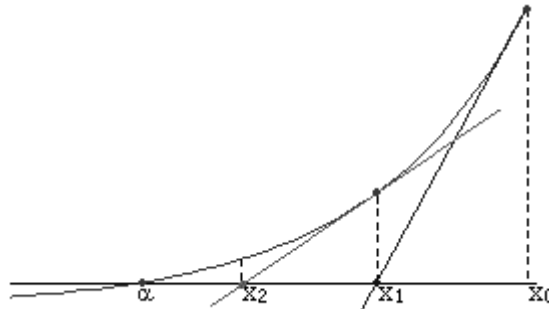
La méthode de Newton-Raphson ou la méthode de Newton est un algorithme très utilisé en analyse numérique pour trouver la ou les racines d'une fonction (approximation de  $f(x) = 0$ ). L'origine de cette méthode vient du développement d'une fonction  $f(x)$  en série de Taylor en  $(x-x_0)$  :

$$f(x) \approx f(x_0) + f'(x_0)(x-x_0) + \frac{1}{2} f''(x_0)(x-x_0)^2 + \dots = 0$$

Elle requiert une approximation initiale de la solution  $x_0$ . Lorsque  $x-x_0$  est faible, seulement les premiers termes de la série sont importants pour estimer la solution. Ainsi la formule de Newton peut s'écrire :

$$x = x_0 - \frac{f(x_0)}{f'(x_0)}$$

La méthode extrapole l'intersection de la tangente de la fonction en  $x_0$ , avec l'axe des abscisses pour obtenir une valeur  $x_1$  (Figure AV-1). Ce point sera utilisé comme nouvelle approximation de la solution. Par méthode itérative, on arrive à une convergence avec la précision voulue.



**Figure AV-1. Interprétation géométrique de la méthode de Newton-Raphson**

Dans un cadre de notre modélisation, on aboutit à un système d'équations de dimension égale au nombre de noeuds du maillage (moins les noeuds additionnels). Ainsi, nous obtenons une matrice de dérivées partielles ou jacobien, noté  $J$ . Pour résoudre le schéma numérique, la méthode de Newton-Raphson approxime les valeurs discrètes des fonctions en chaque noeuds.

On a alors :

$$\left(\bar{X}^{n+1}\right)_{i+1} = -\frac{\bar{f}\left(\bar{C}^{n+1}\right)_i}{J\left(\bar{C}^{n+1}\right)_i}, \text{ avec } i \text{ l'indice d'itération}$$

c'est-à-dire :

$$\begin{bmatrix} \left(X_2^{n+1}\right)_{i+1} \\ \left(X_3^{n+1}\right)_{i+1} \\ \vdots \\ \left(X_k^{n+1}\right)_{i+1} \end{bmatrix} = - \begin{bmatrix} f_2\left(\bar{C}^{n+1}\right)_i \\ f_3\left(\bar{C}^{n+1}\right)_i \\ \vdots \\ f_k\left(\bar{C}^{n+1}\right)_i \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} \frac{\partial f_2}{\partial\left(C_2^{n+1}\right)_i} & \frac{\partial f_2}{\partial\left(C_3^{n+1}\right)_i} & \cdots & \frac{\partial f_2}{\partial\left(C_k^{n+1}\right)_i} \\ \frac{\partial f_3}{\partial\left(C_2^{n+1}\right)_i} & \frac{\partial f_3}{\partial\left(C_3^{n+1}\right)_i} & \cdots & \frac{\partial f_3}{\partial\left(C_k^{n+1}\right)_i} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_k}{\partial\left(C_2^{n+1}\right)_i} & \frac{\partial f_k}{\partial\left(C_3^{n+1}\right)_i} & \cdots & \frac{\partial f_k}{\partial\left(C_k^{n+1}\right)_i} \end{bmatrix}^{-1}$$

$$\text{et on calcule } \left(\bar{C}^{n+1}\right)_{i+1} = \left(\bar{C}^{n+1}\right)_i + \left(\bar{X}^{n+1}\right)_{i+1}$$

L'itération s'arrête lorsque  $\left(\bar{C}^{n+1}\right)_{i+1} \equiv \left(\bar{C}^{n+1}\right)_i$ .



# Liste des figures

## Chapitre 1

- Figure 1.1. Comparaison des pourcentages moyens de distribution des espèces de Cd lié aux différents constituants d'horizons de surface (a) d'un sol tempéré (Krishnamurti *et al.*, 1995) (b) et d'un sol tropical (Onyatta et Huang, 1999)..... 13
- Figure 1.2. Organigramme de la démarche de modélisation. .... 26
- Figure 1.3. Evolution de la concentration dans le temps pour un volume donné permettant d'écrire l'équation de continuité. .... 27

## Chapitre 2

- Figure 2.1. Cellule de diffusion en altuglas comprenant les portions de terre marquée et non marquée. Le dispositif est fermé hermétiquement avec des bouchons en PVC et un joint de silicone durant les trois semaines de contact..... 38
- Figure 2.2. Concentration de cadmium en solution en fonction des traitements (T à D6) pour deux méthodes d'évaluation, la percolation et la centrifugation. Une seule mesure a été effectuée pour la percolation 1 (figuré 'o'). sem : semaine. .... 42
- Figure 2.3. Exemple de distribution de la radioactivité dans les deux sections.  $C_0$  et  $C$  sont respectivement les concentrations initiales et finales en  $^{109}\text{Cd}$  (cpm  $\text{g}^{-1}$  de terre). .... 43
- Figure 2.4. Courbe ajustée de la relation  $C_{li}-D_e$  permettant d'intrapoler les valeurs intermédiaires (en figuré ' $\Delta$ ') du coefficient de diffusion..... 44
- Figure 2.5. Courbe de croissance pour 3 mois, des racines du tabouret calaminaire sur des sols d'origines diverses. Friche Pb = site d'ancienne fonderie de plomb, friche Zn = site d'ancienne fonderie de zinc..... 45
- Figure 2.6. Matières sèches racinaires et foliaires produites par le maïs en 12 et 24 jours de culture selon les différents niveaux de contamination. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ )..... 48

- Figure 2.7. Concentration de Cd dans les tissus de maïs (sur base de matière sèche) en fonction des niveaux de contamination du sol en Cd pour les deux temps de culture. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05 \%$ )..... 49
- Figure 2.8. Prélèvement du Cd par le maïs en fonction des niveaux de contamination du sol en Cd pour les deux temps de culture. Les valeurs moyennes sont au centre de deux barres représentant les écarts types. Dans une même courbe les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05 \%$ ). ..... 50
- Figure 2.9. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle et mesurés dans la plante ( $\mu\text{mol pot}^{-1}$ ) pour les deux temps de culture du maïs. .... 52
- Figure 2.10. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle et mesurés dans la plante ( $\mu\text{mol pot}^{-1}$ ) pour le tabouret calaminaire. .... 53
- Figure 2.11. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour chaque paramètre du modèle pris individuellement. L'analyse de sensibilité de  $L$  et  $L_0$  a impliquée également les paramètres dépendants de ces valeurs ( $k, r_1, v_0$ ). Chaque paramètre d'entrée a varié d'un facteur 0,5 à 2. Dans cet exemple, l'analyse est effectuée sur la moyenne des paramètres des traitements D3 et D6 pour les temps de culture de 24 et 12 jours. .... 54
- Figure 2.12. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le tabouret calaminaire pour chaque paramètre du modèle pris individuellement. Chaque paramètre d'entrée a varié d'un facteur 0,5 à 2. L'analyse de sensibilité de  $L$  et  $L_0$  a impliquée également les paramètres dépendants de ces valeurs ( $k, r_1, v_0$ ). Dans cet exemple, l'analyse est effectuée sur un individu pour les traitements D2 et D5. .... 55
- Figure 2.13. Ajustement par l'Eq 2.12 du profil de concentration de Cd diffusant dans le compartiment non marqué initialement pour les sols D4 et D6. .... 58
- Figure 2.14. Prélèvements simulés de Cd par le maïs âgé de 12 jours pour les traitements T, D4 et D6. Pour les calculs, les paramètres d'entrée du modèle ont été moyennés dans un même traitement et seul le coefficient de diffusion a varié selon les trois modes de calcul (voir plus haut). « ? » indique une impossibilité de calcul par le modèle. .... 59
- Figure 2.15. Pourcentages cumulés des quantités de Cd mesuré dans les racines et dans les parties aériennes de maïs. Les segments verticaux représentent les écarts-types et les



chiffres dans les colonnes sont les quantités moyennes prélevées ( $\mu\text{g}$ de Cd racinaire ou foliaire $\text{pot}^{-1}$ ). Ces quantités de Cd racinaire ou foliaire ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls ( $\alpha = 0,05 \%$ ) si elles sont suivi d'une même lettre.....	61
Figure 2.16. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire. Chaque paramètre a varié d'un facteur 0,1 à 10.....	62
Figure 2.17. Analyse de la sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le tabouret calaminaire pour les paramètres de la cinétique d'absorption racinaire. Chaque paramètre a varié d'un facteur 0,1 à 10.....	64
 <b>Chapitre 3</b>	
Figure 3.1. Relations à l'équilibre entre les quantités de Cd en solution et les quantités résiduelles sur la phase solide, après extraction par les différents extractants ( $\text{CaCl}_2$ , $\text{NH}_4\text{NO}_3$ et DTPA). Les segments horizontaux représentent deux écarts types. ....	74
Figure 3.2. Relations entre les concentrations de Cd labile pour les différentes modalités de sol et les concentrations de Cd en solution. Les valeurs de $E$ ont été calculées après 1 minute d'échange isotopique et ont été extrapolées pour les temps correspondants à la durée des cultures de maïs et de tabouret. Les segments verticaux représentent deux écarts types.....	75
Figure 3.3. Evolution des concentrations de Cd dans $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pour différents temps de mise à l'équilibre des suspensions de sol et selon trois ajouts de Cd en solution ( $0 - 0,5 - 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les segments verticaux représentent deux écarts types. Les points suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (Newman-keuls, $\alpha = 5 \%$ ) .....	76
Figure 3.4. Isotherme d'adsorption dans l'eau (à droite) et dans $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ sur une large gamme de contaminations en Cd (à gauche) et aux basses concentrations (à droite). Les segments horizontaux représentent deux écarts types. ....	76
Figure 3.5. Isothermes d'adsorption et de désorption réalisées deux heures après la contamination des sols par le Cd.....	77
Figure 3.6. Isothermes de désorption pour les sols D3 ( $2,1 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ) et D6 ( $6,3 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ) réalisées avec une solution de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ou une solution de $\text{CaCl}_2$ . ....	78

Figure 3.7. Isothermes de désorption pour les sols D3 (2,1 mg Cd kg<sup>-1</sup>) et D6 (6,3 mg Cd kg<sup>-1</sup>) réalisées avec une solution de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> après 2,5 ans, 3 semaines, ou 2 h de vieillissement..... 79

Figure 3.8. Evolution du pouvoir tampon, *b*, en fonction de la concentration en solution à l'équilibre selon la mesure des différentes isothermes d'adsorption ou de désorption (Voir matériels et méthodes pour les calculs de *b*). En plein, valeur obtenue par dérivation de l'isotherme de Freundlich ajustée (*b<sub>F</sub>*) et en pointillé, pente de la droite ajustée (*b<sub>I</sub>*)..... 84

Figure 3.9. Analyse de sensibilité du prélèvement simulé de cadmium par le maïs pour le paramètre *C<sub>li</sub>* pour chacun des traitements. Dans cet exemple pour le maïs âgé de 12 jours, le paramètre *C<sub>li</sub>* a varié d'un facteur 0,1 à 10, tous les autres facteurs restant constants ont été moyennés à partir des quatre répétitions d'un même traitement. Les points situés sur la droite en pointillés correspondent à la relation : facteur de variation du prélèvement = 0,75 × facteur de variation de *C<sub>li</sub>*. ..... 92

## Chapitre 4

Figure 4.1. Longueurs racinaires du maïs en fonction des concentrations de Cd dans les solutions hydroponiques (échelle logarithmique en abscisse). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4.1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types. .... 99

Figure 4.2. Concentration de Cd dans les racines en fonction de sa concentration en solution hydroponique (échelles logarithmiques). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4.1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types..... 102

Figure 4.3. Concentration de Cd dans les parties aériennes en fonction de sa concentration en solution hydroponique (échelles logarithmiques). Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4.1. Chaque symbole correspond à la moyenne de quatre valeurs, au milieu d'un segment de deux écarts types..... 102

Figure 4.4 Influx moyens de Cd dans les racines exprimés en pourcentage de l'influx des plants de la culture H1, en fonction de la concentration du métal dans les solutions hydroponiques. Pour un même niveau de concentration, les barres surmontées par une même lettre ne sont pas significativement différentes. Pour plus de détails sur les solutions voir le Tableau 4.1. .... 103

- Figure 4.5. Influx moyens de Cd dans les racines en fonction de la concentration de Cd dans les solutions hydroponiques (échelles logarithmiques) pour cinq cultures de maïs. Chaque valeur, répétée quatre fois, est au milieu d'un segment de deux écarts types. La régression linéaire n'inclut pas le dernier niveau de contamination. Pour plus de détails sur les solutions, voir le Tableau 4.1..... 104
- Figure 4.6. Ajustements par la fonction de Michaelis-Menten des influx mesurés en fonction de la concentration de Cd en solution pour les cinq cultures. Le dernier graphique représente ces cinq courbes à partir des valeurs moyennes d'influx par niveau de concentration. .... 105
- Figure 4.7. Influx racinaire du Cd dans les faibles concentrations en solution (échelles arithmétiques) pour le maïs âgé de 12 jours (culture H4 et H2). A. Chaque valeur est au centre d'un segment de deux écarts types et a été répétée quatre fois. B. L'ajustement des données par la courbe de Michaelis-Menten a été réalisé sur la gamme complète des concentrations utilisées ainsi que sur les quatre niveaux les plus faibles. .... 106
- Figure 4.8. Relations entre le prélèvement simulé par le modèle et le prélèvement mesuré dans la plante pour les maïs âgés de 12 ou 24 jours en considérant les paramètres cinétiques mesurés dans les cultures H1, H2 ou H3 qui ont été décrits par des ajustements de Michaelis-Menten (cin MM). .... 107
- Figure 4.9. Influx moyen de plants de maïs âgés de 15 jours en fonction de la concentration de Cd libre en solution (extrait de Mullins et Sommers, 1986a). La courbe est un ajustement des données par l'équation de Michaelis-Menten. .... 112

## Chapitre 5

- Figure 5.1. Evolution des concentrations racinaires et foliaires de Cd au cours du temps dans les plants de tabouret calaminaire. La concentration en solution a été maintenue constante ( $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type..... 123
- Figure 5.2. Rapports des quantités de Cd dans les racines sur les quantités de Cd dans les feuilles en fonction du temps d'exposition. .... 123
- Figure 5.3. Quantités de Cd désorbé au cours des trois bains et quantités cumulées de Cd désorbé en fonction de la durée d'absorption (à concentration constante de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type..... 124
- Figure 5.4. Quantités de Cd désorbé dans les trois bains de désorption au cours d'un épuisement de six heures pour les plants de l'écotype Viviez, pré-exposés au Cd durant

le début de la culture à : A. 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , B. 0,01  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , C. 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . D. Quantités totales de Cd désorbé en fonction de la durée d'absorption dans la solution cadmiée pour les trois modalités de saturation longue (SL). Les barres d'erreur représentent +/- un écart type. .... 125

Figure 5.5. Concentration de Cd dans l'apoplasme racinaire de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) : 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 0,01  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type. .... 126

Figure 5.6. Concentration de Cd issu des bains de méthanol-chloroforme (M-C) de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) : 0 - 0,01 - 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type. .... 126

Figure 5.7. Concentration de Cd dans le symplasme racinaire de l'écotype Viviez, au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , pour les trois modalités de saturation longue (SL) : 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 0,01  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent +/- un écart type. .... 127

Figure 5.8. Pourcentages cumulés des différents compartiments du Cd racinaire au cours d'un épuisement de six heures dans une solution de concentration initiale 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Pour chaque temps des moyennes ont été calculées pour les trois modalités de SL lors de la culture. .... 128

Figure 5.9. Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue A. sans traitement de saturation courte, B. avec traitement de saturation courte. Les moyennes sont au centre de deux barres représentant +/- un écart type. .... 129

Figure 5.10. Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue (SL) avec ou sans saturation courte (SC). .... 130

Figure 5.11. Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion pour chacune des modalités de saturation longue et pour les écotypes Durfort et Bergenbach. .... 131

Figure 5.12. Représentation moyenne, pour les trois écotypes, des trois phases isolées sur les courbes d'absorption du Cd au cours du temps. ① Phase rapide d'absorption au cours des dix premières minutes, ② ralentissement de l'absorption, ③ phase de plateau, l'absorption est presque nulle voire négative. .... 132

Figure 5.13. A. écotype Vz-SL 0-SC NS, B. écotype Dt-SL 1-SC S, C. écotype Bh-SL 0,01-SC S. A gauche : Cd prélevé au cours de la cinétique de déplétion, à droite : Influx net de

Cd (lors de la phase 2) dans les trois plants des écotypes Viviez (Vz), Durfort (Dt) et Bergenbach (Bh), en fonction de la concentration de Cd en solution.....	134
Figure 5.14. Influx nets de Cd (lors de la phase 2) mesurés sur les plants des écotypes Durfort et Bergenbach en fonction de la concentration en solution et pour deux modalités de saturation (SL 0,01 et SL 1). .....	135
Figure 5.15. A. Evolution du Cd en solution au cours d'épuisements de solutions de concentrations initiales ( $C_i$ ) 1, 5 ou 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , pour l'écotype Viviez, sans pré-traitement de saturation. B. Courbes moyennes des prélèvements correspondants aux profils du graphique A.....	136
Figure 5.16. Quantités prélevées au cours de la cinétique de déplétion (à gauche) et isothermes d'absorption de plants de l'écotype Viviez (à droite), obtenues par épuisement d'une solution de concentration initiale $C_i = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A) et d'une solution de $C_i = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (B). Les différentes phases ①, ② et ③ correspondent aux portions isolées sur la courbe d'absorption comme montrées sur la Figure 5.12. ....	137
Figure 5.17. Cd récupéré dans cinq bains désorbants successifs de 15 minutes chacun, après la désorption de racines maintenues pendant 90 minutes dans des solutions de déplétion de concentration initiale ( $C_i$ ) : 1, 10 ou 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ....	138
Figure 5.18. Cinétique d'absorption racinaire du Cd en fonction de sa concentration dans la solution pour toute la gamme de concentrations (A) ou aux basses concentrations seulement (B). Les courbes pleines représentent des ajustements réalisés sur l'ensemble des points, les courbes en pointillés ne prennent en compte que les valeurs maximales ou minimales de l'influx. ....	139
Figure 5.19. Relation entre le prélèvement de Cd simulé par le modèle et mesuré dans la plante. Les paramètres de cinétique d'absorption utilisés pour la modélisation correspondent à l'essai 5 avec l'ajustement aux basses concentrations ( $I_{max} = 3,46 \cdot 10^{-8}$ et $K_m = 1,38 \cdot 10^{-3}$ )......	141
Figure 5.20. (A) Courbes de prélèvement au cours du temps dans les différents compartiments (les barres d'erreur représentent +/- un écart type) et (B) quantités cumulées dans ces mêmes compartiments. ....	146
Figure 5.21. Isothermes d'absorption du Cd (déduites de la phase 2) par l'écotype Viviez, obtenues grâce à des déplétions à partir de plusieurs concentrations initiales ( $C_i = 1, 5$ ou $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) ou à partir d'une « <i>gamme</i> » de concentrations maintenues constantes (essai 5). ....	148

Figure 5.22. A. Ajustements réalisés sur les données de prélèvement symplasmique au cours du temps, obtenus durant l'essai 2. Les mêmes données ont été représentées sur deux graphiques pour plus de lisibilité. B. Influx obtenus par dérivation des fonctions de la figure A..... 152

## Chapitre 6

Figure 6.1. Représentation du système sol-racine ..... 158

Figure 6.2. Evolution des concentrations  $C$  au cours du temps  $t$ . Chaque courbe correspond à un pas d'espace (entre  $r_0$  et  $r_1$ ). A. L'illustration montre les oscillations des courbes lorsque le nombre de pas d'espace était trop faible (600). B. les profils sont plus stables pour 3000 pas d'espaces et lorsque l'offre du sol est plus élevée..... 165

Figure 6.3. Comparaison des simulations entre le modèle RUSE et le modèle UPTAKE pour les deux cultures de maïs et celle du tabouret calaminaire. Différents jeux de données ont été utilisés comprenant différentes valeurs de pouvoir tampon (voir chapitre 3) et différentes valeurs de paramètres cinétiques (dédiés des ajustements Michaelis-Menten des cultures H2 et H3 pour le maïs, voir chapitre 4, et dédiés de l'essai 5 pour le tabouret calaminaire, voir chapitre 5). Lorsque 'cin M-M2' n'est pas indiqué les paramètres cinétiques sont ceux repris de la littérature (Tableau 2.3). ..... 166

Figure 6.4. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle RUSE et mesurés dans la plante pour des ajustements linéaires des cinétiques d'absorption des cultures H2 et H3..... 171

Figure 6.5. Relations entre les prélèvements de Cd simulés par le modèle RUSE et mesurés dans la plante pour deux types d'ajustements : puissance et linéaire. Les ajustements dans les figures de gauche sont réalisés sur l'ensemble des points, alors qu'à droite le premier niveau de contamination (T) a été retiré. .... 172

## Annexes

Figure AI-1. Valeurs des classes de mycorhization de 0 à 5 correspondant à 0 : pas d'infection ; 1 : trace ; 2 : moins de 10 % ; 3 : de 11 à 50 % ; 4 : de 51 à 90 % ; 5 : plus de 90 % (d'après Trouvelot *et al.*, 1986). ..... 211

Figure AI-2. Valeurs des classes de richesse arbusculaire de 0 à 3 correspondant à A0 : 0% ; A1 : 10 % ; A2 : 50 % ; A3 : 100 % (d'après Trouvelot *et al.*, 1986). ..... 211

Figure AII-1. Influence de la réduction de la  $C_{li}$  (quantité réellement absorbable de Cd en fonction de sa spéciation) et du  $b$  recalculé, sur la valeur de prélèvement calculé par le modèle pour le maïs âgé de 12 jours et pour chacun des traitements. .... 215

Figure AIII-1. Représentation du schéma implicite de Crank-Nicholson dans le maillage. .... 217

Figure AV-1. Interprétation géométrique de la méthode de Newton-Raphson.....220

# Liste des tableaux

## Chapitre 1

Tableau 1.1. Teneurs maximales proposées dans les denrées alimentaires et les boissons (exprimées par rapport au poids frais) par Boisset (1996b). ..... 7

Tableau 1.2. Estimation des émissions de Cd dans l'environnement (d'après Traina, 1999).  
<sup>a</sup>données d'entrées d'origines anthropiques uniquement, les quantités naturelles ne sont pas connues. <sup>b</sup>inclus l'agriculture et les déjections animales. <sup>c</sup>inclus les rémanents de bois et branchages, les déchets urbains et les boues issues de la fabrication de métaux. .... 9

## Chapitre 2

Tableau 2.1. Principales caractéristiques du sol. Les analyses ont été effectuées au laboratoire d'analyse d'Arras sauf (1) : rapport de la masse de terre sèche sur le volume occupé dans le pot, et (2) : mesure des paramètres d'humidité grâce à la chambre à pression ; à 0,1 bar pour la capacité de rétention et 15 bars pour le point de flétrissement. .... 34

Tableau 2.2. Niveaux de contamination des sols pour les différents traitements, T est le témoin c'est-à-dire la terre qui n'a pas reçu de Cd. .... 35

Tableau 2.3. Paramètres cinétiques de l'absorption racinaire utilisés pour la modélisation. .... 41

Tableau 2.4. Valeurs moyennes et coefficient de variation (cv, %) du facteur capacité ( $b$ ), du coefficient de diffusion ( $D_e$ ,  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) et de l'influx d'eau dans la racine ( $v_0$ ,  $\text{cm}^3 \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Les valeurs de  $D_e$  en italique sont interpolées des valeurs mesurées. Les moyennes suivies d'une même lettre dans une même colonne NK, ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). .... 43

Tableau 2.5. Valeurs moyennes de 4 répétitions de la longueur racinaire ( $L$ , cm), du taux de croissance racinaire ( $k$ ,  $\text{s}^{-1}$ ), du rayon moyen ( $r_0$ , cm) et de la demi-distance racinaire moyenne ( $r_l$ , cm). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil 5 %. .... 47



Tableau 2.6.	Moyennes ( $m$ ) et coefficients de variation (cv, %) de la matière sèche, de la concentration de Cd, et de la quantité de Cd prélevé dans les racines et les parties aériennes du tabouret. Les moyennes dans une même colonne NK suivie d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). .....	51
Tableau 2.7.	Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements de Cd mesurés et calculés. L'ordonnée à l'origine a été fixée à zéro ; $a$ est la pente et $r^2$ le coefficient de détermination.....	52
Tableau 2.8.	Influence de chacun des paramètres moyens du traitement D6 dans le prélèvement calculé pour une plante du traitement D3.....	55
Tableau 2.9.	Valeurs des coefficients de diffusion calculés selon ( <sup>1</sup> ) Eq 2.5, ( <sup>2</sup> ) Eq 2.10 et ( <sup>3</sup> ) Eq 2.12. Les coefficients de variation (cv, %) sont calculés à partir de trois répétitions mesurées avec les cellules de diffusion (voir matériels et méthodes).....	58
Tableau 2.10.	Valeurs moyennes pour chaque traitement des pouvoirs tampon calculés pour permettre de corrélérer le prélèvement simulé au prélèvement mesuré du tabouret calaminaire, ainsi que les facteurs quantité correspondants.....	64

### Chapitre 3

Tableau 3.1.	Description des protocoles d'extraction adoptés.....	69
Tableau 3.2.	Quantités de Cd désorbé, après 30 ou 50 désorptions successives dans $\text{CaCl}_2$ ou $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ respectivement, exprimées en pourcentage du Cd total initial du sol, pour les deux niveaux de contamination testés. ....	80
Tableau 3.3.	Facteurs Quantité moyens ( $Q_{Cd}$ ) exprimés en pourcentage du Cd total du sol pour les différentes modalités de contamination du sol et déterminés par les méthodes des cinétiques d'échange isotopique ou d'extraction (CV, Coefficients de Variation, exprimés en %). ....	80
Tableau 3.4.	Prélèvements mesurés, par le maïs et le tabouret, exprimés en pourcentage du Cd total du sol pour les différentes modalités de contamination du sol (CV, Coefficients de Variation, exprimés en %). ....	82
Tableau 3.5.	Différents calculs du pouvoir tampon adaptés selon les méthodes de détermination de $Q_{Cd}$ pour les différentes modalités de contamination du sol.....	82
Tableau 3.6.	Valeurs de pouvoir tampon ( $b_F$ ) intrapolé (en caractères noirs) et extrapolé (en caractères grisés) pour chaque niveau de contamination du sol selon les différentes	

isothermes réalisées. Les valeurs  $b_l$  correspondent aux pentes des droites d'ajustements linéaires des différentes isothermes..... 83

Tableau 3.7. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction de la méthode de détermination du facteur capacité. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination. ‡ t correspond au temps de culture : 12 j, 24 j ou 79 j. .... 86

#### Chapitre 4

Tableau 4.1. Caractéristiques des différentes cultures hydroponiques pour la mesure des paramètres cinétiques de maïs..... 97

Tableau 4.2. Matières sèches (MS) racinaires et foliaires obtenues dans les différentes cultures en fonction des concentrations de Cd en solution. Dans une même colonne les moyennes (m) suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls (NK,  $\alpha = 0,05$ )..... 101

Tableau 4.3 : Rapports des quantités et des concentrations de Cd dans les racines ( $Cd_r$ ) sur le Cd dans les parties aériennes ( $Cd_f$ ) en fonction de la concentration en solution..... 103

Tableau 4.4. Valeurs des paramètres  $I_{max}$  ( $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et  $K_m$  ( $\mu\text{mol}$ ) obtenus pour les ajustements des données de prélèvement par l'équation de Michaelis-Menten, ainsi que les paramètres descripteurs de la qualité de la régression mathématique,  $\chi^2$  et R..... 104

Tableau 4.5. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction des paramètres  $I_{max}$  et  $K_m$  obtenus pour les cultures H1 à H5. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination. .... 108

#### Chapitre 5

Tableau 5.1. Concentrations moyennes en Cd, Zn et Ni mesurées dans les matières sèches de trois écotypes de tabouret calaminaire (d'après Schmitt-Sirgucy, 2004 et Reeves *et al.*, 2001). .... 117

Tableau 5.2. Descriptif pour chacune des trois populations, des différents traitements réalisés avant la mesure de la cinétique d'absorption. .... 120

Tableau 5.3. ANOVAs réalisées sur les quantités de Cd dans les différents compartiments au cours du temps, pour les trois modalités de saturation longue :  $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,01 \mu\text{mol}$

$L^{-1}$  et  $1 \mu\text{mol } L^{-1}$ . Dans une même ligne (une même modalité) la présence d'un même lettre indique que les quantités de Cd ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha = 0,05$ ). n.s. : pas de différence statistique. .... 124

Tableau 5.4. Minéralomasses moyennes obtenues en fin d'épuisement pour les trois écotypes Viviez, Durfort et Bergenbach en fonction des traitements de saturation courte (NS : non saturé, S saturé) et de saturation longue ( $0 - 0,01 - 1 \mu\text{mol } L^{-1}$ ).  $\sigma$  : écart type.. ..... 132

Tableau 5.5. Valeurs des paramètres des ajustements réalisés pour deux gammes de Cd en solution ( $0,05-50$  et  $0,05-1 \mu\text{mol } L^{-1}$ ) et pour les influx exprimés par rapport à la surface racinaire ( $\text{cm}^{-2}$ ) ou la matière fraîche racinaire (MFR). Les ajustements ont été réalisés sur l'ensemble des données (moyen) ainsi qu'uniquement sur les valeurs minimales ou maximales de l'influx (Figure 5.18).  $I_{max}$  en  $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ou  $\text{nmol g}^{-1} \text{ MFR h}^{-1}$ ,  $K_m$  en  $\mu\text{mol } L^{-1}$  et  $a$  en  $L \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ou  $L \text{ g}^{-1} \text{ MFR h}^{-1}$ ..... 140

Tableau 5.6. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés selon différents paramètres de la cinétique d'absorption,  $I_{max}$  et  $K_m$ . Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination. Les paramètres d'absorption sont déduits des ajustements réalisés sur l'ensemble des données (moyen), sur les influx maximums ou minimums, et pour deux gammes de Cd en solution (Tableau 5.5 ; Figure 5.18). ..... 141

Tableau 5.7. Paramètres moyens des corrélations (linéaires : a, b ou puissances : c, d) entre les influx et les concentrations en solution (phase 2) obtenus pour l'ensemble des déplétions et pour la mesure concentrations constantes..... 149

## Chapitre 6

Tableau 6.1. Paramètres des équations d'ajustement des isothermes d'absorption du maïs (voir chapitre 4)..... 168

Tableau 6.2. Paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements mesurés et calculés en fonction de la fonction d'ajustement des cinétiques d'absorption des cultures H1 à H5. Les ordonnées à l'origine ont été fixées à zéro,  $a$  représente la pente et  $r^2$  le coefficient de détermination..... 170

Tableau 6.3. Résumé des paramètres des régressions linéaires entre les prélèvements calculés et mesurés en fonction des paramètres d'absorption racinaire utilisés au cours de ce travail. Le pouvoir tampon utilisé est la valeur  $b = E(t)/C_{liv}$ ..... 172

**Annexes**

Tableau AI-1. Paramètres d'estimation de mycorhization des racines de poireau, maïs et des tabourets : fréquence de mycorhization ( $F$ ), intensité de mycorhization du cortex ( $M$ ), et richesse arbusculaire ( $A$ ). Les chiffres entre parenthèses représentent les écarts types sur 4 répétitions..... 213

Tableau AII-1. Spéciation du cadmium en solution selon les modèles CHESS et WHAM.....214

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE  
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL  
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

**Monsieur Michel MENCH, Professeur, INRA, Université Bordeaux 1, Talence**

**Monsieur Erik SMOLDERS, Professeur, K.U. Leuven, Heverlee, Belgique**

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

**Monsieur PERRIGUEY Jérôme**

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,  
une thèse intitulée :

**"Evaluation de l'équation de Nye-Tinker-Barber pour la modélisation du prélèvement  
de Cadmium par le maïs et le tabouret calaminaire"**

en vue de l'obtention du titre de :

**DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**

Spécialité : « **Sciences agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 04 septembre 2006

Le Président de l'I.N.P.L.,

L. SCHUFFENECKER



NANCY BRABOIS  
2, AVENUE DE LA  
FORET-DE-HAYE  
BOITE POSTALE 3  
F - 54501  
VANDOEUVRE CEDEX