THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Hydrologie, Hydrochimie, Sols, Environnement

Présentée et soutenue par :

Mme CLARISSE LETONDOR

le vendredi 14 février 2014

Titre :

ETUDE DES MECANISMES HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DU TRANSFERT DE LA CHLORDECONE (INSECTICIDE ORGANOCHLORE) DANS LES VEGETAUX.

Ecole doctorale :

Sciences de l'Univers de l'Environnement et de l'Espace (SUEE)

Unité de recherche :

Ecologie Fonctionnelle (ECOLAB)

Directeur(s) de Thèse :

M. FRANÇOIS LAURENT

MME SOPHIE PASCAL LORBER

Rapporteurs :

Mme LAURENCE DENAIX, INRA VILLENAVE D'ORNON

Mme MURIEL RAVETON, UNIVERSITE DE BOURGOGNE

M. MICHEL COUDERCHET, UNIVERSITE DE REIMS

Membre(s) du jury :

M. ERIC PINELLI, INP TOULOUSE, Président

M. FRANÇOIS LAURENT, INRA TOULOUSE, Membre

Mme MAGALIE LESUEUR-JANNOYER, CIRAD SAINT-DENIS, Membre

« La nature est autre chose qu'un laboratoire : c'est un spectacle et une école. D'ailleurs, les choses que l'on comprend le moins sont souvent celles qui plaisent le plus. »

(Henry Russell, Souvenirs d'un montagnard).

Remerciements

Ce manuscrit rend compte des résultats obtenus au cours de ma thèse. Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et les précieux soutiens que j'ai reçus tout au long de ces trois années.

Je voudrais exprimer tout d'abord ma gratitude envers Mr. François Houllier, Directeur général délégué à l'organisation, aux moyens et à l'évaluation scientifiques de l'INRA, qui a personnellement permis le cofinancement de cette thèse par l'INRA.

Je tiens à remercier cordialement Mr. Jean-Luc Probst, Directeur d'EcoLab et Mr. Laury Gauthier, Directeur de l'équipe ECSECO, pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire et permis de faire cette thèse.

Je remercie particulièrement les rapporteurs de ma thèse, Pr. Michel Couderchet, Dr. Laurence Denaix, et Mcf. Muriel Raveton, ainsi que le président et les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. Je les remercie d'avoir consacré beaucoup de leur temps à la révision de ce manuscrit, et particulièrement Michel Couderchet qui s'est beaucoup investi dans l'amélioration de ce manuscrit.

Je remercie chaleureusement mes directeurs de thèse, François Laurent et Sophie Pascal-Lorber, pour m'avoir permis de réaliser ce projet, pour m'avoir encadrée, soutenue et tant appris pendant ces trois années. Je tiens également à remercier les membres de l'ancienne unité Xénobiotiques, pour leur accueil, leur soutien technique et moral, surtout pendant les phases travaux-déménagements. Cette thèse représente plus qu'une expérience professionnelle, mais aussi une belle aventure humaine.

Je remercie Frank Marot, mon ingénieur référent à l'ADEME, pour son suivi tout au long de ma thèse.

Je suis très reconnaissante envers ma famille, ma sœurette et mes parents, qui ont toujours cru en moi, m'ont supporté et sans qui je ne serais jamais allée aussi loin. Merci.

Et bien-sûr, je dis un grand merci à mes amis, pour tous les moments passés en leur compagnie, pour m'avoir apporté un grand soutien moral et pour toutes les escapades montagnardes et autres sorties qui m'ont permis de faire baisser la pression… Merci !

Résumé

La chlordécone (CLD) est un insecticide organochloré qui a été utilisé principalement aux Antilles pour lutter contre le charançon du bananier (*Cosmopolites sordidus*). Sa faible dégradabilité dans le sol et sa dispersion dans les bassins versants entraînent une contamination durable des sols agricoles et des écosystèmes environnants. Cela pose un problème d'exposition pour l'Homme par la consommation de végétaux contaminés et pour l'environnement par le transfert de la molécule dans les chaînes alimentaires (bioamplification). Pour l'Homme, les principaux végétaux à risque sont les légumes-racines, en contact direct avec la CLD dans le sol, mais aussi les autres légumes car des résidus de CLD sont retrouvés dans les parties aériennes, tiges ou feuilles.

Ce travail de thèse a porté sur le transfert sol-plante de la CLD, d'une part dans les tubercules des légumes-racines pour appréhender le risque sanitaire et d'autre part dans les graminées pour le risque environnemental. La lipophilie de la CLD joue un rôle majeur dans son transfert dans les plantes. La CLD a une affinité particulière pour les tissus lipophiles, notamment le périderme subérifié des tubercules et les parois cellulaires incrustées de lignine des vaisseaux du xylème. En outre, le transfert est dépendant de l'architecture de la plante, de sa physiologie et de l'histologie de ses organes. Nous avons mis en évidence deux voies de contamination des plantes par la CLD : l'absorption racinaire et l'adsorption sur le périderme des tubercules. La contamination systémique résulte de la pression racinaire et du courant d'évapotranspiration via les vaisseaux du xylème pouvant conduire à la translocation de la CLD dans la partie aérienne de la plante. La pénétration de la CLD dans la plante est suivie d'une diffusion de la molécule vers les tissus parenchymateux du tubercule depuis le périderme et les vaisseaux xylémiens.

Dans le cas des tubercules, nous avons distingué la part de contamination apportée par l'absorption racinaire de celle due à l'adsorption péridermique. Chez le radis, il a été montré que le phénomène prépondérant était la diffusion trans-péridermique. Une analyse du risque de contamination de tubercules couramment consommés aux Antilles (patate douce, dachine, igname) a été réalisée en se basant notamment sur l'architecture de la plante et la nature des tissus mis en place lors de la tubérisation.

Concernant les graminées, la capacité de transfert de la CLD dans la partie aérienne de la plante a été étudiée chez plusieurs graminées usuelles. Le potentiel de contamination de la

plante dépend de ses caractéristiques physiologiques (métabolisme) et de son cycle de vie (pérennité). Ces caractéristiques pourraient permettre d'orienter le choix de certaines graminées pour la phytoremédiation de la CLD.

Abstract

Chlordecone (CLD) is an organochlorine insecticide mainly used in French West Indies (FWI) to control banana weevil (*Cosmopolites sordidus*). Its poor degradability in soils and its spreading in catchment basins cause a long-term and general contamination of agricultural soils and surrounding ecosystems. This results in human exposure risk, via consumption of contaminated vegetables, and environmental risk by transfer of CLD into food chains. Main hazardous vegetables for human health are root-vegetables that are directly in contact with soil but also other vegetables because CLD residues were found in aerial parts of plants, leaves and shoots. The main environmental risk seems to be the biomagnification of the pesticide in trophic chains partly due to consumption of contaminated plants.

This work focused on the CLD soil-plant transfer. On the one hand, health risk was assessed in tubers of edible-roots. On the other hand, transfer in grasses was studied to assess environmental risk. The lipophilicity of CLD is a major component of its transfer to plants. CLD exhibits a certain affinity for lipophilic tissues particularly for the suberised periderm of tubers and the xylem cell walls that are thickened by lignin. In addition, transfer depends on plant architecture, physiology and organ histology. Two ways of CLD plant contamination were highlighted: roots absorption and adsorption onto tuber periderm. The systemic contamination is due to root pressure and transpiration stream, occurring in xylem vessels, and may lead to translocation of CLD towards aerial part of plant. CLD penetration into plant is followed by diffusion of the molecule towards parenchymatous tissues of tuber from periderm and xylemian vessels.

For tubers, we distinguished between the contamination brought by roots absorption and the one brought by peridermic adsorption. In radish, the trans-peridermic diffusion was showed as the major way of contamination. A risk analysis of contamination of tubers commonly consumed in FWI (sweet potato, dasheen, yam) was realized, mainly based on plant morphology and nature of tissues set up during tuberization process.

For grasses, CLD transfer ability to aerial part of plant was studied in several usual gramineae. Plant contamination potential is mainly determined by its physiological traits (metabolism) and its life cycle (perenniality). These features could drive the choice of some gramineae to perform CLD phytoremediation.

Sommaire

Résumé ..... **- 1 -**

Abstract ..... **- 3 -**

Sommaire - 4 -

Liste des abréviations - 8 -

Liste des figures - 12 -

Liste des tableaux - 16 -

Avant-propos - 18 -

I. Synthèse bibliographique ..... **- 20 -**

1. Introduction générale - 20 -

2. Les pesticides - 22 -

2.1. Classes et modes d'action des pesticides - 22 -

2.1.1. Les herbicides ..... - 22 -

2.1.2. Les insecticides ..... - 23 -

2.1.3. Les fongicides ..... - 24 -

2.2. Développement et utilisation - 25 -

2.3. Exposition et toxicité - 28 -

3. Les insecticides organochlorés - 32 -

4. La chlordécone - 33 -

4.1. Propriétés physico-chimiques de la chlordécone - 33 -

4.2. La lutte contre le charançon du bananier aux Antilles françaises - 35 -

4.3. Historique de l'utilisation de la CLD aux Antilles - 36 -

4.3.1. Production et commercialisation de la chlordécone ..... - 36 -

4.3.2. Utilisation de la chlordécone aux Antilles ..... - 37 -

4.3.3. Réglementation ..... - 39 -

5. Transfert des pesticides du sol vers les plantes - 40 -

5.1. Influence des propriétés physico-chimiques des pesticides - 40 -

5.1.1. Lipophilie et solubilité dans l'eau ..... - 40 -

5.1.2. Pression de vapeur ..... - 41 -

5.2. Architecture, histologie et physiologie de la plante - 41 -

5.3. Transfert sol-plante - 46 -
5.3.1. Disponibilité dans le sol - 46 -
5.3.2. Absorption racinaire - 47 -
5.3.3. Translocation des racines vers les parties aériennes - 47 -
5.3.4. Absorption et transfert des pesticides - 49 -
5.3.5. Le cas des organochlorés - 49 -
6. La tubérisation des légumes-racines - 51 -
6.1. La tubérisation d'un hypocotyle : le radis 6.2. - 52 -
La tubérisation d'une racine : la patate douce 6.3. - 56 -
La tubérisation d'une tige : la pomme de terre 6.4. - 59 -
La tubérisation d'un corme : la dachine - 62 -
6.5. La tubérisation de l'igname - 64 -
7. Les enjeux de la chlordécone aux Antilles françaises - 65 -
7.1. Risque environnemental - 65 -
7.2. Risque sanitaire - 71 -
7.3. Aspects économiques et sociaux - 72 -
8. Contexte et objectifs de la thèse - 74 -
9. Systèmes d'étude - 75 -
II. Le transfert de la CLD dans les légumes-racines - 78 -
1. Matériels et Méthodes - 79 -
1.1. Produits chimiques - 79 -
1.2. Détermination de la radioactivité - 79 -
1.3. Substrat de culture - 80 -
1.4. Paramètres généraux du transfert sol-plante de la CLD - 80 -
1.4.1. Effet de la CLD sur la croissance de la plante - 80 -
1.4.2. Cinétique de solubilisation de la CLD dans le substrat sable - 80 -
1.4.3. Biodisponibilité de la CLD en fonction des concentrations dans le substrat sable - 81 -
1.4.4. Contamination en fonction du temps - 81 -
1.5. Localisation tissulaire de la CLD chez le radis par autoradiographie - 82 -
1.6. Dosage de la CLD chez le radis - 82 -

1.6.1. Absorption racinaire et translocation de la CLD : étude de la contamination par voie systémique .. - 82 -
1.6.2. Contamination du périderme par capillarité - 84 -
1.6.3. Etude des voies de contamination systémique et trans-péridermique du tubercule de radis par la CLD - 84 -
1.7. Etude de la voie de contamination trans-péridermique par adsorption et diffusion de la CLD chez le radis - 85 -
1.7.1. Comparaison de la diffusion de la CLD et de l'imidaclopride dans le tubercule de radis - 85 -
1.7.2. Adsorption péridermique de la CLD - 88 -
1.8. Analyse histologique des légumes-racines - 88 -
1.8.1. Colorations au phloroglucinol - 88 -
1.8.2. Dosage des lipides par la méthode de Folch - 88 -
2. Résultats-Discussion - 89 -
2.1. Absorption racinaire de la CLD par les légumes-racines - 90 -
2.1.1. Phytotoxicité de la CLD chez le radis - 91 -
2.1.2. Disponibilité de la CLD dans le substrat sable - 92 -
2.1.3. Effet du stock de CLD dans le sol dans la contamination des plantes - 93 -
2.1.4. Effet du temps de culture dans la contamination des plantes par la CLD - 94 -
2.2. Distribution de la contamination par la CLD dans les légumes-racines - 96 -
2.3. Absorption racinaire et translocation de la CLD dans la plante entière - 98 -
2.3.1. Contribution du flux de transpiration - 98 -
2.3.2. Contribution de la contamination trans-péridermique - 101 -
2.4. Adsorption et diffusion trans-péridermique de la CLD dans les légumes-racines - 102 -
2.4.1. Adsorption et diffusion de la CLD dans le tubercule de radis - 102 -
2.4.2. Capacité d'adsorption de la CLD chez différents légumes-racines - 106 -
2.5. Comparaison tissulaire de différents légumes-racines - 110 -
2.5.1. Localisation de la vascularisation xylémienne dans les tubercules - 110 -
2.5.2. Taux de lipides sous-péridermiques des tubercules - 113 -
3. Conclusion : Evaluation du risque d'exposition alimentaire à la CLD chez les légumes-racines - 114 -

III. Le transfert de la CLD dans les graminées - 117 -

1. Matériel & Méthodes - 119 -
1.1. Culture de Miscanthus - 119 -

1.1.1. Sol ..... - 119 -
1.1.2. Design de l'expérimentation et condition de culture ..... - 120 -
1.1.3. Plan de récolte et préparation des échantillons ..... - 120 -
1.2. Comparaison de la contamination chez des graminées annuelles - 121 -
1.2.1. Cinétique d'adsorption racinaire ..... - 121 -
1.2.2. Dosage de lipides racinaires ..... - 122 -
1.2.3. Cinétique de contamination par la CLD du maïs et du blé au stade plantule et cultivés sur un substrat sable ..... - 122 -
1.2.4. Facteurs de transfert chez deux graminées annuelles cultivées sur sol reconstitué ..... - 123 -
1.3. Sorgho : contamination des tissus de la tige - 124 -
2. Résultats–Discussion - 125 -
2.1. Cinétique d'absorption de la CLD par une graminée pérenne tropicale, le miscanthus - 125 -
2.2. Comparaison de la contamination chez des graminées annuelles - 129 -
2.2.1. Cinétique d'adsorption racinaire ..... - 130 -
2.2.2. Dosage des lipides racinaires ..... - 131 -
2.2.3. Cinétique de contamination par la CLD du maïs et du blé au stade plantule et cultivés sur un substrat sable ..... - 132 -
2.2.4. Facteurs de transfert chez deux graminées annuelles cultivées sur sol ..... - 136 -
2.3. Comparaison de la contamination de la tige du sorgho fourrager en fonction des tissus - 139 -
3. Discussion : évaluation du risque chez les graminées - 140 -
IV. Conclusion générale et perspectives ..... - 144 -
Bibliographie ..... - 149 -

Liste des abréviations

2,4-D :	Acide dichlorophénoxyacétique
2,4,5-T :	Acide trichlorophénoxyacétique
AchE :	Acétylcholinesterase
ADNc :	Acide désoxyribonucléique complémentaire
AFSSA :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AMM :	Autorisation de mise sur le marché
ANSES :	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail
ANR :	Agence Nationale pour la Recherche
BCF :	Facteur de bioconcentration
BRGM :	Bureau de Recherches Géologiques et Minières
C3 :	Plante à métabolisme en C3
C4 :	Plante à métabolisme en C4
CAM :	Plante à métabolisme de l'acide crassulacéen
CAR :	Constitutive androstane receptor
CF :	Facteur de concentration
CIRC :	Centre International de Recherche sur le Cancer
CIRAD :	Centre de Coopération Internationale pour la Recherche Agronomique et le Développement
CLD :	Chlordécone
CSL :	Comptage en scintillation liquide
DCB :	1,4-dichlorobenzène
DCE :	Directive cadre sur l'eau
DDT :	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DDE :	Dichlorodiohényldichloroéthylène
DDD :	Dichlorodiphényldichloroéthane
DGCCRF :	Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes
EPA :	Environmental Protection Agency / Agence de Protection de l'Environnment
ERα :	Récepteur à l'œstradiol α
ERβ :	Récepteur à l'œstradiol β
FWI :	French West Indies / Antilles françaises

GABA : Recepteur acide gamma amino-butyrique

GREPHY : Groupe Régional Phytosanitaire

GREPP : Groupe Régional d'Etude des Pollutions par les Produits phytosantiaires

HCB : Hexachlorobenzène

HCH : Hexachlorocyclohexane

γHCH : Lindane

IBS : Inhibiteur de la synthèse des stérols

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

INVS : Institut National de Veille Sanitaire

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

IT^2 : Institut Technique Tropical

Kd : Coefficient de distribution

K_{oc} : Coefficient de partage entre la fraction équivalente sorbée sur le sol normalisée par rapport au pourcentage de carbone organique du sol et la fraction soluble dans l'eau

K_{om} : Coefficient de partage matière organique du sol/eau

K_{ow} : Coefficient de partage octanol/eau

LMR : Limite maximale de résidus

LSD : Diéthylamide de l'acide lysergique

NCI : National Cancer Institute

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORP : Observatoire des Résidus de Pesticides

OSR : Plante à organe souterrain récolté

PCB : Polychlorobiphényle

PGA : Acide-3-phosphoglycérique

PNSE : Plan National Santé Environnement

POP : Polluant organique persistant

PP1 : Protéine de filament du phloème 1

PRAM : Pôle de Recherche Agro-environnementale de la Martinique

PXR : Pregnane xenobiotic receptor

RCF : Facteur de concentration racinaire

SAU : Surface agricole utile

SIG : Système d'informations géoréférencées

SPP : Composés phénoliques de subérine

TCB : 1,2,4-trichlorobenzène

TF : Facteur de translocation

TSCF : Facteur de concentration du courant de transpiration

UIPP : Union des Industries de la Protection des Plantes

UNEP : United Nations Environment Programme / Programme des Nations Unies pour l'Environnement

VTR : Valeur toxicologique de référence

WUE : Water use efficiency / Efficacité d'utilisation en eau

Liste des figures

Fig. 1. Répartition mondiale du chiffre d'affaires du marché des produits phytosanitaires en 2011 ..... - 26 -

Fig. 2. Répartition du marché mondial par catégorie de produits phytosanitaires en 2010 ..... - 27 -

Fig. 3. Structure chimique de la chlordécone ..... - 34 -

Fig. 4. Schéma des flux de sève brute et élaborée dans une plante ..... - 42 -

Fig. 5. Cellules constitutives des vaisseaux de xylème et de phloème ..... - 43 -

Fig. 6. Détail de la paroi d'une cellule végétale ..... - 44 -

Fig. 7. Organisation des organes souterrains chez (A) le radis et (B) l'igname ..... - 45 -

Fig. 8. Schéma des différentes voies de transfert d'un xénobiotique dans un tissu végétal ..... - 45 -

Fig. 9. Diagrammes des différents stades de la transition vasculaire chez le radis en coupes transversales. A, au niveau racinaire ; B, partie basse de l'hypocotyle ; C, hypocotyle médian ; D, partie haute de l'hypocotyle. Les zones pointillées représentent le phloème, les zones rayées verticalement le métaxylème et les zones quadrillées le protoxylème. D'après Grassley (1932). ..... - 53 -

Fig. 10. Organisation des tissus d'un hypocotyle de radis (ou d'une racine de dicotylédone) au stade jeune Adapté de Raven et al. (1999). ..... - 53 -

Fig. 11. Transect d'un jeune hypocotyle de radis dont l'épaississement a provoqué la rupture du cortex et de l'épiderme. *ca*, cambium ; *co*, reste du cortex rompu formant deux languettes persistantes ; *en*, endoderme, *mx*, métaxylème ; *pcl*, péricycle ; *ph 2*, phloème secondaire ; *px*, protoxylème ; *ra*, rayon de parenchyme ; *xy 2*, xylème secondaire. D'après Hayward (1938). ..... - 54 -

Fig. 12. Organisation des tissus d'un hypocotyle de radis à maturité Adapté de Raven et al. (1999). ..... - 55 -

Fig. 13. Coupe transversale schématique d'un tubercule de patate douce lors de l'épaississement primaire de la tubérisation. ..... - 57 -

Fig. 14. Coupe transversale schématique d'un tubercule de carotte. ..... - 58 -

Fig. 15. Schématisation d'un plant de pomme de terre montrant les différents types de racines. A) racines principales, B) racines de jonction, C) racines du rhizome, D) racines du tubercule. D'après Kratzke et Palta (1985). ..... - 59 -

Fig. 16. Coupe transversale schématique d'un tubercule de pomme de terre mature. ..... - 61 -

Fig. 17. Corme de dachine (Colocasia esculenta) : a, cicatrices d'anciennes feuilles : b, bourgeon latéral. ..... - 63 -

Fig. 18. Tubercule d'igname (genre Dioscorea). ..... - 65 -

Fig. 19. Schéma conceptuel de la pollution à la chlordécone dans les Antilles (hors estuaire et mer) ..... - 66 -

Fig. 20. Schématisation des transferts sol-eau-organismes aquatiques et sol-plante de la CLD ..... - 67 -

Fig. 21. Structure des argiles à allophanes (Le Déaut et Procaccia, 2009). ..... - 68 -

Fig. 22. Carte du risque de contamination des sols par la chlordécone en Guadeloupe ..... - 69 -

Fig. 23. Cartographie SIG de la pollution des sols par la chlordécone en Martinique. Les mailles représentent 1 km² ; les unités sont en mg kg^{-1} ..... - 70 -

Fig. 24. Représentation cartographique des zones d'interdiction de pêche en Guadeloupe ..... - 73 -

Fig. 25. Dispositif expérimental de l'expérience de translocation de la CLD dans des radis. A) Radis avec feuilles, B) radis sans feuilles. Les racines ont été plongées dans une solution nutritive contaminée avec la [^{14}C]-CLD (v = 123 mL, 23643 Bq, 0,07 µg mL^{-1}). ..... - 83 -

Fig. 26. Dispositif expérimental pour tester la contamination du périderme du radis par capillarité. ..... - 84 -

Fig. 27. Relation entre l'efficience de la contamination des racines et tubercules et leur risque de contamination au contact des sols ferralitiques, approché par des facteurs de forme et les durées de remplissage. D'après Cabidoche et al. (2006). ..... - 90 -

Fig. 28. Poids secs des feuilles et des racines (A) et poids secs et longueurs des tubercules (B) de radis cultivés dans du sable contaminé avec la CLD à différentes concentrations et récoltés au stade d'initiation de la tubérisation à 14 j après émergence. ..... - 91 -

Fig. 29. Quantités de [^{14}C]-CLD dissoute dans l'eau au cours du temps à partir de sable contaminé à 1 mg kg^{-1} de [^{14}C]-CLD. Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 3). ..... - 92 -

Fig. 30. Concentration en CLD dans les racines (A) et les feuilles (■), la partie aérienne du tubercule (○), et la partie souterraine du tubercule (●) (B). Les radis ont été cultivés pendant 35 j dans du sable contaminé à des concentrations différentes en CLD. Les résultats sont exprimés en µg g^{-1} de poids sec (PS). Les barres verticales indiquent l'erreur standard. n = 5. ..... - 93 -

Fig. 31. Quantités de CLD retrouvée dans les plants de radis (A) et dans les différents organes des radis (B). Les radis ont été cultivés dans du sable contenant la [^{14}C]-CLD, 37 000 Bq/pot, 12,5 µg g^{-1}, et récoltés 7, 14, 24 et 34 j après émergence. Les résultats sont exprimés en µg de CLD. Les barres verticales indiquent l'erreur standard (n = 5 à 7j, n = 6 à 14 et 24 j, n = 8 à 34 j). ..... - 95 -

Fig. 32. Autoradiographies (A, C) (la radioactivité est représentée par les points noirs) et photographies (B, D, E) de coupes longitudinales (A, B) et transversales (C, D, E) de tubercules de radis cultivés dans un sol contaminé par la [^{14}C]-CLD. (A) *Rectangles rouges :* transects de densité de (B), *ligne pointillée :* niveau de la coupe transversale de (C, D, E). (B) Les diagrammes représentent la densité de radioactivité des transects de l'autoradiographie, exprimée en densité$^{-1}$ (densité lumineuse). (C, D) *Cercles :* périderme du tubercule (externe) ou cambium (interne). (E) Coloration au phloroglucinol des coupes transversales. P, périderme ; V, faisceaux vasculaires ; Ph, phloème ; M¨, parenchyme médullaire (chair) : *b,* bruit de fond ; *gs,* surface du sol. ..... - 97 -

Fig. 33. Concentrations en [^{14}C]-CLD et [^{14}C]-imidaclopride dans différents tissus de tubercules de radis immergés pendant 48 h dans des béchers contenant une solution nutritive contaminée avec la [^{14}C]-CLD (v = 40 mL; 10 000 Bq, 85,5 ng mL^{-1}) ou du [^{14}C]-imidaclopride (13 502 Bq, 7,89 ng mL^{-1}). Périd.+Phlo. = périderme + phloème : concentration moyenne dans le périderme et le phloème Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 3). Test ANOVA : a, b, c : $p < 0,05$. ..... - 103 -

Fig. 34. Diffusion de la CLD dans les différents tissus du radis après immersion des tubercules dans une solution de [^{14}C]-CLD (7 603 Bq, 65,2 ng mL^{-1}) pendant 6 h. Cinétique de diffusion de la CLD dans le périderme (A). Flux cumulé de CLD à travers le périderme (B). ..... - 104 -

Fig. 35. Linéarisation de l'isotherme de Freundlich de l'adsorption de la CLD sur le périderme de radis immergés dans une solution de [^{14}C]-CLD à différentes concentrations de 0,01 à 10 ng mL^{-1} pendant 24 h. - 105 -

Fig. 36. Isothermes linéarisées de Freundlich de l'adsorption surfacique de la CLD sur des explants de périderme de radis incubés pendant 24 h dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations de 0,01 à 10 µg L^{1}. A) Péridermes isolés enzymatiquement avant incubation, B) péridermes non isolés avant incubation. ..... - 107 -

Fig. 37. Isothermes linéarisées de Freundlich d'adsorption de la [^{14}C]-CLD sur des explants de péridermes de différents légumes-racines, isolés enzymatiquement dans une solution à 2% de pectinase et 2% de cellulase pendant 24 h, puis incubés dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations de 0,01 à 10 µg L^{-1} pendant 24 h. Les concentrations dans les explants et dans la solution sont à l'équilibre à la fin de l'expérimentation. Pdt : pomme de terre. n = 3 pour Pdt vieilles, sinon n = 4. Chaque point représente un échantillon. ..... - 109 -

Fig. 38. Photographies et coupes transversales de tubercules de légume-racines. Les coupes sont colorées au phloroglucinol, les tissus lignifiés ou subérifiés apparaissent en magenta. P : parenchyme phloémien, X : parenchyme xylémien, XP : parenchyme xylémien et phloémien, III : développement tertiaire. ..... - 111 -

Fig. 39. Coupe transversale de radis réalisée au microtome (180 µm), colorée au phloroglucinol et observée au microscope inversé (Primo Vert, Carl Zeiss Inc., USA), grossissement 10X. Les tissus lignifiés apparaissent en marron-gris. ..... - 112 -

Fig. 40. Photographie de la culture de *Miscanthus sinensis* mise en place au laboratoire. ..... - 121 -

Fig. 41. Schématisation de la partie aérienne d'un thalle d'une graminée ..... - 123 -

Fig. 42. Organisation des faisceaux vasculaires dans la tige des plantes monocotylédones. ..... - 124 -

Fig. 43. Concentrations en CLD dans différentes parties de plants de miscanthus cultivés pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). (A) Partie aérienne : feuilles et tiges. (B) Partie souterraine : racines + rhizome. (C) et (D) Détail de la partie souterraine. La ligne pointillée correspond à la concentration en CLD du sol. Moyennes de 3 réplicats. Les barres d'erreurs représentent les écarts-types. Les * indiquent les valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,01). ..... - 126 -

Fig. 44. Transfert de la CLD des organes souterrains, racines et rhizome, vers les organes aériens, tiges et feuilles, du miscanthus (*Miscanthus sinensis*) cultivé pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). Rapport des quantités de CLD dosées dans la partie aérienne sur les quantités dosées dans la partie souterraine. Moyennes de 3 réplicats avec écarts-types. ..... - 128 -

Fig. 45. Cinétique de contamination de racines excisées de blé, maïs et sorgho sucrier mises à incuber pendant des durées variables dans une solution de [^{14}C]-CLD (7 400 Bq mL^{-1}, 2,5 µg mL^{-1}). Rapport de la concentration racinaire sur la concentration dans la solution d'incubation au cours du temps. Les points sont la moyenne de 3 réplicats. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les lignes pointillées représentent l'adsorption maximale. ..... - 130 -

Fig. 46. Concentrations en CLD mesurées dans les tiges et les racines de plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à différents jours après émergence : T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Les lettres a, b, c, d représentent des valeurs significativement différentes (test ANOVA, p-value < 0,005). Les barres d'erreurs représentent la déviation standard (n = 3). ..... - 133 -

Fig. 47. Concentration en CLD mesurées dans les feuilles et les tiges de maïs cultivé pendant 3 mois dans un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (7,48 mg CLD kg^{-1}, 122 672 Bq kg^{-1}). Les mesures sont réalisées à chaque entrenœud de la tige, le 0 étant celui partant des racines, sectionné à la surface du sol. Trois réplicats pour les entrenœuds 0 à 6, deux réplicats pour les entrenœuds 6 à 8. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. .... - 138 -

Fig. 48. Concentrations en CLD mesurées dans deux tissus de tiges, séparées en entrenœuds (l'entrenœud 1 est le plus proche du sol), de sorgho fourrager cultivé pendant 4 mois sur un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (2,14 mg CLD kg^{-1}, 37 000 Bq kg^{-1}). Moyennes de 5 réplicats pour les entrenœuds 1 et 2, un seul échantillon pour le 3. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards. ..... - 139 -

Fig. 49. Schéma général du transfert de la CLD dans les légumes-racines. ..... - 145 -

Liste des tableaux

Tableau 1. Tableau comparatif des plantes étudiées ..... - 76 -

Tableau 2. Facteur de translocation (TF) calculés comme le rapport des concentrations entre différents organes chez des radis incubés dans du sable contaminé par la [^{14}C]-CLD (37 000 Bq/pot, 12,5 µg/pot) à T1 = 7 j et T4 = 34 j. ..... - 96 -

Tableau 3. Concentration en CLD en poids sec (PS) dans différents tissus de radis après immersion des racines dans une solution de [^{14}C]-CLD pendant 48 h. Quatre conditions ont été testées : (1) radis avec feuilles, (2) radis sans feuilles, (3) radis avec feuilles et tubercules recouverts de paraffine, (4) radis sans feuilles et tubercules recouverts de paraffine. Valeurs moyennes ± écart-types (n = 3). ..... - 99 -

Tableau 4. Concentrations surfaciques de [^{14}C]-CLD sur le périderme de radis immergés en partie dans une solution de [^{14}C]-CLD (33 529 Bq, 0,38 µg mL^{-1}) pendant 24 h. Seule la tranche 4 est immergée. ..... - 100 -

Tableau 5. Caractéristiques des différents paramètres du périderme et du tissu phloémien de tubercules de radis. Kdp, l'affinité du périderme pour la CLD ; x ; l'épaisseur du périderme ; θ, la fraction massique des compartiments eau ($_w$) et lipides ($_l$) du phloème ; J, le flux de diffusion de la CLD dans le phloème ; D, le coefficient de diffusion et P, le coefficient de perméation du périderme pour la CLD. ..... - 106 -

Tableau 6. Paramètres de la régression linéaire des isothermes d'adsorption de Freundlich de la [^{14}C]-CLD sur des explants de périderme de différents légumes-racines : pomme de terre jeune (Pdt jeune), pomme de terre vieille (Pdt vieille), igname et patate douce et radis, incubés pendant 24 h dans 2 mL de solution de [^{14}C]-CLD. (Kd = constante de dissociation ± écart-type, r² = coefficient de corrélation). ..... - 108 -

Tableau 7. Teneurs en lipides dans le tissu phloémien de différents tubercules par dosage par la méthode Folch. Les valeurs obtenues sont ajustée par rapport à une valeur témoin. ..... - 113 -

Tableau 8. Facteurs de concentration de la CLD dans le rhizome (RCF) et dans la partie aérienne (CF) de plants de miscanthus cultivés pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). Moyennes de 3 réplicats avec écarts-types. ..... - 128 -

Tableau 9. Teneurs en lipides obtenues par la méthode de dosage de Folch dans des racines de graminées de 5 j. Les valeurs obtenues sont ajustée par rapport à une valeur témoin. ..... - 131 -

Tableau 10. Facteur de concentration racinaire (RCF) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3). ..... - 134 -

Tableau 11. Taux de prélèvement de la CLD du sol par la plante entière, en % de la quantité appliquée, chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et

récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3). ..... - 134 -

Tableau 12. Rapports de la masse de la partie aérienne sur la partie souterraine au cours du temps chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3). ..... - 135 -

Tableau 13. Facteur de translocation (Rocheleau et al., 2008) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3)..... - 135 -

Tableau 14. Facteur de concentration du courant de transpiration (TSCF) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3). ..... - 136 -

Tableau 15. Facteur de translocation de la CLD dans la partie aérienne (TF = [partie aérienne]/[racines]) et de concentration dans les racines (RCF = [racines]/[terre]) calculés chez du maïs et du blé cultivés pendant 2 et 3 mois dans un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (7,48 mg CLD kg^{-1}, 122 672 Bq kg^{-1}). A 2 mois, n=1, à 3 mois : moyennes de 3 valeurs ± écarts-types pour le maïs (n=3), moyennes de 2 valeurs ± écarts-types pour le blé (n=2). ..... - 136 -

Avant-propos

Cette thèse a été cofinancée par l'ADEME et l'INRA. Ces travaux ont donnés lieu à diverses communications au cours des trois années de thèse.

Publications :

C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT : « Uptake and distribution of chlordecone in radish: different contamination routes in edible roots ». *Chemosphere*. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.03.102.

Communications orales :

- XXXXème congrès scientifique du Groupe Français des Pesticides «Pesticides et environnements méditerranéens ». C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT : « L'absorption et le transfert de la chlordécone chez les plantes » Banyuls, 26-28 mai 2010.
- Journées Recherche « Sites et Sols Pollués » de l'ADEME. C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT : « Etude des mécanismes physiologiques et histologiques du transfert de la chlordécone dans les végétaux ». Angers, 13-14 janvier 2011.
- Séminaire Ecotox de l'INRA. C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT : « Le transfert de la chlordécone dans les plantes » St-Lager, 7-9 novembre 2011.

Communications par posters :

- Journées des Doctorants de l'ADEME. C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT : « Etude des mécanismes physiologiques et histologiques du transfert de la chlordécone dans les végétaux ». Paris, 10-11 février 2011.
- Journées des Doctorants SPE (Sol, Plantes et Environnement) de l'INRA : Présentation d'un poster. C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT. « Comprendre les mécanismes de transfert de la chlordécone (insecticide organochloré) du sol vers les plantes cultivées » Toulouse, 20-22 juin 2012.

- 7th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in Environment. C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT. « Transfer of chlordecone, an organochlorine pesticide, into edible-roots » Porto, 7-11 octobre 2012.
- Colloque 2013 de la SEFA (Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée). C. LETONDOR, S. PASCAL-LORBER, F. LAURENT. « Transfert de la chlordécone dans une chaîne alimentaire simplifiée : Graminée-Rongeur » Thionville, 3-4 juillet 2013.

Partie I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Introduction générale

La chlordécone (CLD) est un insecticide dont une utilisation importante est la lutte contre le développement des larves du charançon noir du bananier (*Cosmopolites sordidus*) aux Antilles françaises. Environ 300 tonnes de CLD ont été épandues aux Antilles françaises entre 1972 et 1993. L'usage de ce produit phytopharmaceutique a été interdit en 1993 après 20 ans d'utilisation aux Antilles. La CLD appartient à la classe des organochlorés, et est comme la plupart de ces composés très persistante dans l'environnement. En mai 2009, la CLD a été inscrite à l'annexe A de la convention de Stockholm, c'est-à-dire comme polluant organique persistant (POP) interdisant sa production et son utilisation et dont l'élimination des stocks et des déchets doit être recherchée. La décision est entrée en vigueur en août 2010. Outre la rémanence importante de la CLD dans l'environnement évaluée à plus de 700 ans (Cabidoche et al., 2006), cette molécule présente aussi un risque sanitaire élevé. Dès 1979, elle a été classée comme cancérigène possible (classe 2B) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC).

A priori, l'utilisation de la CLD aux Antilles présentait de nombreux avantages. Elle était plus efficace que les pesticides utilisés préalablement contre le charançon du bananier tels que le lindane, et pouvait de ce fait être appliquée à de plus faibles doses. D'autant plus que la CLD, sous forme de poudre, s'appliquait en cordon autour de chaque pseudo-tronc de bananier alors que d'autres pesticides utilisés auparavant étaient pulvérisés sur l'ensemble de la bananeraie. L'utilisation de la CLD était donc moins coûteuse pour les agriculteurs que d'autres pesticides utilisés en quantités beaucoup plus importantes et les faibles doses semblaient être moins nocives pour l'environnement. De plus, certains pesticides utilisés auparavant, notamment le lindane ou γHCH (premier insecticide de contact utilisé contre le charançon à partir de 1951) et des organophosphorés (cadusafos, fenamifos et terbufos), s'étaient révélés très toxiques quoique de rémanence faible. Au vu des avantages que semblait présenter la CLD, les autorités françaises ont donc autorisé l'utilisation de ce pesticide à partir de 1973 pour aider les planteurs bananiers dont les récoltes subissaient les dégâts causés par les charançons, de plus en plus tolérants aux pesticides utilisés. L'utilisation de la CLD a duré une vingtaine d'années.

Cependant, le site de production de la CLD avait été fermé aux Etats-Unis dès le 24 juillet 1975 du fait des graves symptômes neurologiques qui s'étaient déclarés chez les ouvriers de l'usine de production Allied Chemical à Hopewell lors d'une fuite massive de CLD. La production et la commercialisation de la CLD ont alors été interdites dès 1976 aux Etats-Unis.

En France, malgré un avis défavorable émis en 1989 par la Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole, une instance d'évaluation des risques liés aux pesticides sous la tutelle du Ministère de l'agriculture et de la pêche, à l'utilisation de CLD, l'utilisation de CLD a été prolongée du fait du développement des charançons favorisé après le passage de deux cyclones en 1979 et 1980. Aussi aucunes données toxicologiques n'existaient pour une exposition chronique à de faibles doses de CLD (en usage agricole), et pour des doses aigues elles n'ont été disponibles qu'après l'incident d'Hopewell. D'autre part, on ne connaissait aucun substituant à la CLD qui présentait la même efficacité. Encore aujourd'hui, il n'existe pas de pesticide spécifique à la lutte contre le charançon du bananier. Actuellement, la lutte consiste essentiellement en des méthodes de piégeage de masse, et des méthodes prophylactiques sont encore à l'étude.

Les risques liés à la contamination par la CLD constituent un enjeu sanitaire, environnemental, agricole, économique et social. La pollution par la CLD et ses impacts ont été pris en compte dans le plan national santé environnement (PNSE) adopté en 2004. Dès 1999, le suivi et le renforcement de plans locaux ont été assurés par le Groupe régional d'étude des pollutions par les produits phytosanitaires (GREPP) en Guadeloupe et par le Groupe régional phytosanitaire (GREPHY) en Martinique.

De 2008 à 2010, le Plan Chlordécone mené en Martinique et en Guadeloupe a visé à renforcer la connaissance des milieux contaminés, afin de réduire l'exposition et de mieux connaître les effets sur la santé, et de gérer l'exposition alimentaire. Il visait aussi à améliorer la communication auprès des acteurs de l'agriculture et de la population. Dans ce cadre-là, un projet ANR (Agence Nationale pour la Recherche) nommé CHLORDEXCO a été réalisé de 2008 à 2011. Ce projet, coordonné par le CIRAD, associait des équipes de l'IRD, de l'INRA, de SupAgro, des Universités des Antilles et de la Guyane et du Havre et de l'Institut de Chimie de la Géosphère. CHLORDEXCO avait pour objectifs de déterminer les facteurs et les processus de l'exposition des êtres vivants à la CLD présente dans le sol et de préciser le lien entre l'exposition et la contamination des végétaux et des animaux dulçaquicoles. Il

s'agissait aussi d'évaluer les impacts de la pollution des eaux sur la physiologie de ces animaux et sur leurs populations.

Dans le prolongement de cette ANR, ces travaux de thèse précisent et caractérisent les mécanismes de transfert sol-plante de la CLD.

2. Les pesticides

Les pesticides (dérivé de l'anglais pest « ravageur ») désignent des substances actives ou des formulations (substances actives plus excipients) utilisées pour lutter efficacement contre différents nuisibles en agriculture, en usage domestique, vétérinaire ou industriel. Les pesticides regroupent au sens large les produits phytopharmaceutiques, les biocides, les antiparasitaires humains et les médicaments vétérinaires. En agriculture, les pesticides sont utilisés pour la lutte chimique, en complément ou à la place d'autres techniques (lutte biologique,…), contre les différents types de ravageurs des cultures : insectes, animaux, mauvaises herbes, champignons, bactéries, vers… Ce terme générique et peu précis est aujourd'hui remplacé dans la législation communautaire par « produit phytosanitaire » (directive européenne 94/37/CE du 22 juillet 1994).

2.1. Classes et modes d'action des pesticides

Les pesticides sont le plus souvent classés en fonction de leurs cibles (insecticide, herbicide, fongicide, bactéricide, nématicide…) et en fonction de la molécule constituant la substance active. Il existe des pesticides minéraux comme la bouillie bordelaise à base de sulfate de cuivre ou les composés arsenicaux, des pesticides organiques notamment les organochlorés et les organophosphorés. Une autre classe de pesticides organique est celle des phytohormones telles que l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4D). Les pesticides ont différents modes d'action en fonction de leur cible cellulaire.

2.1.1. Les herbicides

Les herbicides minéraux les plus utilisés au début des années 1900 étaient le sulfate de fer utilisé contre les mousses, le cyanure de calcium et le chlorate de sodium. Ces deux derniers sont aujourd'hui interdits en France. Les herbicides organiques constituent la majorité des herbicides utilisés à l'heure actuelle. Leur mode de pénétration dans le végétal est variable. Il existe des désherbants totaux, non-sélectifs, comme le glyphosate qui a un mode d'action

systémique. Les herbicides racinaires regroupent entre autres les dinitroanilines ou toluidines qui sont des antimitotiques, les triazines (ex. atrazine) qui agissent en tant qu'inhibiteurs compétitifs du photosystème et les urées substituées (ex. diuron) qui sont aussi des inhibiteurs de la photosynthèse. Parmi les herbicides foliaires, on peut citer les phytohormones de synthèse (ex. 2,4D) qui entraînent une croissance anormale de la plante, les colorants nitrés (ex. PCP ou pentachlorophénol) dont certains ont aussi une action insecticide, les thiocarbamates et les ammoniums quaternaires (ex. paraquat). Dans les familles des colorants nitrés et des ammoniums quaternaires, certains sont aussi des insecticides de contact. Les thiocarbamates sont peu persistants dans les sols, contrairement aux ammoniums quaternaires, et sont relativement volatils et ont une faible toxicité.

2.1.2. Les insecticides

Les insecticides sont généralement regroupés par familles chimiques, liées à leur mode d'action. Les principales familles chimiques sont les néonicotinoïdes (ex. imidaclopride), famille chimique la plus répandue dans le monde aujourd'hui, les benzoylurées, les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse. Il existe aussi des insecticides d'origine végétale.

Les néonicotinoïdes, dont le plus connu est l'imidaclopride, substance active du Gaucho®, sont des agonistes des récepteurs nicotinique de l'acétycholine. Ce sont de puissants neurotoxiques pour les insectes. Ces composés sont utilisés pour traiter les plantes, dans lesquelles ils diffusent de manière systémique, et ciblent ainsi les insectes qui consomment les plantes traitées. Cependant ces insecticides sont soupçonnés d'être impliquées dans la baisse de population des pollinisateurs comme les abeilles (Laycock et Cresswell, 2013; Laycock et al., 2014).

Les benzoylurées (ex. diflubenzuron) sont des régulateurs de croissance des insectes qui agissent par inhibition de la synthèse de la chitine lorsqu'ils sont ingérés par les insectes. Ces composés présentent une certaine rémanence dans l'environnement, et de ce fait l'utilisation du diflubenzuron contre le pou du saumon en Norvège est à l'origine d'une controverse écologique.

Les organochlorés sont des insecticides de contact qui agissent en altérant le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la neurotransmission. Les plus connus sont le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) qui est un modulateur des canaux sodium, et ses

analogues, dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) et dichlorodiphényldichloroéthane (DDD), qui sont des métabolites de dégradation contaminants les préparations commerciales du DDT, le lindane (γHCH) ainsi que la chlordécone. Les organochlorés et les cyclodiènes sont des antagonistes des récepteurs acides gamma amino-butyriques (GABA) des canaux chlore. Les organochlorés sont des molécules organiques comportant au moins un atome de chlore. La plupart des organochlorés sont classés en tant que POP à la Convention de Stockholm (UNEP-Chemicals, 2004). Ce sont des composés très stables, peu solubles dans l'eau et à faible tension de vapeur. Ils sont très hydrophobes, ont une forte affinité pour la matière organique et sont peu dégradés par les micro-organismes (Aislabie et al., 1997). De ce fait, ils sont souvent très persistants dans l'environnement, comme le DDT dont la demi-vie est estimée à 15 ans (Mackay et al., 1997). De plus, ils ont une potentialité à se bioaccumuler le long des chaînes trophiques car ils sont facilement stockés dans les graisses.

Les organophosphorés (ex. parathion), contrairement aux organochlorés, ont une toxicité aiguë élevée mais présentent une faible rémanence. Ils sont relativement liposolubles et agissent au niveau du système nerveux comme inhibiteurs de l'acétylcholinesterase (Macherius et al., 2012).

Les carbamates, dont certaines molécules de cette famille sont des fongicides, inhibent aussi l'AChE. Ils agissent le plus souvent par contact et présentent une faible rémanence dans les sols.

Les pyréthrinoïdes de synthèse ont une toxicité sélective importante pour les insectes mais sont peu toxiques pour les mammifères. Ce sont des neurotoxiques très puissants qui agissent par contact. Comme les organochlorés, ils inhibent les canaux sodium. Du fait de leur efficacité, ils sont utilisés à des doses très réduites (10 à 40 g de matière active par ha). Ces produits sont très biodégradables et faiblement persistants dans l'environnement.

2.1.3. Les fongicides

Les fongicides sont en général moins toxiques pour l'Homme que les insecticides et les herbicides. Il existe des fongicides de contact, qui sont des produits préventifs empêchant le développement des champignons sur la plante, et depuis la fin des années 60 des fongicides systémiques qui ont l'avantage d'être utilisés en lutte préventive et curative. Parmi les fongicides de contact, les produits à base de métaux sont efficaces mais généralement phytotoxiques. Il existe donc des composés organo-métalliques, moins phytotoxiques et plus

rémanents. Les carbamates ont soit une action par contact soit systémique. Les carbamates soufrés sont des fongicides de contact qui bloquent les groupements S-H des enzymes des champignons, perturbant ainsi leur métabolisme. D'autres carbamates, dérivés de l'acide carbarique et des benzimidazoles, ont une action systémique en bloquant la division cellulaire (antimitotiques). Ces produits sont largement utilisés sur les cultures tropicales, provoquant parfois l'apparition de souches résistantes chez les oïdiums et les cercospora. D'autres fongicides systémiques importants sont les inhibiteurs de la synthèse des stérols (IBS), qui regroupent plusieurs familles chimiques telles que les strobilurines. L'inhibition des enzymes impliquées dans la synthèse des stérols entraîne une perturbation de la formation et du fonctionnement des membranes cellulaires des champignons. Parmi ces composés, on peut citer les imidazoles, les pyrimidines et les triazoles.

2.2. Développement et utilisation

L'utilisation des pesticides remonte à l'antiquité, comme le soufre dont l'usage semble remonter à 1 000 av. J.-C. Les effets pesticides des produits arsenicaux sont connus en Chine depuis le XVIème siècle. L'usage de pesticides s'est généralisé avec le développement de la chimie minérale au XIXème siècle. On utilise le sulfate de cuivre ou des produits à base de mercure comme fongicides. Des formulations à base d'arsenic ou de cuivre sont utilisées comme insecticides. L'acide sulfurique est utilisé comme désherbant de contact contre les dicotylédones sur les céréales dès 1911. Les pesticides organiques de synthèse se développent grâce à la chimie organique à partir de la Première Guerre Mondiale, qui voit son avènement dans les années 1940, en profitant notamment des recherches à but militaire lors de la Seconde Guerre Mondiale. Dans les années 1950 des molécules telles que le DDT ou ses métabolites, « chef de file » des organochlorés, sont utilisées pour lutter contre les moustiques vecteurs de la malaria, ou contre le doryphore en agriculture. D'autres pesticides sont développés pour l'industrie textile et du bois, pour l'usage domestique ou encore le désherbage des réseaux routiers.

Le marché mondial de produits phytosanitaires est partagé majoritairement entre quatre continents : l'Amérique du Nord, l'Amérique Latine, l'Asie et l'Europe, ce dernier représentant la plus grande part de marché (**Fig. 1**). L'Afrique est très peu consommatrice de pesticides et ne représente que 4% du marché mondial.

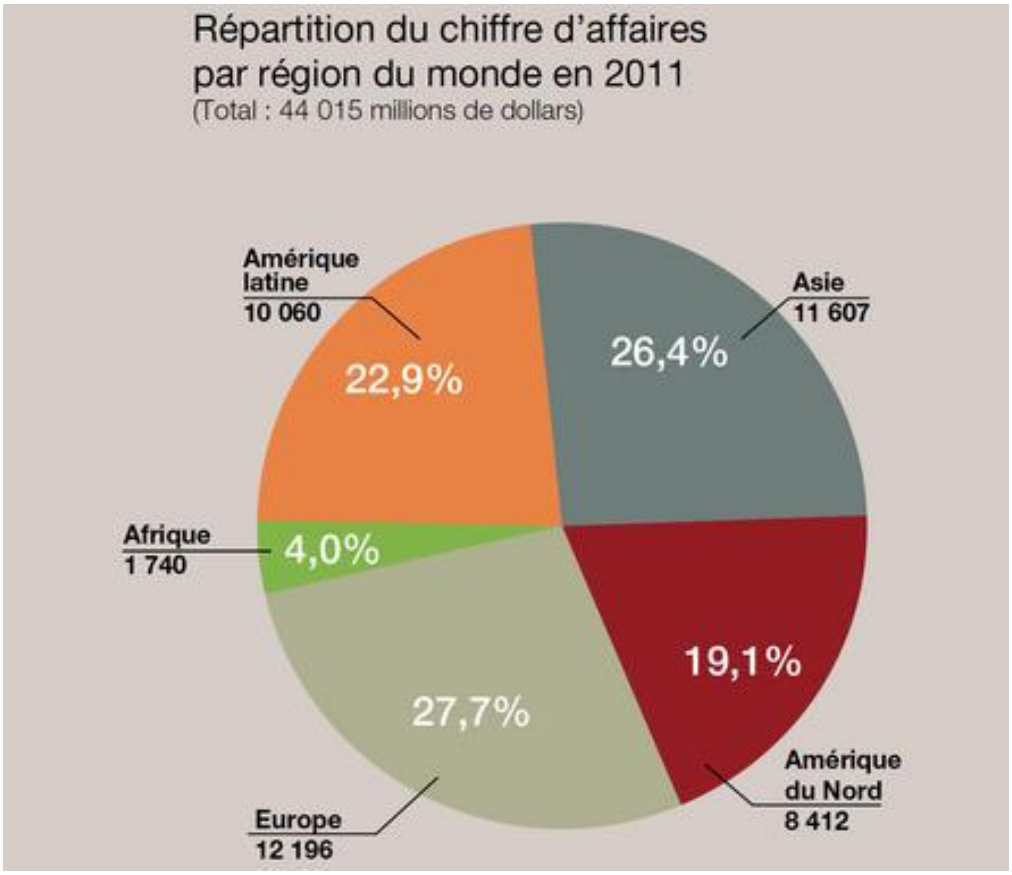


Fig. 1. Répartition mondiale du chiffre d'affaires du marché des produits phytosanitaires en 2011

(source UIPP, www.uipp.org)

Les produits les plus utilisés dans le monde sont les herbicides, les fongicides et les insecticides. Les herbicides représentent près de la moitié du marché mondial (**Fig. 2**). Cependant, en France ce sont les fongicides qui sont le plus utilisés, en terme de tonnages vendus, (43 % du marché) devant les herbicides (36%) et les insecticides (10%). Cela s'explique par le type de cultures (la viticulture, l'arboriculture et la prépondérance des cultures d'hiver) et le climat océanique favorable au développement des maladies cryptogamiques.

Avec 78 000 tonnes de matières actives utilisées en 2008 la France est aujourd'hui le 4ème consommateur mondial de pesticides derrière les USA, le Brésil et le Japon (source UIPP, www.uipp.org), mais seulement le 5ème par rapport à sa surface agricole utile (SAU). En Europe, la France est le 1er consommateur de pesticides en termes de quantité, le 3ème si on ramène la quantité à la SAU, avec 5,4 kg ha^{-1} an^{-1} (source ORP, www.observatoire-pesticides.gouv.fr).

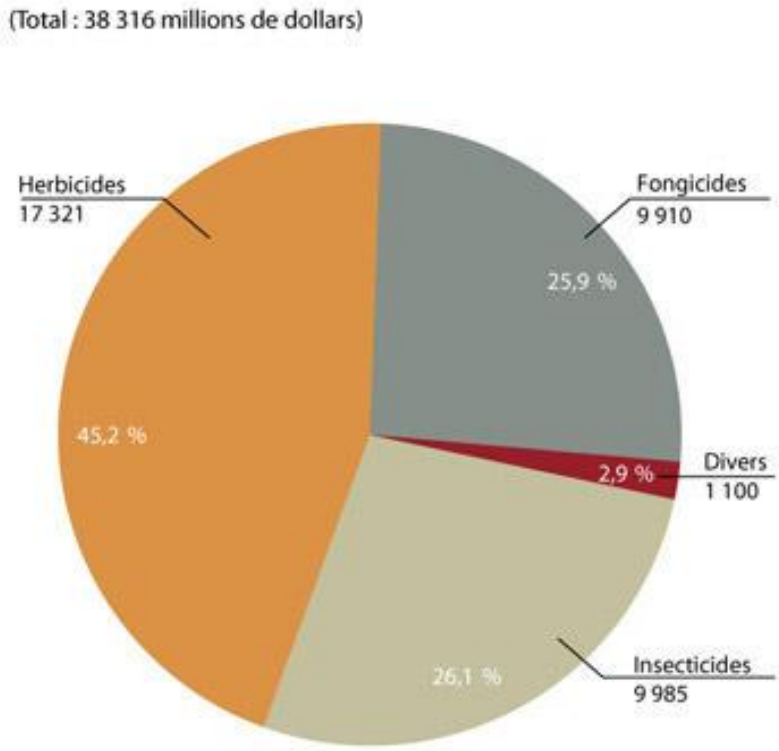


Fig. 2. Répartition du marché mondial par catégorie de produits phytosanitaires en 2010

(source UIPP, www.uipp.org)

Depuis la Seconde Guerre Mondiale, environ 1 000 substances actives appartenant à 150 familles chimiques ont été synthétisées, et plus de 10 000 spécialités commerciales ont été créées (source INVS, www.invs.sante.fr). Aujourd'hui on compte plus de 300 matières actives homologuées entrant dans la composition de plus de 3 000 spécialités commerciales utilisées en agriculture. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) des produits phytopharmaceutiques destinés à l'agriculture, est régie par la directive 91/414/CEE abrogée par le règlement (CE) n°1107/2009.

L'utilisation de pesticides en agriculture a contribué à largement augmenter les rendements et à améliorer la qualité des produits alimentaires. Ainsi, des pays comme la France sont devenus auto-suffisants au niveau alimentaire, et certains désastres comme la Grande Famine qui eut lieu en Irlande de 1845 à 1848 à cause de la perte des récoltes de pomme de terre due au mildiou sont aujourd'hui évités. De même, la contamination des récoltes par des mycotoxines qui peuvent s'avérer dangereuses pour la santé est diminuée. Par exemple, l'ergot du seigle, une maladie provoquée par le champignon *Claviceps purpurea* qui sécrète le

diéthylamide de l'acide lysergique (LSD), un alcaloïde très toxique, engendra une série d'intoxications alimentaires en France en 1951 par la contamination des céréales utilisées dans une boulangerie. L'utilisation de pesticides permet aussi d'assurer des rendements plus réguliers et donc d'assurer des prix de vente relativement stables. Cependant, si les pesticides contribuent largement à l'amélioration de la qualité sanitaire des produits agricoles, aujourd'hui leur dispersion est généralisée dans l'environnement. De plus certains effets néfastes ont été constatés, comme par exemple la perturbation du système reproducteur chez les oiseaux (Ottinger et al., 2009; de la Casa-Resino et al., 2012) et les batraciens (McCoy et al., 2008). Actuellement, de nombreux pesticides sont considérés comme des perturbateurs endocriniens potentiels ou avérés. Les limites de l'usage intensif des pesticides ont donc été mises en évidence par le risque qu'ils présentent pour l'environnement, les écosystèmes et les êtres humains et l'apparition de résistances chez les insectes.

2.3. Exposition et toxicité

Au vu du large spectre d'utilisation des pesticides, l'exposition humaine peut être professionnelle (agriculteurs, applicateurs…) ou domestique (INSERM, 2013) (par exemple, lors de l'application d'un traitement en jardin familial ou pour la désinsectisation du domicile) ou lors de l'utilisation en pharmacie humaine (traitement des poux par exemple). Ainsi, les pesticides sont aujourd'hui présents dans tous les compartiments de l'environnement (sol, eau, air). En effet, après ou lors de leur application les pesticides peuvent être transportés par l'air (volatilisation) ou par l'eau (ruissellement, lixiviation), aboutissant ainsi à la dispersion généralisée des pesticides dans l'environnement (Laini et al., 2012). Cette dispersion dans l'environnement dépend de la source d'application, des quantités utilisées, des caractéristiques des molécules et des facteurs environnementaux (Zhang et al., 2000). Par exemple, Meijer et al. (2003) ont montré que le l'hexachlorobenzène (HCB), un fongicide, était retrouvé dans les sols et que sa concentration était corrélée à la proximité de sa source d'utilisation en agriculture et à la teneur en matière organique du sol. Ou encore, Gouin et al. (2004) ont montré que les POP pouvaient être transportés dans l'atmosphère, et que chaque évènement de transport contribuait à séparer différents composés en fonction de leur masse et en fonction de la distance de la source d'émission. D'autre part des transferts de ces substances peuvent se produire entre deux compartiments de l'environnement (Hantush et al., 2000; Arias-Estevez et al., 2008; Koehne et al., 2009). Aussi, il a été montré que les transferts de pesticides entre l'air et le sol dépendaient du taux de dégradation de ces composés dans le sol (Sweetman et al., 2005). Les transferts des pesticides d'un compartiment à l'autre de

l'environnement engendrent donc la présence ubiquitaire de ces substances dans l'environnement global. Par exemple, les pesticides organochlorés, du fait de leur persistance dans l'environnement, sont retrouvés dans l'environnement global et suivent un cycle de transfert entre le sol, les plantes et l'air (Mikes et al., 2009).

L'usage des pesticides est majoritairement lié à une activité professionnelle, principalement l'agriculture mais aussi l'industrie de production des pesticides, le traitement des locaux d'habitation, les soins vétérinaires, l'industrie agroalimentaire etc… Les agriculteurs sont donc une population particulièrement exposée. Deux types d'impact sanitaire sont plus spécialement soulignés : les cancers et les maladies neuro-dégénératives. Même si globalement une sous-incidence significative de cancers est observée chez les agriculteurs, certains types de cancers semblent retrouvés de façon plus fréquente. Cette incidence moins élevée de cancers dans cette population correspond principalement à une moins grande fréquence de cancers pulmonaires (Alavanja et al., 2004a), digestifs ou de la vessie, qui sont liés au tabagisme. Or, il y a moins de fumeurs chez les agriculteurs que dans le reste de la population. En revanche, plusieurs études montrent des associations entre le risque de survenue de certains cancers et l'utilisation de pesticides. Une tendance à un risque plus élevé a été observée pour le cancer du sein chez les agricultrices (Engel et al., 2005), le cancer de la prostate chez l'homme (Van Maele-Fabry et Willems, 2004), et les cancers hématologiques (Alavanja et al., 2004b) comme la maladie de Hodgkin. L'incidence des maladies neurologiques chez les agriculteurs, comme la maladie de Parkinson, a aussi été pointée (Ritz et Yu, 2000; Moisan et Elbaz, 2011).

Ainsi, certains pesticides sont soupçonnés de jouer un rôle dans le risque de survenue de certains types de cancers chez les agriculteurs, cependant le lien n'est pas toujours évident à établir. La multiplicité des facteurs pouvant être impliqués (environnementaux, génétiques, alimentaires…) rend difficile l'exploitation des données épidémiologiques et d'établir avec certitude des liens de causalité entre une famille de pesticides et un type de cancer donné.

Des herbicides tels que la pendiméthaline, le dicamba, le métolachlore et des insecticides tels que le chlorpyrifos, le diazinon, le carbofuran et la dieldrine pourraient être associés au risque de cancer pulmonaire (Alavanja et al., 2004a). En ce qui concerne les cancers hématologiques, les phénoxyherbicides comme le 2,4D et les chlorophénols pourraient être associés aux lymphomes non-hodgkiniens. Des organophosphorés tels que le diazinon, le chlorpyrifos, le fonofos et l'alachlore pourraient être associés au risque de leucémies (Lee et

al., 2004; Freeman et al., 2005; Mahajan et al., 2006). L'exposition à l'alachlore, à l'atrazine ou au glyphosate augmenterait le risque de myélomes multiples (Lee et al., 2004; Rusiecki et al., 2004; De Roos et al., 2005). Le bromure de méthyle, reconnu comme carcinogène potentiel (Alavanja et al., 2003) et l'alachlore pourraient être en lien avec un risque de cancer de la prostate (Lee et al., 2004). Concernant les cancers du cerveau, les soupçons se portent sur les organochlorés, retrouvés dans les tissus cérébraux, les organophosphorés et les carbamates dont la neurotoxicité est avérée, ou encore sur les dérivés nitrosés. Il est aujourd'hui bien connu que les organochlorés sont des perturbateurs endocriniens, c'est-à-dire des molécules qui miment, bloquent ou modifient la fonction d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme. L'exposition à ces molécules pourrait donc avoir un lien avec la plus grande incidence de cancers du sein chez les agricultrices. Par ailleurs, en milieu agricole, de nombreuses autres expositions à des composés non pesticides peuvent être impliquées dans le risque de survenue de cancers (engrais, solvants, hydrocarbures aromatiques polycycliques, virus animaux etc.).

L'Homme est en contact quotidien avec des substances pesticides, de par son activité professionnelle, l'environnement qui l'entoure, mais aussi de par son alimentation. En effet, la présence généralisée des pesticides dans l'environnement conduit aussi à la contamination des denrées alimentaires, végétales et animales. Ainsi, pour la société, une source non négligeable d'exposition aux pesticides est la consommation de denrées végétales (ORP, 2010). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'alimentation est la principale source d'exposition aux pesticides. L'exposition humaine aux pesticides peut entraîner un risque sanitaire si ces derniers présentent une toxicité pour l'Homme. Ainsi, plusieurs études suggèrent le rôle des pesticides dans la survenue de certains cancers de l'enfant, en particulier des tumeurs cérébrales et des leucémies (Daniels et al., 1997; Zahm et Ward, 1998; Nasterlack, 2006). Toutefois, du fait des nombreuses sources d'exposition aux pesticides, il est difficile d'établir un lien entre le développement de cancers dans la population générale et la présence de résidus de pesticides dans l'alimentation. Cependant une étude a mis en évidence sept cocktails composés de deux à six résidus de pesticides auxquels la population française est fréquemment exposée par l'alimentation (Crepet et al., 2013). Or, des effets cytotoxiques (Takakura et al., 2013) et des effets génotoxiques (Graillot et al., 2012) de certains de ces résidus de pesticides ont été mis en évidence. Ces effets pourraient être impliqués dans les processus de cancérogénèse.

Face aux risques sanitaires et environnementaux évoqués ci-dessus, de nombreux pesticides présentant un risque écotoxique ou sanitaire ont été interdits. C'est le cas de l'atrazine dont l'usage a été interdit dans l'Union Européenne par la décision 2004/248/CE à la suite de l'examen relatif à l'inscription à l'annexe I[1] de la directive 91/414/CEE, en raison de sa présence généralisée et massive dans les cours d'eau et de sa toxicité sur le milieu aquatique (Graymore et al., 2001), mais aussi en en raison de son rôle de perturbateur endocrinien (Danzo, 1997). En France, sa commercialisation a été interdite en 2002 et son utilisation en 2003.

Ainsi, certains pesticides particulièrement persistants dans l'environnement et soupçonnés d'être responsables de dommages écologiques ont été inscrits comme Polluants Organiques Persistants (POP) à l'Annexe A de la Convention de Stockholm signée le 22 mai 2001.

Entrée en vigueur le 17 mai 2004, celle-ci interdit ou restreint au départ la production et l'utilisation douze polluants chimiques dangereux, les « douze vilains » ou « dirty dozen » reconnus par le Programme des Nations Unies pour l'Environnement. Aujourd'hui la convention de Stockholm proscrit la production et l'utilisation de 18 molécules chimiques considérées comme dangereuses : des produits industriels tels que les polychlorobiphényles (PCB) et 13 pesticides. Ces derniers sont tous des organochlorés. Ce sont deux fongicides, le penta- et l'hexa-chlorobenzène (HCB), et des insecticides, le chlordane, l'endrine, la dieldrine, l'aldrine, l'heptachlore, le mirex (pouvant se transformer en CLD par oxydation), le toxaphène et les isomères de l'endosulfan. Cette liste comprend également le DDT dont l'utilisation a été fortement restreinte, ainsi que les dioxines et les furanes dont le rejet a aussi été restreint. Depuis mai 2009, cette liste a été amendée notamment par l'ajout de la CLD.

De par les problèmes environnementaux et sanitaires engendrés par l'utilisation des pesticides, des plans d'action ont été mis en place afin de réduire le recours à ces molécules. En 2000, le parlement européen et le Conseil ont adopté la directive cadre sur l'eau (DCE). Cette directive a pour objectif la préservation et la restauration des eaux et des milieux aquatiques, dans le but d'atteindre le bon état de toutes les eaux (eaux de surfaces, souterraines, littoraux) en 2015. En 2008 le plan national Ecophyto 2018 a été instauré pour atteindre l'objectif d'une réduction de 50% de l'usage des pesticides au niveau national en 10

[1] L'annexe I recense les substances actives dont l'incorporation dans les produits phytopharmaceutiques est autorisée.

ans, tel que le prévoit la loi Grenelle 1. De plus, grâce à l'amélioration des performances des matières actives qui nécessitent des doses moins fortes, la consommation de pesticides en France diminue globalement depuis le début des années 2000.

3. Les insecticides organochlorés

Les insecticides organochlorés sont des composés organiques comportant au moins un atome de chlore, obtenus par chloration de différents hydrocarbures insaturés. Ces molécules sont caractérisées par une faible solubilité dans l'eau et une forte résistance à la dégradation, qu'elle soit biologique, chimique ou photolytique (Simonich et Hites, 1995; Willett et al., 1998). Les organochlorés sont donc persistants dans l'environnement et présentent une forte capacité à se bio-accumuler le long des chaînes trophiques. Plusieurs sont inscrits comme POP dans l'annexe A de la convention de Stockholm.

Du fait d'une forte demande à la fois du secteur agricole et de l'industrie, les premiers organochlorés synthétiques ont été produits dans les années 1930, avec notamment la synthèse des PCB, et la production du DDT qui fut synthétisé pour la première fois dès les années 1870. Les utilisations se sont multipliées par la suite, en agriculture, dans le secteur industriel (isolants thermiques), en usage domestique (désinsectisation) ou vétérinaire (le lindane par exemple agit en tant qu'antiparasitaire), conduisant à la synthèse de nombreuses molécules. Toutefois, l'usage intensif de ces nouveaux composés a entraîné l'apparition de résistances en particulier chez les insectes, amenant à une utilisation encore plus massive dans le but d'optimiser leurs applications (Regnault-Roger et al., 2004).

De plus, l'utilisation de certains pesticides organochlorés a donné lieu à des dégâts sanitaires et environnementaux importants. C'est le cas du DDT qui fut largement épandu pendant la Seconde Guerre Mondiale pour lutter contre les arthropodes vecteurs de maladies, comme la malaria due à un parasite du genre *Plasmodium* transmis par la piqûre de certains moustiques anophèles et le typhus transmis par les poux, tant dans le cadre civil que militaire. Historiquement, le DDT a été le premier pesticide pointé du doigt comme présentant un risque pour l'environnement, mis en cause dans la diminution de la population d'oiseaux depuis 1945. Le DDT, bien qu'étant le premier produit phytosanitaire à avoir été considéré comme un polluant persistant, a seulement été placé sur la liste de l'annexe B de la convention de Stockholm, annexe B définissant les produits dont l'usage est limité. Cela afin de permettre

l'utilisation du DDT dans la lutte contre les vecteurs de maladie comme la malaria. Certains voudraient d'ailleurs étendre, en situation d'urgence, son usage à la lutte antiacridienne. La demi-vie du DDT dans l'environnement est évaluée à 15 ans (Mackay et al., 1997). La persistance du DDT résulte d'une lente dégradation par les micro-organismes du sol, conduisant à la formation de métabolites, DDE et DDD, ayant les mêmes propriétés physico-chimiques que le DDT, qui affaiblissent la résistance des micro-organismes au DDT. Le DDT et ses métabolites sont considérés comme « DDT total » (Σ DDT). Ces composés sont fortement lipophiles avec un log K_{ow} compris entre 5,5 et 6,9. Ainsi ils sont fortement adsorbés sur les particules du sol et sont moins disponibles pour la dégradation. A cela s'ajoute un phénomène d'altération ou « weathering », changeant la composition chimique et minéralogique du sol, par alternance de périodes humides et sèches, ce qui a pour conséquence de diminuer la biodisponibilité des composés hydrophobes pour les animaux et les plantes (Lunney et al., 2004). Le Σ DDT est bio-accumulé dans les chaînes trophiques, se stockant préférentiellement dans la graisse des animaux. Le Σ DDT est toxique pour les insectes et les organismes aquatiques. Il est moins toxique pour les mammifères et les humains mais est suspecté d'être un perturbateur endocrinien et l'Environmental Protection Agency (EPA) l'a classé comme cancérigène probable.

Un autre exemple est celui du tristement célèbre « agent orange », un puissant herbicide qui est en fait un mélange d'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) et d'acide trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T). Ces molécules ne sont pas des insecticides organochlorés, mais le 2,4,5-T est contaminé quasi-systématiquement par des dioxines, qui elles sont des composés organochlorés persistants. L'agent orange était utilisé par l'armée américaine pendant la guerre du Viêtnam afin de défolier les arbres et obliger leurs ennemis à évoluer en terrain découvert. La toxicité de ce produit n'était alors pas connue. Ce n'est qu'en 1969 que la contamination par des dioxines fut révélée au public. La stabilité de ces produits a entraîné l'exposition de la population encore longtemps après la fin de la guerre, occasionnant de nombreux cas de cancers ou de malformations à la naissance.

4. La chlordécone

4.1. Propriétés physico-chimiques de la chlordécone

La CLD, de formule brute $C_{10}Cl_{10}O$ (CAS 143-50-0) est une molécule organochlorée. Elle appartient à la famille chimique des bishomocubanes, caractérisée par une structure en cage

(**Fig. 3**). Sa masse moléculaire est de 490,64 g mol^{-1}. Ses dix atomes de chlore en font une molécule apolaire. Contrairement au DDT, la présence d'une fonction cétone permet sa dégradation en monohydro-($C_{10}Cl_9HO$) et en dihydro-($C_{10}Cl_8H_2O$) (Orndorff et Colwell, 1980). La lipophilie de la CLD est relativement élevée avec un coefficient de partage octanol/eau log K_{ow} compris entre 4,50 (Howard, 1991), valeur le plus communément utilisée, et 5,40 (UNEP, 2006). La chlordécone est une molécule fortement adsorbée dans les sols, non ionisable, faiblement volatile (pression de vapeur : $2{,}5.10^{-5}$ mm Hg), peu soluble dans l'eau (3 mg L^{-1} à 20°C) (PRAM, Avril 2011), très hydrophobe. Elle présente une forte affinité pour la matière organique (Dawson et al., 1979). Cependant, des valeurs extrêmement variables du coefficient de partage (K_{oc}) entre la fraction équivalente sorbée sur le sol normalisée par rapport au pourcentage de carbone organique du sol et la fraction soluble dans l'eau sont relatées: de 2 000 L kg^{-1} (Bonvallot et Dor, 2004) à 17 500 L kg^{-1} (Kenaga, 1980).

La CLD est par conséquent très stable dans les sols. De plus, il n'y a aujourd'hui aucun constat de dégradation naturelle de la molécule dans l'environnement. En effet, même si certains micro-organismes ont la capacité d'enlever un ou deux atomes de chlore (Orndorff et Colwell, 1980; George et Claxton, 1988), la demi-vie de la CLD a été estimée à 30 ans dans certains sols volcaniques (Cabidoche et al., 2009), soit deux fois celle du DDT (Mackay et al., 1997).

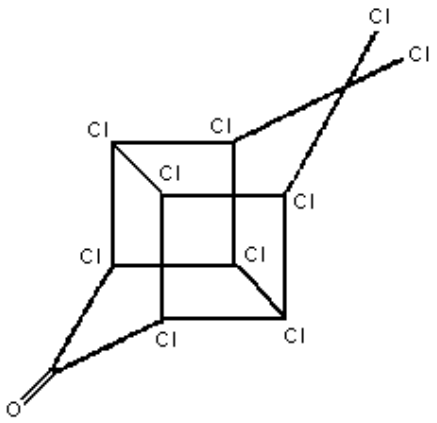


Fig. 3. Structure chimique de la chlordécone

La CLD entrait dans la composition de différentes formulations commerciales de pesticides, Curlone®, Képone®, GC-1189®, Kelevan®, principalement à usage agricole mais aussi à usage domestique. Le large spectre d'utilisation de la chlordécone a conduit à l'élaboration de

55 formulations commerciales, avec des dosages très variés de substance active : de 0.125% pour les pièges à fourmis, 5% pour lutter contre le charançon du bananier (Képone® puis Curlone® aux Antilles), 50% contre le criquet de Floride, à 90% pour lutter contre les doryphores. Le Kelevan®, un pesticide obtenu par condensation de la CLD avec de l'éthyl levulinate, été utilisé en République Fédérale d'Allemagne contre le doryphore de la pomme de terre. La CLD a été employée également en tant que fongicide, pour lutter contre le mildiou et la tavelure du pommier ainsi que contre les ravageurs du tabac et des agrumes aux Antilles. D'autres formulations à usage domestique, telles le GC-1283® ou le Mirex® (perchlordécone, chimiquement très proche de la CLD), ont été utilisées pour lutter contre les fourmis manioc ravageurs des cultures vivrières (manioc, igname, patate douce) et en tant que retardateur de flamme (Dechlorame®).

Les formulations utilisées aux Antilles étaient le Kepone® dosé à 5% et le Curlone® dosé à la même concentration, pour lutter contre la larve du charançon noir du bananier (*Cosmopolites sordidus*) qui s'attaque aux souches des bananiers.

4.2. La lutte contre le charançon du bananier aux Antilles françaises

Le charançon noir du bananier (*Cosmopolites sordidus*) est un insecte phytophage inféodé aux bananiers. Il représente l'un des ravageurs les plus importants de cette culture. Les dégâts causés par cet insecte ont longtemps été contrôlés par lutte chimique, par l'utilisation de molécules organochlorées comme le lindane, l'isomère gamma de l'hexachlorocyclohexane (γHCH), puis la CLD. La lutte chimique contre cet insecte a d'ailleurs commencé en 1951 avec l'hexachlorocyclohexane (HCH), un insecticide de contact neurotoxique utilisé en traitement du sol. L'apparition des insecticides de contact marqua un tournant dans la lutte contre le charançon.

Aujourd'hui, un seul produit est homologué pour lutter contre le charançon du bananier, le Nemathorin® 10G dont la substance active est le fosthiazate, un organophosphoré. Il est utilisé en premier lieu en tant que nématicide, présentant une activité insecticide secondaire. Aucun insecticide spécifique de la lutte contre le charançon du bananier n'est plus actuellement homologué. Aujourd'hui, la lutte biologique par piégeage est préférentiellement utilisée, ainsi que des techniques prophylactiques pour prévenir la prolifération de cet insecte. Il est recommandé d'utiliser des surgeons sains ou de les nettoyer avant de les planter au minimum à 60 cm de profondeur pour ne pas que les charançons puissent les trouver,

d'assainir la parcelle par mise en jachère ou par des rotations ou encore de laisser les tiges taillées en champ pour servir de supports et éviter que les charançons n'infestent les plants sains. Une des techniques proposée par l'INRA en 2002 est une méthode de lutte intégrée combinant une phéromone attractive spécifique du charançon, la sordinine, et un nématode entomopathogène, *Steinernema carpocapsae*. Mais cette technique n'est actuellement pas développée car l'autorisation d'importation de la souche de nématode aux FWI n'a pas été obtenue. L'Institut Technique Tropical (IT²) quant à lui travaille actuellement sur une méthode de lutte utilisant un champignon parasite naturel du charançon, *Beauvaria bassiana*. De plus le CIRAD étudier des méthodes de contrôle du charançon par les fourmis (Vinatier et al., 2010; Mollot et al., 2012).

4.3. Historique de l'utilisation de la CLD aux Antilles

4.3.1. Production et commercialisation de la chlordécone

La CLD a été synthétisée pour la première fois en 1951 et fut brevetée en 1952 par la société américaine « Allied Chemical » (Le Déaut et Procaccia, 2009). La commercialisation par cette même société de deux formulations à 5% de matière active, Képone® et GC-1189®, a débuté en 1958. La molécule était produite dans trois usines situées aux Etats-Unis, dans le Delaware, en Pennsylvanie et à Hopewell en Virginie.

En juillet 1975, de graves défaillances du système de sécurité de la chaîne de production furent constatées à l'usine d'Hopewell (Virginie, USA), entraînant une fuite importante de CLD et l'arrêt de la production. La pollution occasionnée au niveau local a provoqué de graves troubles neurologiques et testiculaires chez les ouvriers de l'usine et la population locale. Les effets, du nom de « syndrome képone » étaient des tremblements des membres, des dysfonctionnements moteurs, des mouvements anarchiques des globes oculaires, des troubles de l'humeur et de la mémoire ainsi que des modifications des caractéristiques spermatiques. Ces premières constatations des effets d'une exposition aigüe à la chlordécone ont permis d'établir qu'un seuil minimal de 1 mg de CLD par litre de plasma était associé à la présence de ces symptômes et qu'un seuil maximal compris entre 0,2 et 0,5 mg L^{-1} était associé à l'absence d'effets indésirables (Taylor, 1982; Multigner, 2007). Cependant cet incident n'a pas fourni, à cette époque, de données concernant les effets d'une exposition chronique à la CLD.

Suite à cet incident, la fabrication et la commercialisation de la CLD ont été interdites en 1976 aux Etats-Unis.

Aux Antilles Françaises, l'importation de la CLD avait commencé dès 1972, donc avant l'accident d'Hopewell. De 1972 à 1976, la CLD était importée des Etats-Unis sous la forme de Képone® par la société Vincent de Lagarrigue et par l'intermédiaire d'une filiale de Dupont de Nemours. De 1981 à 1993, le Curlone® formulé à 5% de CLD était commercialisé par Vincent de Lagarrigue qui l'achetait à la société Calliope, basée dans l'Aude en France métropolitaine. Cette dernière établissait la formulation du produit après achat de la matière active à la société brésilienne AgroCeres qui elle-même sous-traitait la synthèse à la société AgroKimicos basée dans l'état de Sao Paolo. Entre ces deux périodes, la lutte chimique contre le charançon du bananier s'effectuait par l'utilisation d'autres molécules, en particulier organophosphorées.

4.3.2. Utilisation de la chlordécone aux Antilles

Dès 1968, la commission « d'étude de la toxicité des produits phytopharmaceutiques, des matières fertilisantes et des supports de culture » avait conseillé l'interdiction de la CLD en raison des risques sanitaires engendrés par l'exposition à la molécule chez l'Homme et l'animal. Cependant, la CLD présentait une efficacité supérieure contre le charançon et donc pour une application à des doses bien inférieures aux autres organochlorés utilisés jusqu'en 1971. Ceci donna lieu à la délivrance d'une autorisation provisoire d'un an de commercialisation de la CLD sous forme de Képone®. De plus, l'AMM du lindane, un organochloré qui était auparavant utilisé pour lutter contre le charançon du bananier à des doses pouvant aller jusqu'à 300 kg/ha/an de matière active du fait d'une accoutumance progressive du charançon, venait d'être retirée. Les produits de substitution au lindane étaient des organophosphorés tels que le cadusafos, le terbufos et le fenamifos, et des carbamates tels que l'aldicarbe. En plus de leur efficacité relative, ils se sont révélés être très toxiques pour l'applicateur. D'autres produits tels que des cyclodiènes comme l'aldrine et la dieldrine s'étaient aussi montrés peu efficaces du fait de développement de résistances chez le charançon. La CLD, appliquée à 3 kg/ha/an de matière active, semblait donc présenter des avantages non négligeables pour les planteurs, qui s'y retrouvaient aussi au niveau financier.

Le passage des cyclones David en 1979 et Allen en 1980 sur les Antilles fragilisa les cultures de bananiers et favorisa aussi la prolifération des charançons en raison des fortes

précipitations. La formulation Curlone® fut alors homologuée officiellement en 1981 et utilisée jusqu'en septembre 1993.

En effet, malgré l'avis de la commission d'étude de la toxicité recommandant en 1989 d'interdire la CLD et entraînant le retrait de l'autorisation de vente de Curlone® en février 1990 et l'interdiction de la substance active en juillet 1990, la législation permettait la vente encore un an après le retrait d'homologation. La production de Curlone® a donc été arrêtée en mars 1991. Cependant, en février 1992, une dérogation a été accordée aux planteurs bananiers pour un délai supplémentaire d'utilisation jusqu'au 28 février 1993, délai prolongé jusqu'au 30 septembre 1993 pour permettre l'écoulement des stocks de Curlone®. Cette demande des planteurs s'appuyait sur le fait que les produits de remplacement de la CLD étaient soit inefficaces, soit encore en cours d'expérimentation. Le Curlone® a été définitivement interdit fin 1993.

La lenteur du processus d'interdiction de la CLD s'explique par le fait qu'à l'époque, les délais entre l'autorisation d'emploi d'un produit et le constat de ses effets polluants étaient beaucoup plus longs, de 1972 à 1989 dans le cas de la CLD aux Antilles. Les techniques et les moyens de mesure d'un produit ou de ses effets étaient moins bien développés. De plus, ce n'est que depuis 2001 que les instances d'évaluation d'un produit et les autorités chargées de prendre les décisions concernant ce produit sont séparées. Depuis la loi d'orientation agricole du 5 janvier 2006, l'évaluation d'un produit est confiée à l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA, devenue ANSES) et l'homologation est à la charge du ministère. L'homologation d'un produit est aussi soumise à la surveillance d'un comité de suivi.

La société Calliope a produit environ 4 000 tonnes de Curlone® soit 200 tonnes de substance active sur la période de 1981 à 1993. En considérant que l'utilisation de la CLD était sensiblement la même pour la période de 1972 à 1976, l'utilisation de CLD est estimée à 300 tonnes sur les îles de Martinique et de Guadeloupe sur la période 1972-1993. Cela représente 19% des 1 600 tonnes de CLD produites dans les trois usines des Etats-Unis.

Aux Antilles, la CLD a donc été utilisée pendant 20 ans sous forme de Képone® puis de Curlone®. Elle était appliquée sous forme de cordon de poudre autour des pieds de bananiers, soit 1,5 g de CLD par pied, pour lutter contre le charançon du bananier. A raison de 800 pieds de bananiers par hectare et de deux épandages pour un cycle de culture de 8 mois, 3 kg de CLD par hectare et par an ont été appliqués. Aujourd'hui, les bassins versants et les anciennes

bananeraies sont contaminés à des concentrations variant de 0,2 à près de 50 mg kg^{-1} de sol, et représentent 2/5ème de la SAU en Martinique et 1/5ème en Guadeloupe. Cette contamination constitue à la fois un risque environnemental et un risque sanitaire. En effet, la CLD a été classée comme polluant organique persistant (POP) à la Convention de Stockholm en mai 2009 après le constat de risques sanitaires liés à l'exposition à la CLD et de sa longue rémanence dans les sols (Cabidoche et al., 2009).

4.3.3. Réglementation

La surveillance de la présence de pesticides dans les eaux de surface, souterraines et côtières des Antilles, notamment depuis 1991 en Martinique, a montré la présence de CLD dans les eaux. Cela a conduit à la fermeture d'un captage d'eau de la source Gradis alimentant partiellement la commune de Basse-Pointe en juillet 1999. Il a alors été établi que cette contamination provenait des sols sur lesquels avait été appliquée la CLD. S'est alors posé la question de savoir si les plantes à usage alimentaire qui poussaient sur ces sols pouvaient aussi être contaminées. En 2003, deux arrêtés préfectoraux en Martinique et en Guadeloupe ont imposé l'analyse des sols avant d'y produire des plantes destinées à l'alimentation humaine. Si la présence de CLD était confirmée, les végétaux devaient à leur tour être analysés, et détruits si contaminés, même en l'absence de limite maximale de résidus (LMR). Ainsi, les directions générales de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) de Guadeloupe et de Martinique ont procédé au contrôle et au retrait de nombreux produits agricoles pour non-conformité. En Martinique, 14 destructions de récolte de légumes-racines, igname, dachine, manioc, patate douce en particulier, ont été effectuées entre 2003 et 2005. Il devenait donc nécessaire de produire des normes toxicologiques pour la CLD. Le 6 mars 2003, l'AFSSA a donc été chargée de fixer une LMR pour la CLD, supérieure à la limite de quantification, pour les denrées alimentaires, ainsi qu'une valeur toxicologique de référence (VTR). Deux références toxicologiques sont alors produites concernant la CLD : une limite tolérable d'exposition répétée chronique de 0,5 µg kg^{-1} de poids corporel et par jour et une limite d'exposition aiguë de 10 µg kg^{-1} de poids corporel et par jour. En octobre 2005, des LMR provisoires, qui s'appuyaient sur des données locales de contamination croisées avec des données de consommation, fixent une limite à 50 µg kg^{-1} pour les denrées fréquemment consommées (produits de la mer, légumes-racines, concombre) et une limite à 200 µg kg^{-1} pour les denrées consommées plus rarement (poissons, crustacés, canne à sucre, ananas). Le 24 octobre 2007, la Commission européenne retient de nouvelles valeurs de LMR, afin d'harmoniser les normes de résidus de pesticides en vigueur dans les

différents Etats de l'Union européenne, conformément au règlement 396/2005/CE du 23 février 2005, relatif aux « limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale ». Sur la base de données européennes et non plus locales, les LMR sont redéfinies en 2008 à 20 $\mu g\ kg^{-1}$ pour les denrées cultivables sous climat tropical (agrumes, fruits tropicaux, légumes, maïs, canne à sucre…) et à 10 $\mu g\ kg^{-1}$ pour tous les autres végétaux. Pour les denrées d'origine animale, les LMR sont fixées à 20 $\mu g\ kg^{-1}$.

5. Transfert des pesticides du sol vers les plantes

Les pesticides ou les autres composés organiques xénobiotiques (substances étrangères à un organisme vivant) présents dans le sol peuvent pénétrer dans les plantes par absorption racinaire (ou les organes souterrains tels les tubercules). Ce transfert sol-plante dépend principalement des propriétés physico-chimiques des xénobiotiques, en particulier sa lipophilie, et de la composition du sol et de ses propriétés physico-chimiques. En outre, le transfert dépend de la plante elle-même, de son architecture et de ses caractéristiques histologiques et physiologiques.

5.1. Influence des propriétés physico-chimiques des pesticides

Les propriétés physico-chimiques des pesticides sont très différentes ; elles dépendent de leur famille chimique mais aussi de l'existence de substituants très variés ayant des motifs moléculaires particuliers.

5.1.1. Lipophilie et solubilité dans l'eau

La pénétration et le transfert de la plupart des xénobiotiques dans les plantes dépendent de leur lipophilie, c'est-à-dire de l'équilibre entre l'affinité des produits chimiques pour la phase aqueuse et pour la phase lipidique. La lipophilie détermine la facilité de transfert à travers les membranes cellulaires, formées de bicouches lipidiques, des organismes. Chez les plantes se rajoutent des barrières lipophiles non membranires que sont la cuticule des feuilles, le périderme racinaire ou, plus en profondeur dans les tissus le cadre de Caspary qui entoure certains endodermes. La lipophilie va ainsi gouverner la pénétration des xénobiotiques dans les plantes mais aussi le transport à longue distance dans le végétal.

La lipophilie est généralement évaluée en utilisant le coefficient de partage octanol/eau, K_{ow}. Elle peut aussi être estimée à partir de la solubilité dans l'eau par les équations suivantes (Briggs et al., 1982) :

- pour des liquides : $\log WS = 0,84 – 0,84 \log K_{ow}$

-pour des solides : $\log WS = 0,01 – \log K_{ow} – (0,01\ Tm – 0,25)$

où WS représente la solubilité dans l'eau (mol L^{-1}) et Tm le point de fusion (°C).

5.1.2. Pression de vapeur

Le transfert d'un pesticide du sol vers la plante par la phase vapeur peut se révéler non négligeable pour des composés volatils tels que le lindane. Ils sont alors absorbés de la phase vapeur du sol par les racines de la plante ou par le feuillage. L'équilibre des composés organiques volatils entre la phase vapeur et liquide est décrit par la loi de Henry. La constante de Henry (H') pour un composé est représentée par le rapport entre sa concentration dans la vapeur saturée et sa solubilité dans l'eau :

$$H' = \frac{T}{273 \times vp\ 10^{-5}} \times \frac{1}{22,4\ WS}$$

où vp est la pression de vapeur (Pa) et WS est la solubilité dans l'eau (mol L^{-1}) mesurée à la température T (K). Les composés organiques ayant une constante de Henry élevée auront ainsi une forte concentration dans la phase vapeur comparée à celle dans l'eau du sol et seront absorbés principalement via la phase vapeur (ex. lindane).

5.2. Architecture, histologie et physiologie de la plante

Les xénobiotiques contenus dans le sol peuvent être absorbés puis transférés dans la plante en pénétrant dans les racines. Une plante absorbe les éléments nutritifs nécessaires à sa croissance, l'eau et les minéraux présents dans la solution du sol, par les racines, au niveau des poils absorbants qui sont des zones non subérifiées. Certaines plantes peuvent aussi capter l'eau par leurs tiges (plantes aquatiques) ou par toute leur surface (thallophytes). L'absorption de cette solution, qui constitue la sève brute dans la plante, est étroitement liée à l'évapotranspiration foliaire qui crée un appel d'eau ascendant le long de la tige jusqu'aux feuilles et à la pression racinaire due à l'absorption active d'eau. Les pesticides contenus dans

le sol peuvent donc pénétrer dans la plante s'ils sont solubles dans la solution du sol. Dans le cas de pesticides peu solubles, plus lipophiles, ils peuvent rester adsorbés sur les racines.

La sève brute circule dans la plante par un mouvement acropétale, via les vaisseaux du xylème. Lorsqu'un pesticide est absorbé, il peut être transféré vers les parties aériennes de la plante, drainé par la sève brute. Il peut aussi être métabolisé. Lors de la photosynthèse le CO_2 est transformé en assimilats carbonés. Cela constitue la sève élaborée qui circule dans les vaisseaux de phloème jusqu'aux organes puits (fruits, bourgeons, tige, fleur, tubercule) (**Fig. 4**). L'organisation des différents organes de la plante et leur emplacement par rapport au circuit de la sève est donc déterminante dans leur alimentation par la sève. Ainsi, le transfert d'une molécule donnée via les faisceaux vasculaires est dépendant de l'architecture de la plante.

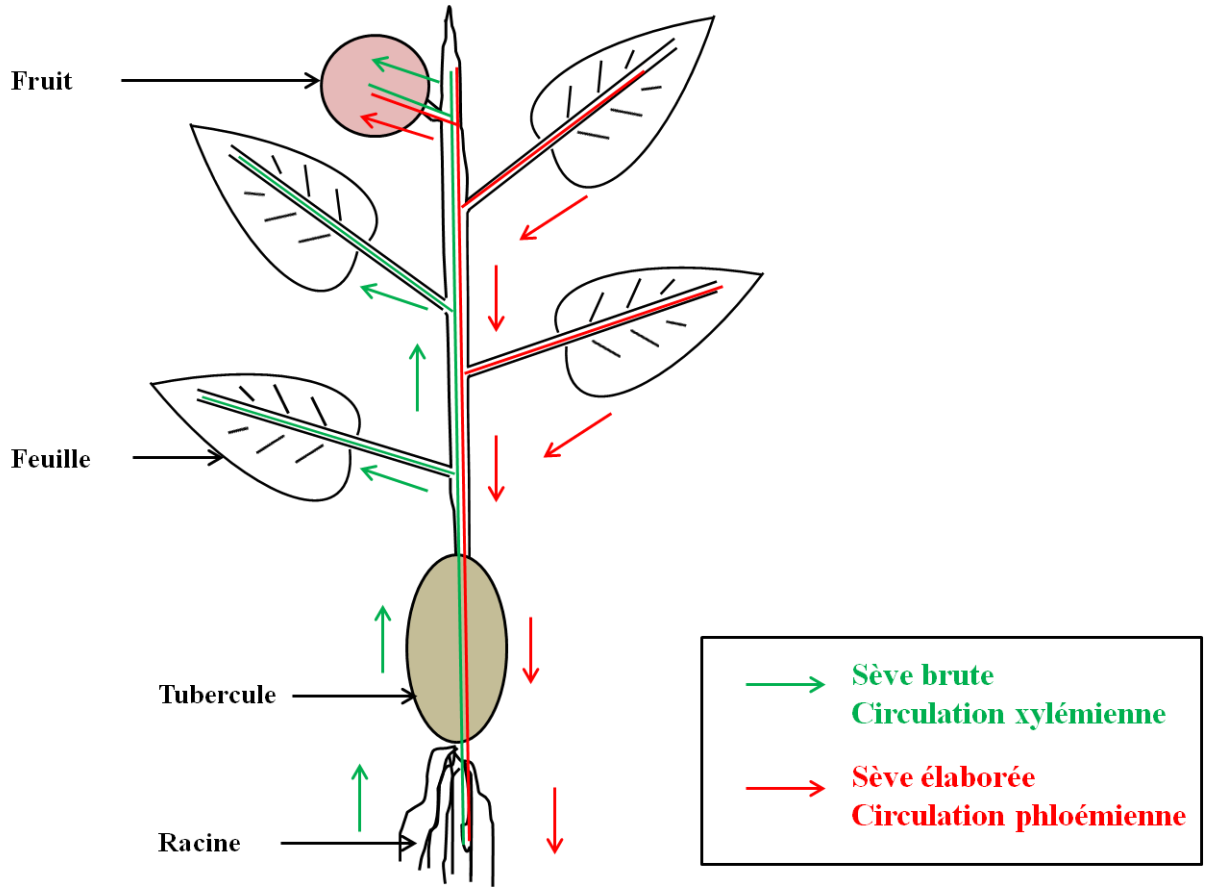


Fig. 4. Schéma des flux de sève brute et élaborée dans une plante

La circulation de la sève s'effectue dans deux types de tissus : le xylème pour la circulation de la sève brute et le phloème pour la circulation de la sève élaborée, chargée en assimilats carbonés. Ces deux tissus différents par leur fonction diffèrent aussi par leur histologie.

Le xylème est constitué de parois de cellules mortes, différenciées en éléments de vaisseaux ou en trachéïdes (**Fig. 5**). Ces deux types d'éléments possèdent des ponctuations, qui sont des amincissements de la paroi primaire. Dépourvues de paroi secondaire, dont un des constituants majeur est la lignine, les ponctuations permettent les transferts intercellulaires. Les éléments de vaisseaux possèdent en plus de véritables perforations favorisant ces transferts. Ces vaisseaux représentent des caractères distinctifs d'un groupe de plante : les trachéïdes sont caractéristiques des gymnospermes alors que les éléments de vaisseaux sont caractéristiques des angiospermes. Le bois des angiospermes contient aussi des fibres de type trachéïdes.

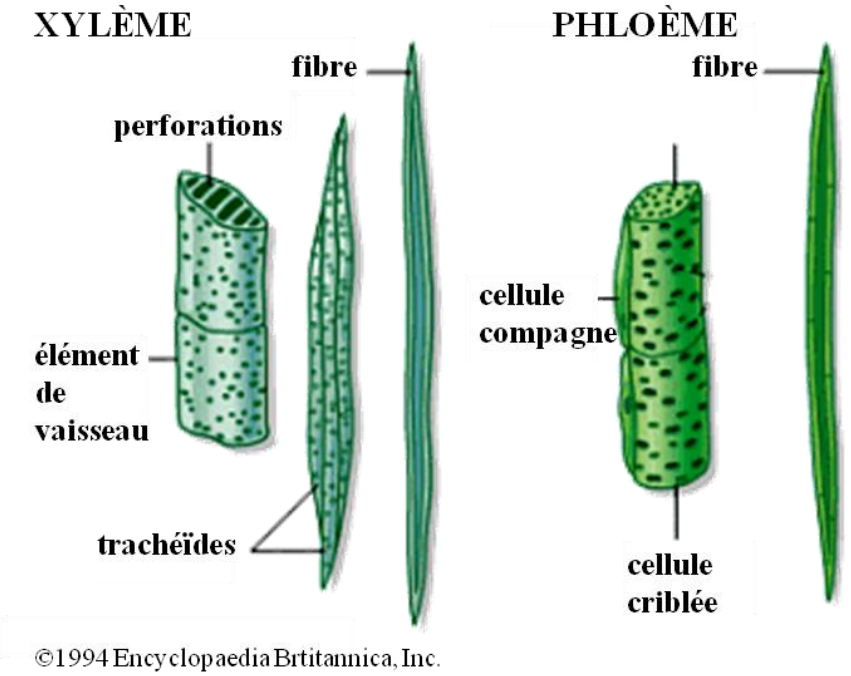


Fig. 5. Cellules constitutives des vaisseaux de xylème et de phloème

Le phloème (ou liber) est constitué de cellules vivantes, les cellules criblées, chacune formant un tube perforé à ses extrémités. Les cellules criblées sont associées aux cellules compagnes avec lesquelles elles communiquent par des plasmodesmes (**Fig. 6**). Ce sont des canaux qui traversent les parois cellulaires et relient les membranes plasmiques et leurs contenus

cytoplasmiques. L'eau et les petits solutés peuvent ainsi circuler librement d'une cellule à l'autre. Les plasmodesmes sont souvent groupés pour former une ponctuation.

Les vaisseaux de xylème et de phloème sont regroupés sous forme de faisceaux vasculaires dans les tissus. Dans les tissus foliaires, ces faisceaux sont entourés de cellules particulières appelées cellules de la gaine facsiculaire.

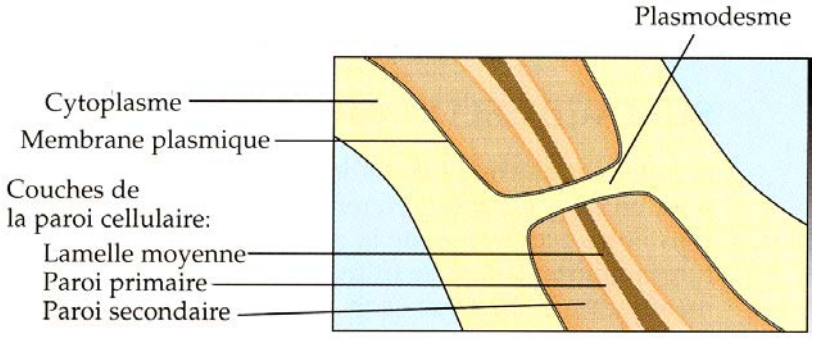


Fig. 6. Détail de la paroi d'une cellule végétale

Les pesticides solubles dans la solution du sol peuvent donc être absorbés puis transloqués dans toute la plante par la sève brute via la circulation xylémienne. L'organisation des organes de la plante sur le trajet de la sève brute ainsi que la densité de vaisseaux xylémiens dans un organe (ex. tubercule) conditionnent donc le transfert potentiel d'une molécule dans la plante. Par exemple l'organisation des organes du radis est différente de celle de l'igname (**Fig. 7**). Chez le radis, les racines se trouvent sous le tubercule alors que chez l'igname, celles-ci sont au-dessus du tubercule. Par conséquent chez l'igname, le tubercule n'est pas traversé par le flux de sève brute qui amène les éléments nécessaire à la photosynthèse dans les organes aériens, tige et feuilles. Ainsi les pesticides potentiellement présents dans la solution du sol ne traversent pas le tubercule lors de l'absorption racinaire.

Au niveau cellulaire, une molécule peut traverser l'épiderme racinaire ou le périderme du tubercule, puis le cortex et pénétrer jusque dans la stèle. Plusieurs voies sont alors possibles. Le pesticide peut se déplacer (i) soit dans l'apoplaste, c'est-à-dire dans l'espace intercellulaire ou via les parois, (ii) soit d'une cellule à l'autre au travers des membranes cellulaires (voie transmembranaire) ou (iii) par les ponctuations qui interrompent la paroi (voie symplastique) (**Fig. 8**). Le degré de lignification des tissus (parois cellulaires et périderme du tubercule) et le taux de lipides, propre à chaque plante, constituent donc des facteurs importants dans le

transfert d'une molécule donnée en fonction de ses propres caractéristiques physico-chimiques. Dans le cas d'un tubercule, l'épaisseur et la tortuosité du périderme jouent un rôle majeur dans le transfert d'une molécule au travers de celui-ci. L'origine des tissus de remplissage, phloémienne ou xylémienne, et la nature des tissus qui composent un organe de stockage, influencent aussi le transfert d'un xénobiotique.

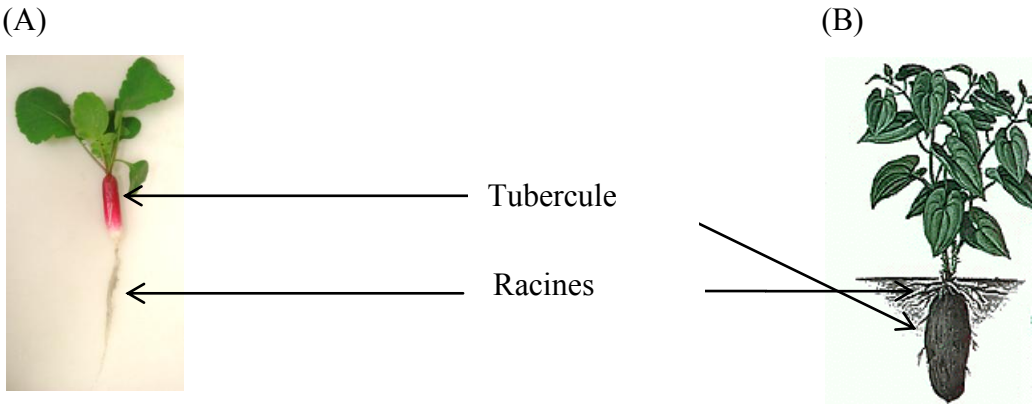


Fig. 7. Organisation des organes souterrains chez (A) le radis et (B) l'igname

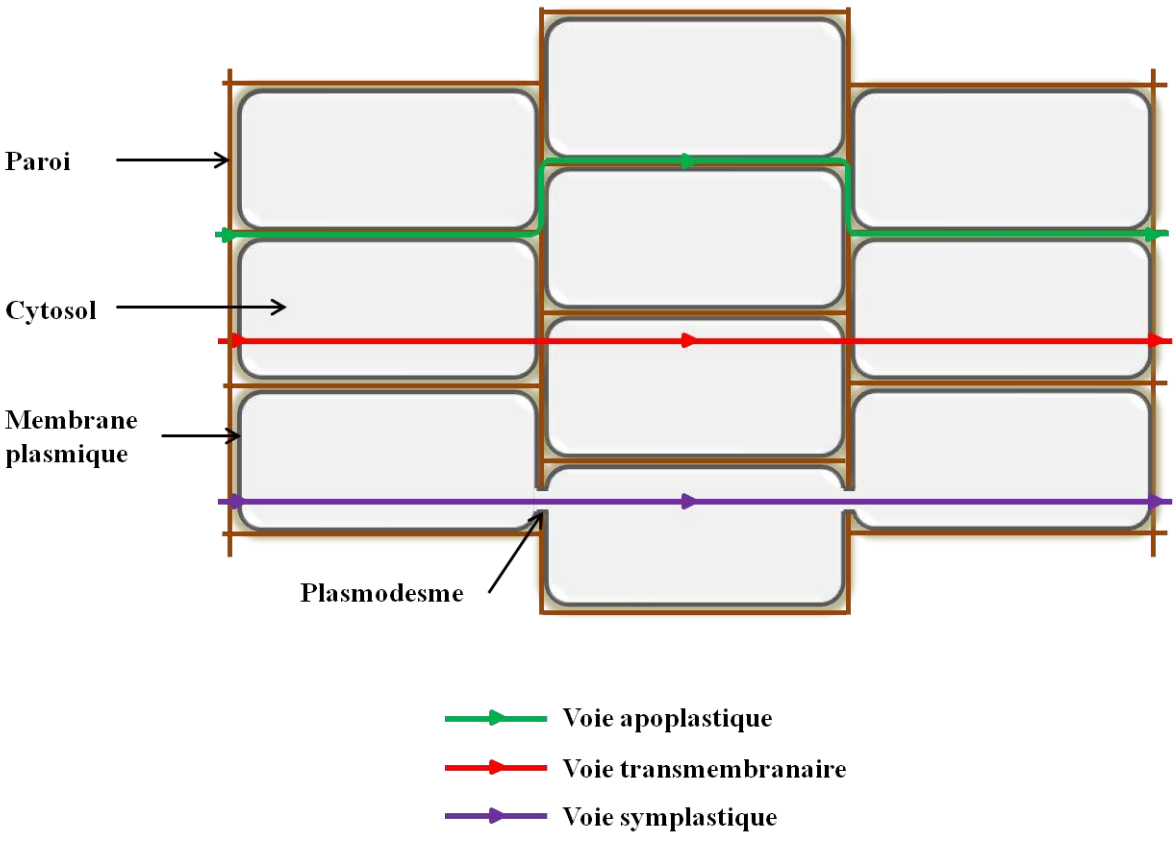


Fig. 8. Schéma des différentes voies de transfert d'un xénobiotique dans un tissu végétal

Les végétaux poussant sur des sols contenant de la CLD sont susceptibles d'être contaminés, y compris dans leur partie aérienne, qui n'est donc pas au contact du sol. Bien que la CLD soit lipophile, elle devra être transférée dans la plante par les vaisseaux de xylème, via la sève brute qui circule grâce au courant d'évapotranspiration.

5.3. Transfert sol-plante

5.3.1. Disponibilité dans le sol

L'absorption d'un composé du sol dans une plante dépend de sa disponibilité. En effet, une molécule dans le sol est soumise au phénomène de sorption sur les particules du sol ainsi qu'à des pertes, par dégradation biologique ou photochimique, volatilisation, ou par transfert hydrique (ruissellement ou lixiviation). Cela limite la quantité d'un composé auquel la plante a accès pour l'absorption, c'est-à-dire la biodisponibilité (Briggs, 1984). Les phénomènes de sorption, adsorption/désorption, sur les particules du sol sont principalement dus à l'adsorption sur le complexe argilo-humique du sol. L'adsorption d'un composé sur la matière organique (K_{om}) dépend comme pour l'absorption par le végétal de la lipophilie du composé (K_{ow}). Elle est déterminée par l'équation suivante (Briggs, 1981) :

$$\log K_{om} = 0{,}52 \log K_{ow} + 0{,}62$$

D'autre part, l'adsorption sur le sol peut être évaluée par le coefficient de distribution entre le sol et l'eau (Kd).

$$Kd = \frac{\text{concentration du composé dans le sol}}{\text{concentration dans l'eau}}$$

Ce coefficient dépend en général du taux de matière organique du sol. L'adsorption sur le sol, normalisée par rapport à la teneur en carbone organique du sol, peut être calculée par l'équation suivante :

$$Kd = K_{om} \frac{\%\text{ de matière organique}}{100}$$

L'adsorption étant directement proportionnelle au taux de matière organique du sol, généralement l'absorption racinaire d'une plante décroît avec des teneurs en matière organique croissantes dans le sol.

5.3.2. Absorption racinaire

Les pesticides présents dans le sol sont absorbés par les racines d'une plante s'ils sont solubles dans la solution aqueuse du sol ou en phase gazeuse. Pour les composés organiques volatils, l'équilibre entre la phase gazeuse et la phase aqueuse est décrit par la loi de Henry (*Cf § I.5.1.2*) qui mesure la solubilité d'un gaz dans un liquide avec lequel il est en contact.

L'efficacité d'absorption racinaire d'un composé est exprimée par la proportion de sa concentration dans les racines et sa concentration dans le milieu environnant. En phase aqueuse, elle est exprimée par le facteur de concentration racinaire (RCF), qui correspond au rapport entre la concentration de ce composé dans les racines sur la concentration dans la solution du sol (Shone et al., 1974; Shone et Wood, 1974; Briggs et al., 1982) :

$$RCF = \frac{\text{concentration racinaire (dpm } g^{-1} \text{ de poids sec)}}{\text{concentration dans la solution du sol (dpm } mL^{-1})}$$

Ce facteur rend compte de la capacité d'absorption d'un composé par une plante et permet de comparer celles-ci entre elles. Lorsque le RCF est supérieur à 1, le composé est bioaccumulé dans la plante.

Ce facteur ne distingue cependant pas les phénomènes d'adsorption sur les parois des cellules des racines et de translocation vers la partie aérienne de la plante.

De manière plus générale, on définit un facteur de concentration (CF) d'un composé comme le rapport de la concentration du composé dans un organe de la plante et sa concentration dans la solution du sol :

$$CF = \frac{\text{concentration dans un organe (dpm } g^{-1} \text{ de poids sec)}}{\text{concentration dans la solution du sol (dpm } mL^{-1})}$$

5.3.3. Translocation des racines vers les parties aériennes

Lorsqu'un composé a pénétré dans les racines d'une plante, il peut atteindre d'autres organes de la plante par simple diffusion au travers des tissus, par transfert sous forme diluée dans la sève via les vaisseaux de circulation. Ce dernier permet un transfert à plus ou moins longue distance. Il s'agit du phénomène de translocation, c'est-à-dire du transfert d'un organe de la plante à un autre.

La translocation d'un composé des racines vers les parties aériennes d'une plante dépend de l'importance du courant de transpiration de la plante et de la quantité du composé dissoute dans la sève. Le facteur de concentration du courant de transpiration (TSCF) a été décrit pour la première fois par Sheets (1961). Il est exprimé comme le rapport entre la concentration du produit (X) dans la sève xylémienne et la concentration dans la solution du sol (Shone et al., 1974; Briggs et al., 1982). La concentration dans le xylème n'est pas facilement mesurable, c'est pourquoi habituellement elle est évaluée par la quantité de produit accumulé dans la plante pour une quantité connue d'eau transpirée. Trapp (2004) définit le TSCF de la manière suivante :

$$TSCF = \frac{X_a}{[X]_s \times V_{evp}}$$

où :

X_a = Quantité du produit dans la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles) (masse)

$[X]_s$ = Valeur moyenne de la concentration du produit dans la solution du sol au cours de l'expérimentation (concentration initiale + concentration finale)/2 (masse masse^{-1})

V_{evp} = Volume d'eau évapotranspirée durant la période donnée (longueur^3)

Le TSCF intègre les conditions de culture de la plante puisqu'il est fonction de la transpiration, elle-même dépendante du taux d'humidité, de l'ensoleillement, de l'état d'hydratation, et des caractéristiques intrinsèques de la plante (génome, métabolisme).

Rocheleau et al. (2008) définissent un facteur de translocation d'un composé entre deux organes d'une plante par le ratio des concentrations du composé dans ces deux organes :

$$TF = \frac{[X]_A}{[X]_B}$$

où :

$[X]_A$ = Concentration du composé X dans l'organe A (masse masse^{-1})

$[X]_B$ = Concentration du composé X dans l'organe B (masse masse^{-1})

Ce facteur rend compte de la capacité d'un composé à être transféré d'un organe à un autre dans une plante, et donc est dépendant des caractéristiques histo-physiologiques de la plante.

5.3.4. Absorption et transfert des pesticides

Plusieurs études ont montré que des pesticides ou résidus de pesticides pouvaient être transférés dans les plantes. Il a été montré que les molécules polychlorées dibenzo-P-dioxines et dibenzofuranes étaient fortement transférées dans les fruits de courgette (*Cucurbita pepo* L. convar. giromontiina) comparativement à d'autres fruits. Pour certaines cucurbitacae (courgette et citrouille), la voie principale du transfert est l'absorption racinaire suivie de la translocation dans les tiges, alors que chez le concombre (*Cucumis sativus* L.), le transfert s'effectue principalement par dépôt au niveau de la partie aérienne (Hulster et al., 1994). Les composés peu lipophiles ne s'adsorbent pas sur les tissus des plantes et sont transférés dans les plantes par voie systémique, les vaisseaux de xylème, comme l'imidaclopride (principe actif du Gaucho®), un insecticide néonicotinique, qui est transféré dans le tournesol (Laurent et Rathahao, 2003) et les plants de tomate (Alsayeda et al., 2008).

5.3.5. Le cas des organochlorés

Les propriétés physico-chimiques de la CLD et des organochlorés laissent à penser que ce sont des molécules très peu transloquées dans les plantes. En effet, du fait de leur lipophilie, avec un log K_{ow} supérieur à 3, ces molécules ne sont pas systémiques. Cependant, les plantes poussant sur un sol contaminé influent directement sur les concentrations en organochlorés du sol. Il a ainsi été montré que la scirpe de californie (*Schoenoplectus californicus*) poussant dans un sol sédimentaire contaminé par le DDT et le chlordane entraînait une réduction de la concentration en organochlorés dans la fraction rhizosphérique du sol (Miglioranza et al., 2004). De même, la diminution de la concentration en HCH dans la rhizosphère a été montrée par Calvelo Pereira et al. (2006). Le système racinaire pourrait favoriser les échanges gazeux et ainsi la volatilisation des composés volatils comme le HCH et favoriser les mouvements d'eau entraînant la dilution du composé dans l'environnement. De plus, Campanella et Paul (2000) ont montré la capacité qu'ont le melon et la courgette à augmenter la solubilité des composés hydrophobes par la production d'acides rhizosphériques. Ainsi, il semblerait que chez la courgette, des acides organiques exsudés par les racines entraînent la dissolution partielle de la structure du sol par la chélation d'ions inorganiques de structure. Cela faciliterait la désorption du sol et la solubilisation du composé dans l'eau, favorisant ainsi l'absorption racinaire du p,p'-DDE (White et al., 2003).

Les composés organochlorés, malgré leur forte adsorption sur la matière organique du sol, sont disponibles pour la plante et peuvent être faiblement bio-accumulés par celle-ci (Calvelo

Pereira et al., 2008). Par ailleurs, du fait de leur forte lipophilie, les organochlorés sont fortement adsorbés sur les racines, donnant lieu à des hautes valeurs de RCF (Briggs et al., 1982; San Miguel et al., 2013). Lichtenstein (1980) montre que les légumes-racines, qui poussent directement au contact du sol, peuvent être contaminés par des résidus de pesticides organochlorés. De plus, des études récentes ont montré que des composés organochlorés tels que le DDT ou ses métabolites (DDE) peuvent aussi être transférés vers les parties aériennes (Lunney et al., 2004 ; White et al., 2003). De même, l'accumulation de molécules organochlorées ayant des caractéristiques physico-chimiques voisines de celles de la chlordécone comme le chlordane (hydrophobe, log K_{ow} 4,74) a été observée dans la courgette (*Cucurbita pepo* L. ssp pepo) (Mattina et al., 2000). Il est intéressant de noter que le transfert d'une molécule peut être très différent entre deux espèces très proches. Chhikara et al. (2010) ont comparé le transfert du DDE dans deux espèces de cucurbitaceae, la courgette et la courge, et ont montré que la courgette avait une capacité de phytoextraction 12 fois supérieure à celle de la courge. D'autre part, ces travaux ont mis en évidence un grand nombre d'ADNc codant pour des protéines inconnues qui pourraient être impliquées dans la voie de métabolisation du DDE dans les plantes. En particulier, un certain nombre d'ADNc séquencés présentent des homologies avec la protéine de filament de phloème (PP1). Aussi, les travaux de White (2010) ont montré que le profil de transmission héréditaire de la capacité à transférer le p,p'-DDE dans Cucurbita pepo L. ssp pepo semblait être contrôlé par un locus unique.

Toutefois, l'hydrophobicité des composés organochlorés limite généralement leur translocation dans la partie aérienne de la plante. Ainsi, San Miguel et al. (2013) ont mesuré des TF inférieurs à 1 pour le DCB, le TCB et le γHCH chez le roseau commun (*Phragmites australis*). La translocation d'un composé dans une plante dépend aussi de sa forme isomérique. Par exemple dans le roseau commun, le o,p'-DDT est absorbé plus rapidement que le p,p'-DDT (Chu et al., 2006). Cette accumulation sélective est due à la plus grande hydrophobicité de l'isomère o,p'-DDT. Ainsi, l'isomère présentant le log K_{ow} le plus élevé aura un RCF plus élevé et un TSCF plus faible. C'est le cas du HCH dont l'isomère β a un log K_{ow} plus élevé que l'isomère α (4,15 et 3,94 respectivement) (Shimizu et al., 2005).

En ce qui concerne le transfert de la CLD dans les plantes, Cabidoche et al. (2006) ont montré que certains légumes-racines, dont le tubercule se développe dans le sol, mais aussi certaines graminées comme la canne à sucre, cultivés sur des sols contaminés par la CLD pouvaient aussi contenir de la CLD. La contamination des tubercules est linéairement liée au produit du temps de croissance de la plante par le rapport surface/volume du tubercule. Cabidoche et

Lesueur-Jannoyer (2012) ont montré que le taux de contamination des parties aériennes d'une plante (tige, feuilles, fruits) dépendait de l'espèce. Par exemple, les fruits de tomates ne se contaminent pas alors que les fruits de courgette peuvent être fortement contaminés.

6. La tubérisation des légumes-racines

La CLD ayant une affinité différente en fonction des tissus, la contamination par la CLD des tubercules va dépendre de la nature des tissus constitutifs, et en particulier de la distribution de ceux-ci au sein du tubercule. Ces caractéristiques sont établies lors du processus de tubérisation, lui-même dépendant de la nature de l'organe d'origine du tubercule. Nous avons réalisé une étude anatomique et histologique de quelques légumes-racines bien représentés dans la consommation alimentaire de la population antillaise afin d'évaluer le risque d'exposition alimentaire à la CLD.

Les tubercules sont formés par l'hypertrophie de certains tissus d'une plante dans lesquels sont accumulées des réserves principalement glucidiques. Ce sont donc des tissus de réserve. Anatomiquement, ils peuvent provenir d'un épaississement : (i) d'une tige qui forme alors un corme (dachine) ou d'une tige souterraine (pomme de terre), (ii) d'une racine pivot (carotte) ou d'une racine adventice (patate douce), ou (iii) d'un hypocotyle (radis, navet, betterave, manioc). L'igname est un cas un peu particulier, dont le tubercule se forme par un renflement ventral entre la tige et les racines (Martin et Ortiz, 1963).

Au niveau histologique, les tubercules se caractérisent par une abondance du parenchyme amylifère (parenchyme spécialisé dans le stockage de grains d'amidon dans les amyloplastes), irrigué par un tissu conducteur. Cette irrigation peut être d'origine xylémienne (sève brute) et/ou d'origine phloémienne (sève élaborée, assimilats photosynthétiques).

Le processus de tubérisation diffère en fonction de l'organe d'origine du tubercule et donc de la plante. Nous détaillerons ici cinq types de tubérisation : la tubérisation d'un hypocotyle, le radis, la tubérisation d'une racine, la patate douce, la tubérisation d'une tige souterraine, la pomme de terre et la tubérisation d'un corme, la dachine, ainsi que la tubérisation de l'igname.

Les tubercules matures sont recouverts d'un périderme plus ou moins épais, qui constitue la première défense contre les agresseurs biotiques et abiotiques. Nous décrirons plus loin ce tissu indispensable à la survie du tubercule.

6.1. La tubérisation d'un hypocotyle : le radis

Chez le radis, c'est l'axe de l'hypocotyle qui se développe en un tubercule charnu. L'hypocotyle est un organe de transition entre les racines et la tige. Chez le radis, l'hypocotyle peut être assimilé au niveau anatomique à une racine (Golinska, 1928). Il se produit une transition vasculaire entre la partie basse de l'hypocotyle et la partie haute, afin de passer de l'organisation de vaisseaux d'une racine à celle d'une tige (**Fig. 9**). Au début de l'ontogenèse, les cellules des deux pôles de protoxylème se différencient en métaxylème, centripétalement dans la partie basse de l'hypocotyle, de même que dans la racine primaire, et latéralement dans les parties médiane et haute de l'hypocotyle. Les groupes de cellules de phloème primaire, séparés du xylème par un parenchyme non différencié, ou parenchyme fondamental, sont étendus en deux pôles en forme de croissant à l'extérieur du xylème dans la partie basse de l'hypocotyle. Dans la partie médiane de l'hypocotyle, il se produit une séparation de chacun des deux secteurs de phloème, conduisant à l'apparition de quatre pôles de phloème. Il apparaît alors un parenchyme dans le cœur de l'hypocotyle. Dans la partie haute de l'hypocotyle, ce parenchyme central se développe de manière plus importante. A l'extérieur de l'hypocotyle, le péricycle alors formé d'une seule couche de cellules se développe, directement au sein de l'endoderme, dont les parois des cellules présentent des épaississements de Caspary.

L'épaississement secondaire qui va conduire à la tubérisation commence relativement tôt dans l'ontogenèse, dès l'apparition des premières feuilles (**Fig. 10**). Il se produit un grossissement de l'hypocotyle et de la partie supérieure de la racine. Ce grossissement se fait par la croissance de la stèle, c'est-à-dire les tissus internes à l'endoderme. Les cellules du cortex qui se développent à l'extérieur de l'endoderme, et la couche de cellules qui forment l'épiderme de l'hypocotyle ne se divisent plus une fois leur différenciation achevée. De ce fait, lors du grossissement de la stèle, le cortex et l'épiderme se rompent, formant alors deux languettes à la base du collet, dont les résidus apparaissent souvent à la surface du tubercule. Bien que l'épaississement commence plus tôt, l'apparition des languettes est considérée comme le temps 0 du processus de tubérisation.

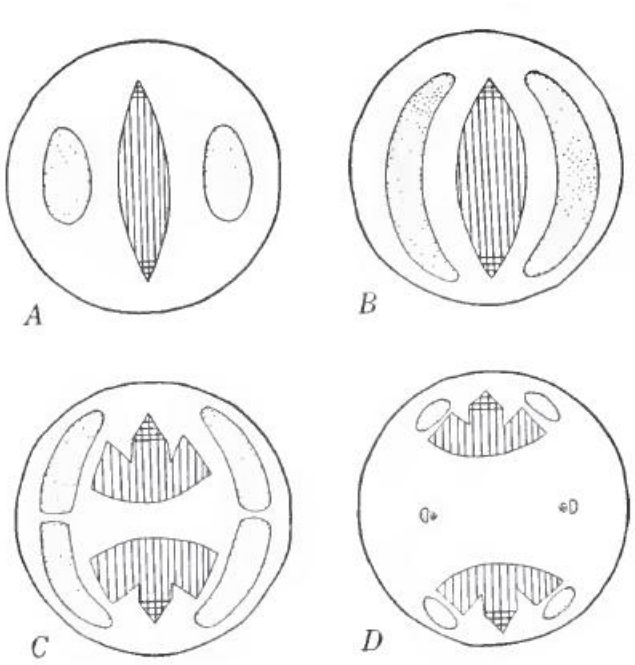


Fig. 9. Diagrammes des différents stades de la transition vasculaire chez le radis en coupes transversales. A, au niveau racinaire ; B, partie basse de l'hypocotyle ; C, hypocotyle médian ; D, partie haute de l'hypocotyle. Les zones pointillées représentent le phloème, les zones rayées verticalement le métaxylème et les zones quadrillées le protoxylème. D'après Grassley (1932).

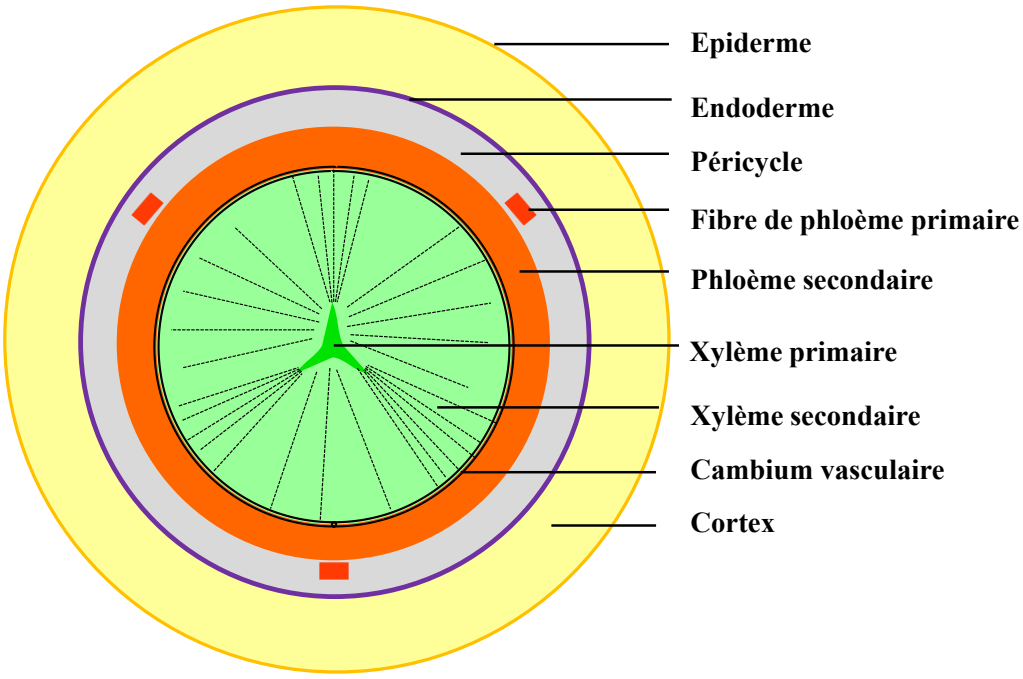


Fig. 10. Organisation des tissus d'un hypocotyle de radis (ou d'une racine de dicotylédone) au stade jeune Adapté de Raven et al. (1999).

Dès l'initiation du grossissement secondaire, la différenciation du xylème primaire est presque achevée et un cambium vasculaire apparaît entre le métaxylème et le phloème primaire, dans le parenchyme fondamental. Durant la croissance, ce cambium se développe latéralement produisant du xylème secondaire vers l'intérieur et du phloème secondaire vers l'extérieur, conduisant le péricycle à jouxter le protoxylème, et entraînant la rupture du cortex et de l'épiderme (**Fig. 11**). Le péricycle se développe par division cellulaire et forme alors un tissu constitué de plusieurs couches de cellules, et produit une assise phellogénique qui génèrera le périderme, à la surface de l'hypocotyle. Comme on le verra plus tard, les cellules de la couche externe du périderme ont des parois incrustées de polymères de subérines, qui sont des polymères complexes de composés hydrophobes. Le périderme forme un tissu discontinu, écailleux, dont les plaques ne sont pas forcément recouvrantes. Dans la stèle, le xylème secondaire est organisé en rayons, séparés par du parenchyme. Les cellules du parenchyme se multiplient entraînant le grossissement de l'hypocotyle (**Fig. 12**).

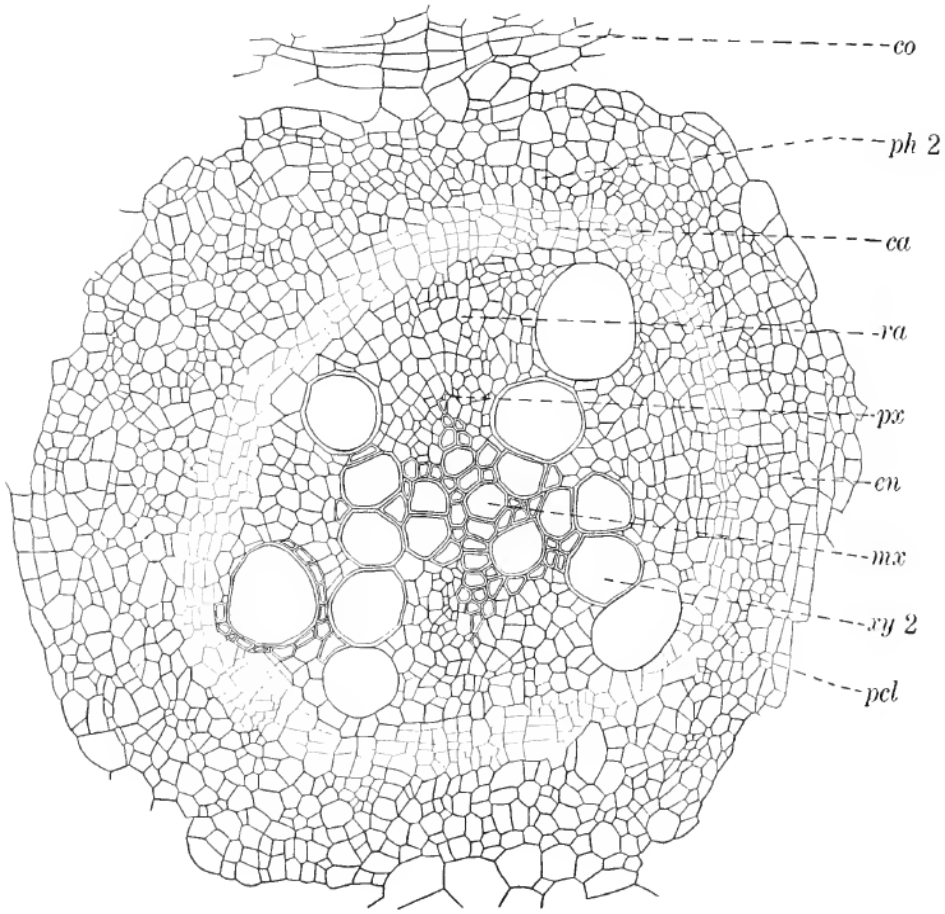


Fig. 11. Transect d'un jeune hypocotyle de radis dont l'épaississement a provoqué la rupture du cortex et de l'épiderme. *ca*, cambium ; *co*, reste du cortex rompu formant deux languettes persistantes ; *en*, endoderme, *mx*, métaxylème ; *pcl*, péricycle ; *ph 2*, phloème secondaire ; *px*, protoxylème ; *ra*, rayon de parenchyme ; *xy 2*, xylème secondaire. D'après Hayward (1938).

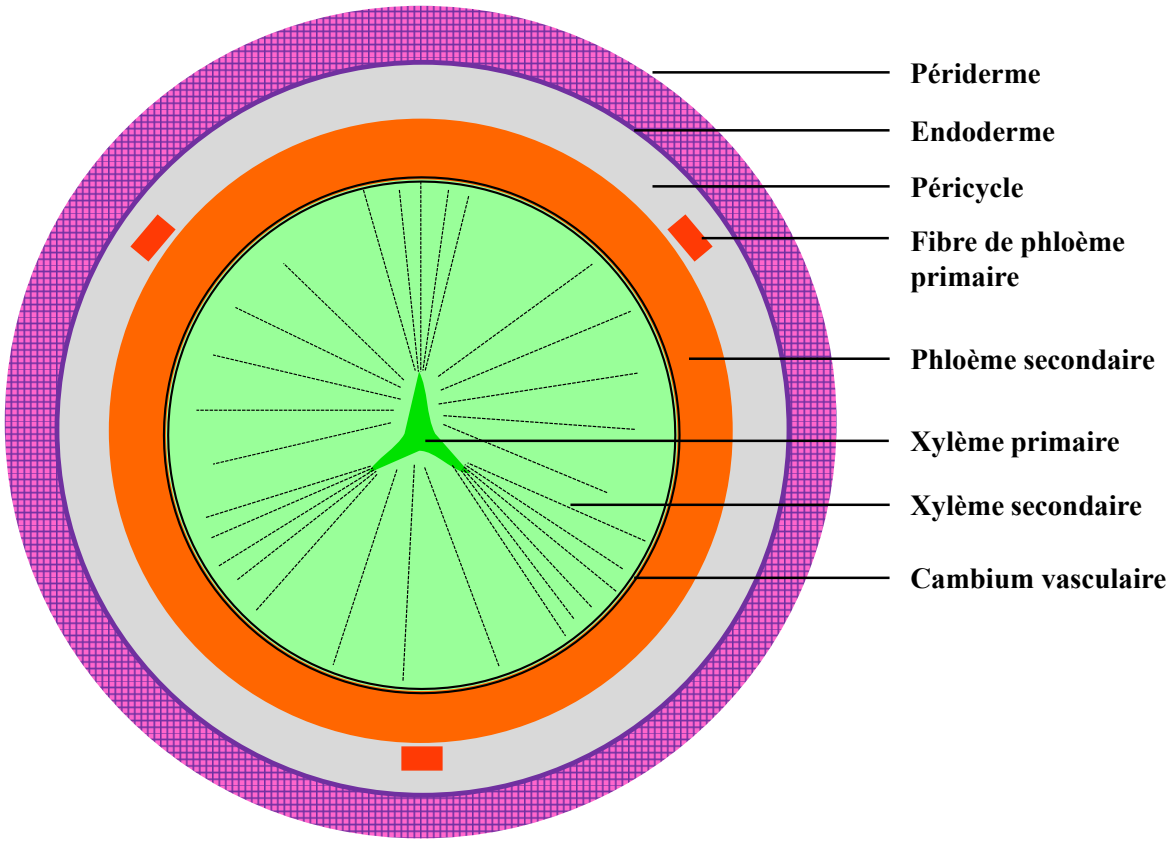


Fig. 12. Organisation des tissus d'un hypocotyle de radis à maturité Adapté de Raven et al. (1999).

Un épaississement tertiaire a lieu par l'apparition d'un second cambium au sein du xylème secondaire, produisant un xylème tertiaire et des éléments de phloème tertiaire. Des éléments de phloème se localisent donc au centre du tissu vasculaire, ce qui est caractéristique des crucifères. Mais la quantité de phloème produite est relativement faible comparée à la quantité de xylème, et la zone péricyclique est étroite. Les vaisseaux de xylème qui se différencient forment au sein du parenchyme un réseau vertical mais aussi latéral. Il se forme un « filet » de xylème.

Le grossissement de l'hypocotyle se fait donc essentiellement par divisions des cellules parenchymateuses qui entourent les vaisseaux de xylème, et par développement de ceux-ci. Le premier cambium formé produit une couronne de vaisseaux xylémiens juste sous le périderme et le péricycle (dans lequel sont inclus les vaisseaux de phloème). La sève qui irrigue le tubercule est donc essentiellement xylémienne.

6.2. La tubérisation d'une racine : la patate douce

Le système racinaire de la patate douce comprend une racine primaire verticale et des racines latérales. Lors du cycle de reproduction normal de la plante, certaines de ces racines latérales évoluent en tubercules. Pour la commercialisation, la multiplication végétative de la patate douce est préférentiellement utilisée. Lors de cette multiplication, on enterre des explants de tige qui produisent des racines adventices prennant leur origine au niveau des extrêmités coupées et au niveau des noeuds (Togari, 1950; Belehu et al., 2004). Le processus de tubérisation a lieu dans une racine adventice. En effet, certaines de ces racines adventices évoluent en racines de stockage (Togari, 1950; Wilson et Lowe, 1973; Belehu et al., 2004) par prolifération des cellules cambiales qui forment un parenchyme d'accumulation d'amidon (Togari, 1950; Belehu et al., 2004). D'autres racines adventices deviennent fibreuses et ont une croissance secondaire régulière avec une lignification de la stèle. En 1950, Togari suggère que la balance entre ces deux voies possibles, le développement du cambium ou la lignification, est déterminante dans le nombre final de tubercules. Villordon et al. (2009) confirment que les stades initiaux du développement des racines adventices sont décisifs dans le développement des racines tubéreuses. Récemment, Firon et al. (2013) montrent qu'au niveau transcriptionnel, c'est la répression de la lignification et l'activation du dépôt d'amidon dans la racine qui conduisent à la tubérisation.

La protostèle des racines adventices qui évoluent en racines de stockage comprend cinq ou six pôles de xylème, contre quatre pour la racine primaire. Le xylème primaire forme cinq ou six branches de protoxylème avec de grosses cellules de métaxylème au centre de la stèle (**Fig. 13**). La différenciation du xylème est centripétale. Les pôles de phloème sont alternés avec les pôles de xylème. Un parenchyme fondamental sépare les pôles de phloème primaire et les pôles de xylème primaire. Ce parenchyme forme un cambium primaire, irrégulier et discontinu au départ. Ce cambium produit alors des éléments secondaires entre le xylème primaire et le phloème primaire, et se développe latéralement en incluant les cellules du péricycle à l'extérieur du xylème primaire. Il s'agit de la phase d'épaississement primaire.

Le cambium devient alors de plus en plus régulier et symétrique. L'activité du cambium entraîne un grossissement de l'axe par un étirement tangentiel des cellules de l'endoderme et la multiplication des cellules du parenchyme cortical.

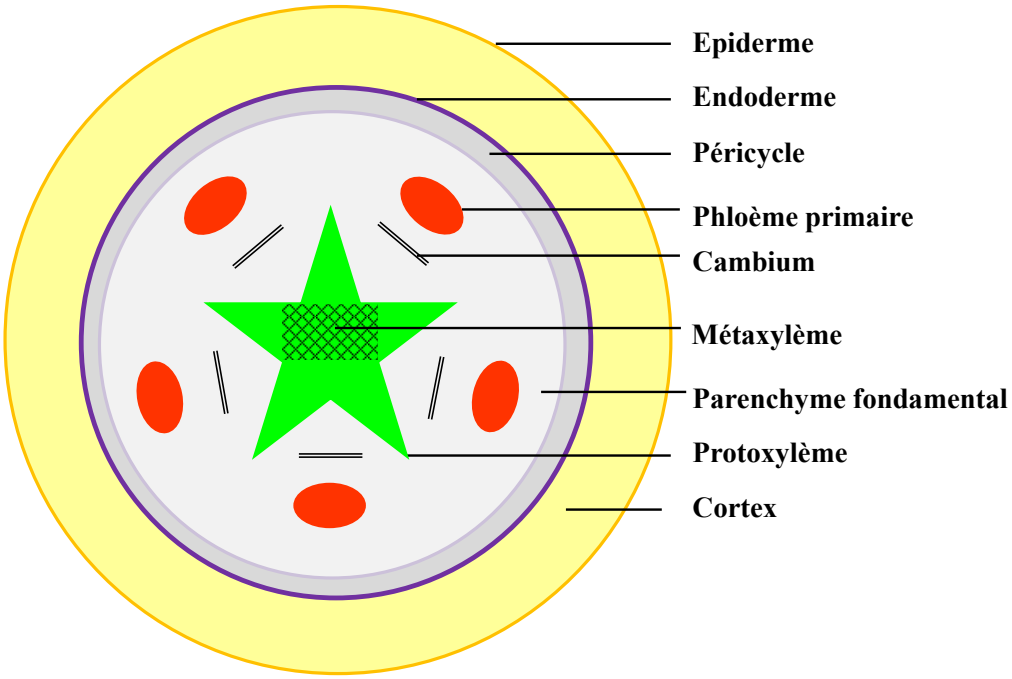


Fig. 13. Coupe transversale schématique d'un tubercule de patate douce lors de l'épaississement primaire de la tubérisation.

Wilson et Lowe (1973) définissent l'initiation de la tubérisation comme l'apparition de ce cambium circulaire ou de cambiums anormaux autour des éléments centraux du protoxylème et du métaxylème. Cette phase correspond à un épaississement secondaire. Plus tard dans le développement, les espaces intercellulaires du cortex s'agrandissent créant ainsi des lacunes. Le cortex finit par se désintégrer et l'épiderme se rompre.

Par la suite, une suite d'événements singuliers conduit au grossissement du tubercule. Durant cet épaississement tertiaire, des cambiums secondaires se forment dans le parenchyme de la partie centrale, autour des points de protoxylème. Ce phénomène est suivi de l'apparition de nouveaux cambiums surnuméraires dans toute la zone centrale parenchymateuse. Dans le même temps, une zone active de méristème se forme autour des vaisseaux de métaxylème centraux, pouvant aboutir à un grossissement parfois considérable de cette zone. Des cambiums secondaires peuvent aussi apparaître dans le tissu interne par rapport au xylème secondaire. D'autres cambiums apparaissent ensuite dans le parenchyme de manière aléatoire sans aucun lien de localisation avec les faisceaux vasculaires. Ces cambiums produisent du xylème vers l'intérieur et du phloème vers l'extérieur du tubercule. Le cambium primaire continue de fonctionner et produit du xylème secondaire, des éléments de phloème et surtout un important parenchyme de réserve. Lorsque les cambiums secondaires sont bien

développés, des cambiums tertiaires apparaissent autour des éléments secondaires. A la surface du cortex, un périderme éphémère peut apparaître mais se désintègre rapidement du fait du grossissement du tubercule. Un phellogène se forme dans le péricycle et produit alors un périderme mature.

Lorsque le tubercule est mature, l'épiderme, le parenchyme cortical et l'endoderme ont disparus et la peau est constituée de périderme péricyclique, qui est maintenu par un phellogène actif pendant toute la durée du grossissement. La zone sous-péricyclique est composée de grosses cellules parenchymateuses contenant de l'amidon et adjacentes à des zones phloémiennes radiales. Le cambium produit aussi des rayons verticaux de cellules lactifères, formant des vaisseaux de latex.

Un autre tubercule qui se développe à partir d'une racine est la carotte. Contrairement à la patate douce qui se forme à l'extrémité d'une racine adventice, la carotte se forme à partir de la racine pivot. Elle se développe par une prolifération de cellules parenchymateuses à la fois dans le phloème secondaire et le xylème secondaire qui se développent de part et d'autre du cambium (**Fig. 14**).

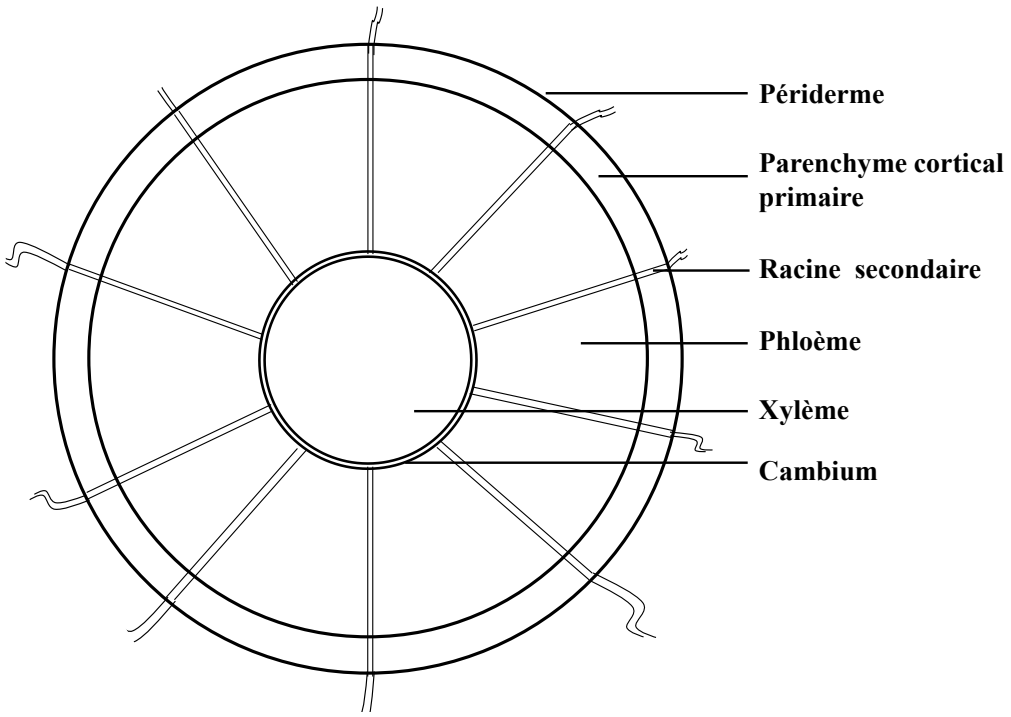


Fig. 14. Coupe transversale schématique d'un tubercule de carotte.

Le parenchyme est donc irrigué par la sève élaborée dans le phloème, du côté externe du cambium, et par la sève brute dans le xylème, du côté interne du cambium. Des racines secondaires prennent leur origine au niveau du cambium et se développent à la surface du tubercule, ce qui différencie entre autres un tubercule de racine d'un tubercule d'hypocotyle.

6.3. La tubérisation d'une tige : la pomme de terre

Un plant de pomme de terre est constitué d'une tige aérienne principale et d'un système racinaire principal, ainsi que de stolons (ou rhizomes lorsqu'ils passent sous la surface du sol) qui se forment à partir de bourgeons localisés sur la tige principale. Les rhizomes s'allongent rapidement et forment des tubercules à leurs extrémités. A l'aisselle des rhizomes ainsi que le long de ceux-ci se développent des racines (racines de jonction et racines de stolon). Des racines se développent aussi le long des rhizomes (**Fig. 15**).

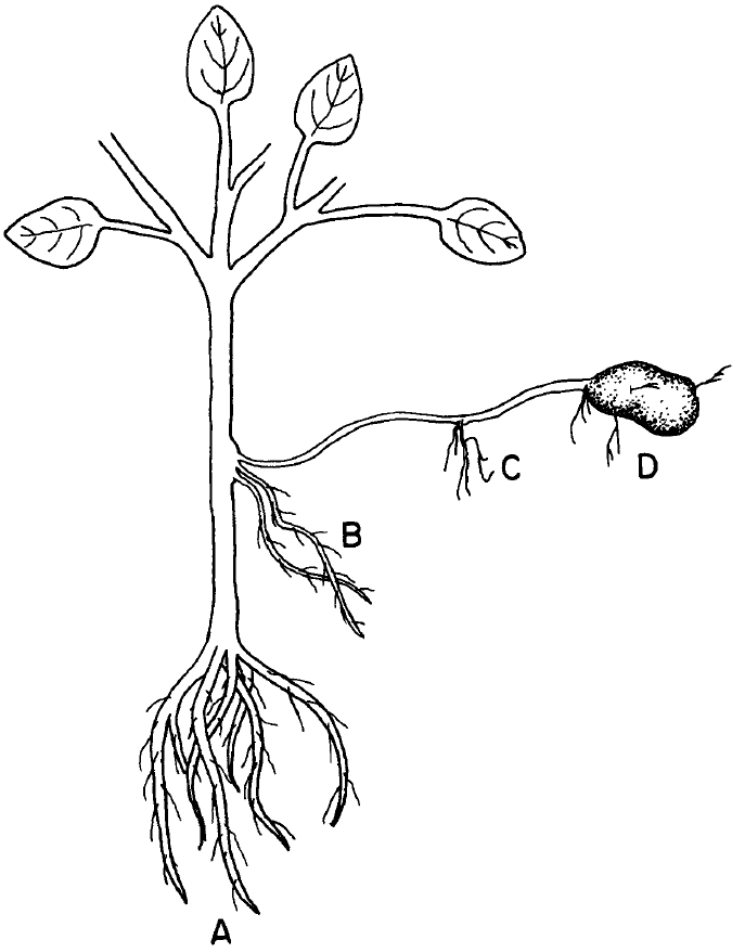


Fig. 15. Schématisation d'un plant de pomme de terre montrant les différents types de racines. A) racines principales, B) racines de jonction, C) racines du rhizome, D) racines du tubercule. D'après Kratzke et Palta (1985).

Le tubercule de pomme de terre est, au point de vue morphologique, une tige succulente, portant des bourgeons ou « yeux ». Ces bourgeons forment des écailles feuillues qui tombent tôt durant l'ontogenèse, en laissant des cicatrices. Des racines se développent à partir des tubercules. Les tubercules formés la première année de culture par une plante issue d'une graine sont en général relativement petits. C'est pourquoi en général on multiplie la pomme de terre de manière végétative.

Le processus de tubérisation a lieu lorsque le rhizome cesse de croître. Il se produit alors une prolifération des cellules du tissu de stockage. Le tubercule est alors constitué de plusieurs tissus qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, le périderme, le cortex, le cylindre vasculaire, la zone périmédullaire et la moelle centrale (**Fig. 16**). Le périderme est constitué de six à dix couches de cellules, comportant des structures de type lenticelles à la surface. Les lenticelles sont des pores qui permettent les échanges gazeux entre le tubercule et l'air du sol. Contrairement aux autres péridermes, le périderme de la pomme de terre se développe à partir de l'épiderme de la tige. De ce fait, l'ensemble des tissus primaires, y compris le cortex, est présent dans le tubercule. Le périderme est produit, lorsque la maturité du tubercule est atteinte, par le phellogène qui reste actif pendant toute la croissance en remplaçant les cellules qui se désintègrent à cause du grossissement du tubercule. Le cortex est une zone étroite de tissu de stockage contenant des tanins, parfois des alcaloïdes en particulier lors d'une exposition à la lumière, et une faible quantité d'amidon. Le cylindre vasculaire est une zone étroite localisée entre le cortex et la zone périmédullaire. Il contient le xylème secondaire et le phloème à l'extérieur duquel se trouve le phloème primaire (externe) qui forme une région de stockage relativement petite. La zone périmédullaire est située à l'intérieur du cylindre vasculaire. C'est la zone majeure de stockage. Elle est constituée de parenchyme contenant de nombreux groupes de phloème interne. Cette zone est celle qui s'accroît le plus durant le développement du tubercule. Contrairement au phloème interne, le parenchyme du phloème externe est peu actif durant le développement. De même, le cambium est peu actif et produit peu de tissus secondaires. Enfin, la moelle centrale est une zone relativement petite constituée de parenchyme médullaire en forme d'étoile. Cette zone contient beaucoup d'eau et peu d'amidon, ce qui lui donne une apparence translucide.

Ainsi l'irrigation du tubercule de pomme de terre est principalement phloémienne. Il a été montré que la sève xylémienne absorbée par les racines principales du plant de pomme de terre n'alimentait pas le tubercule, et cela à cause du faible taux de transpiration de cet organe (Kratzke et Palta, 1985; Palta, 2010).

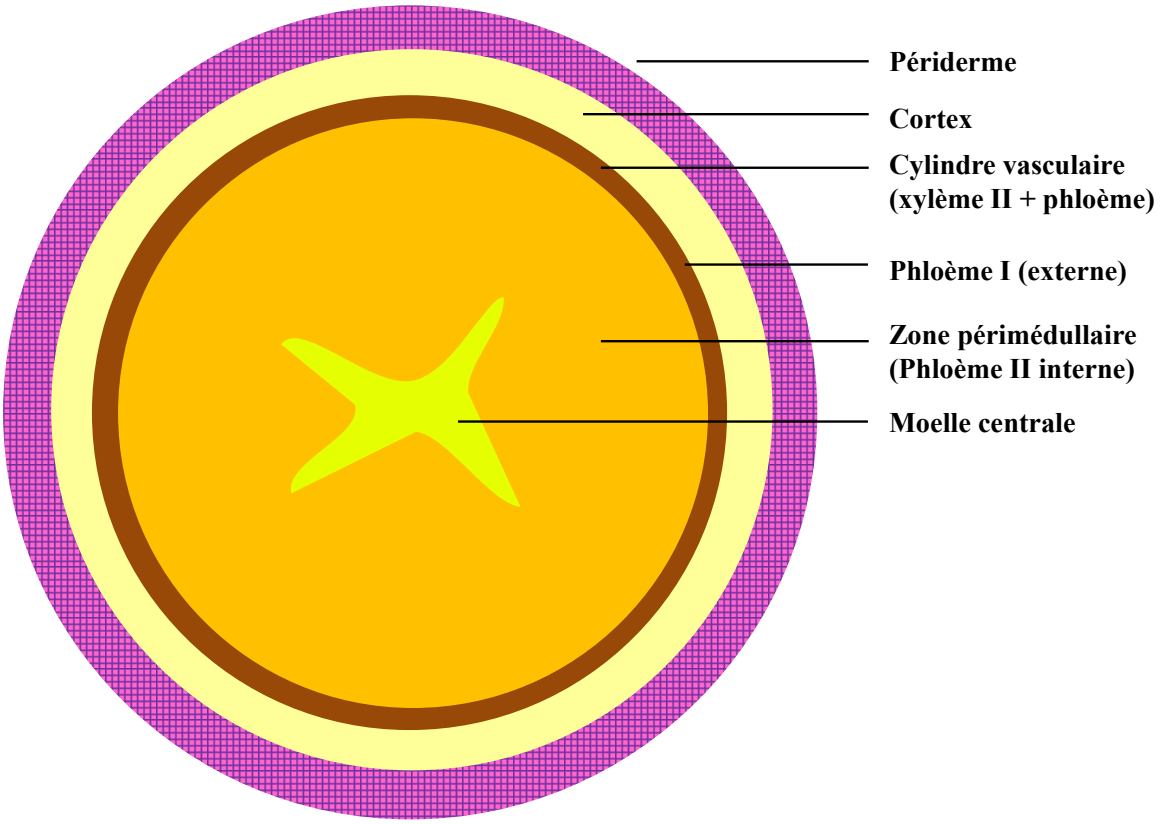


Fig. 16. Coupe transversale schématique d'un tubercule de pomme de terre mature.

Le périderme le plus étudié est celui de la pomme de terre. De ce fait, nous décrirons ici ce dernier. Le périderme se met en place lors du grossissement du tubercule, lorsque le développement du cortex phloémien fait craquer l'épiderme, qui est alors remplacé. Le périderme peut former un tissu relativement épais et continu, ou rester très fin et discontinu comme chez le radis où le périderme est formé de plaques écailleuses plus ou moins recouvrantes. Chez la pomme de terre, la formation du périderme commence par la division de cellules dédifférenciées épidermiques et sous-épidermiques (Artschwager, 1924; Reeve et al., 1969). Il se forme ainsi le phéllogène, une assise méristématique qui produit deux tissus : le phellème ou suber (liège) vers l'extérieur, qui joue un rôle protecteur, et le phelloderme vers l'intérieur. L'association de ces trois assises cellulaires forme le périderme, structure indispensable à la survie du tubercule. Il constitue une barrière protectrice contre les agresseurs externes. Avant que le périderme soit mature, il peut se produire un décollement de la couche protectrice du périderme par une fracture au sein du phellogène (Lulai et Freeman, 2001). A maturité, le périderme devient résistant à cette excoriation. Cette résistance est d'autant plus importante pour la plante que le périderme est enrichi en composés de défense

des plantes (Lulai, 2007). Le périderme est composé principalement de cires (lipides extractibles), de subérine (polymères hydrolysables), de subéranes (polymères non-saponifiables) et de polysaccharides. Les parois cellulaires du phellème sont impregnées de biopolymères de subérine, des composés hydrophobes protégeant des bactéries et des champignons du sol. Les premiers polymères de subérine qui s'incrustent au sein des parois cellulaires lors de la formation du périderme sont des composés polyphenoliques de subérine ou SPP. Puis des composés polyaliphatiques de subérine et du glycérol s'incrustent aussi dans les parois (Lulai, 2007). Les cellules du phellème, la couche externe du périderme, sont les seules à s'impregner de SPP. Au cours de la formation du périderme, dès que le nombre de couches de cellules du phellème, caractéristique du génotype de la plante, est atteint, le phellogène ne génère plus de nouvelles couches de cellules du phellème (Artschwager, 1924). Le périderme est entièrement formé très tôt au cours de la tubérisation. Ensuite, lorsque le tubercule se développe et grossit, le phéllogène ne produit que les cellules nécessaires pour compenser la perte des cellules externes qui desquament. Il s'établit donc un équilibre entre la production des nouvelles cellules et la perte par desquamation. La perte de cellules par blessure n'est pas compensée. La production de phellem s'arrête lors de la senescence, lorsque le tubercule cesse son grossissement. Il s'ensuit alors un phénomène de maturation du périderme qui devient très résistant, et dont le phellème devient fortement lié au tubercule (Lulai et Freeman, 2001; Lulai, 2007).

D'autres tubercules tels que la betterave se développent par l'apparition de cambiums surnuméraires qui forment des couches concentriques, chacun produisant du xylème vers l'intérieur et du phloème vers l'extérieur.

6.4. La tubérisation d'un corme : la dachine

La dachine (ou taro, ou madère) est un tubercule tropical couramment consommé en Martinique. Son étude présente donc un intérêt important dans l'évaluation du risque d'exposition alimentaire à la CLD. La dachine est une plante monocotylédone et son tubercule forme un corme, c'est-à-dire une tige modifiée, épaissie, à l'aspect écailleux et à la peau épaisse. La surface du corme est couverte de cicatrices d'anciennes feuilles, arrangées circulairement tout autour du tubercule, et comporte des bourgeons latéraux (**Fig. 17**) (Harris et al., 1992).

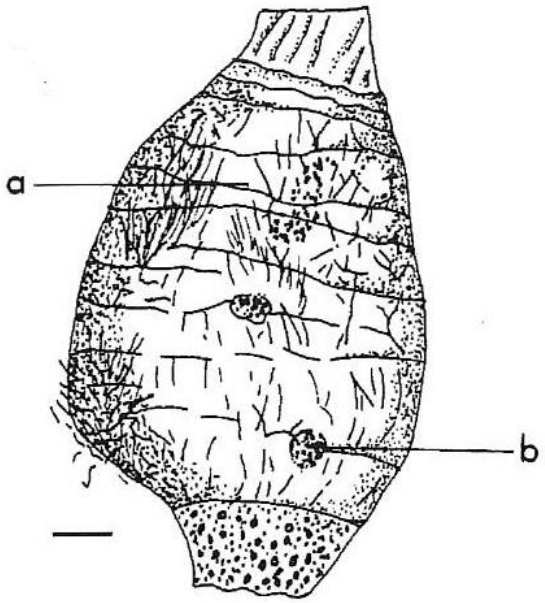


Fig. 17. Corme de dachine (Colocasia esculenta) : a, cicatrices d'anciennes feuilles : b, bourgeon latéral. D'après Harris et al. (1992).

La « peau » du corme est formée par un périderme épais, constitué majoritairement de suber (ou phellème, liège). Celui-ci comporte trois régions différentes : une région externe d'une épaisseur de 2 à 3 couches de cellules, une région centrale de 5 à 10 couches cellulaires et une région interne de 10 à 15 couches de cellules. Adjacente à cette région interne se trouve l'assise phellogénique, épaisse d'une ou deux couches cellulaires, puis vers l'intérieur le phelloderme. Sous le périderme se trouve un cortex, constitué de cellules parenchymateuses séparées par des espaces intercellulaires. On appelle ce parenchyme un aérenchyme. La taille de ces espaces intercellulaires diminue progressivement vers le cortex interne. Ensuite le cylindre central est formé par des cellules plus grosses mais dont la paroi est plus fine que dans le cortex, et avec des espaces intercellulaires plus réduits.

Des vaisseaux sécrétant du mucilage, une substance visqueuse constituée de polysaccharides, sont répartis dans tout le corme, mais sont plus nombreux dans le cortex. Les faisceaux vasculaires sont répartis dans le cortex et le cylindre central, et sont plus nombreux dans ce dernier. Ces faisceaux sont amphivasaux, c'est-à-dire que le phloème entoure le xylème.

Dans la dachine, les seules cellules lignifiées sont les éléments de xylème. Le périderme comporte des cellules dont les parois sont incrustées de subérines et de cire, et plus particulièrement dans la région centrale et interne du suber (Harris et al., 1992).

6.5. La tubérisation de l'igname

L'igname est aussi un tubercule tropical couramment consommé aux Antilles. Elle présente un intérêt dans l'étude de la contamination par la CLD puisque cette plante peut être cultivée, particulièrement en Guadeloupe, sur des sols d'anciennes bananeraies donc contaminés par la CLD. Peu de références existent sur le développement et l'anatomie de cette plante, qui appartient à la large famille des *Dioscoreaceae*. Les plantes d'igname possèdent deux types de racines : un système racinaire fasciculé peu profond et des racines adventices qui se développent directement sur le tubercule (**Fig. 18**). Le tubercule se développe verticalement sous les racines fasciculaires par croissance géocentrique. Il se forme à partir d'un rhizome, par un renflement ventral entre la tige principale et les racines. Son anatomie est assimilée à celle d'une tige (Martin et Ortiz, 1963). Le tubercule est constitué de tissus parenchymateux, le cortex, incluant des vaisseaux de xylème, des cellules de parenchyme de stockage d'amidon et des couches de liège en périphérie (Hong, 2012). Le réseau de faisceaux vasculaires est peu développé et est dispersé dans la totalité du cortex. Les tissus du tubercule sont assez homogènes et sans présence d'une zone corticale phloémienne. Le parenchyme de stockage tend à occuper tout le volume du cortex. Dans le cortex se trouvent aussi des idioblastes, des cellules de sécrétion et de stockage. A l'intérieur, il se forme des cristaux d'oxalate de calcium ou raphides et du mucilage. Le périderme du tubercule est relativement fin, peu subérifié et lisse au début de la tubérisation. Celui-ci s'épaissit pendant toute la croissance jusqu'à atteindre une épaisseur de plusieurs millimètres à maturité, et un aspect très tortueux.

Concernant le manioc, un autre tubercule tropical d'intérêt, il ne possède pas de racines adventices et les racines se situent à la base du tubercule. L'organisation tissulaire (*Cf § II.2.5.1*) ressemble à celle du radis, avec des vaisseaux de xylème organisés en rayons. De la même manière que chez l'igname, le périderme du tubercule de manioc s'épaissit tout au long de la croissance et devient épais et tortueux à maturité.

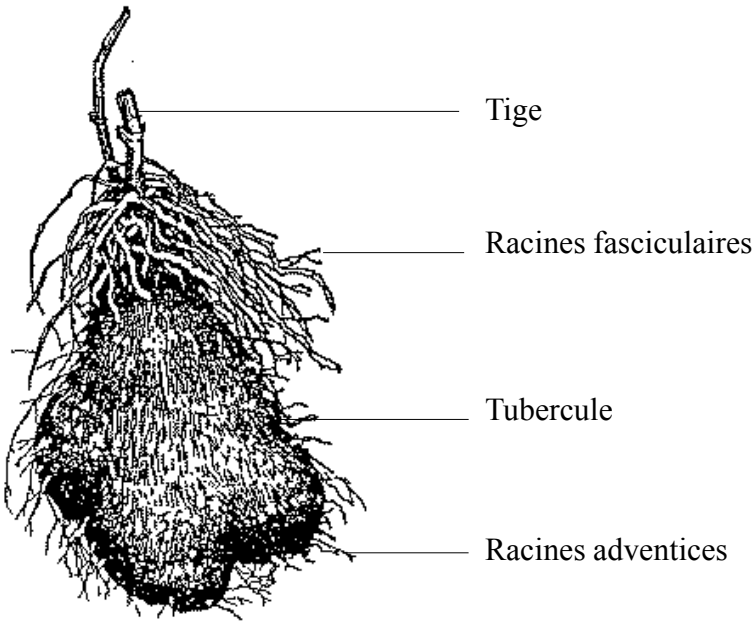


Fig. 18. Tubercule d'igname (genre Dioscorea).

7. Les enjeux de la chlordécone aux Antilles françaises

La contamination des sols des Antilles par la CLD est un problème global qui touche plusieurs domaines : l'environnement et la santé humaine d'un point de vue risque chimique mais qui se répercute aussi au niveau socio-économique (agriculture, tourisme).

7.1. Risque environnemental

La rémanence de la CLD dans les sols (on estime la durée de la présence de la CLD dans les sols antillais à environ 700 ans) entraîne un risque environnemental fort. En effet, la contamination des sols a conduit à une contamination des eaux souterraines et de surface par ruissellement. La CLD est ainsi retrouvée dans tous les compartiments de l'environnement. Les sols, les eaux souterraines et de surface, et les écosystèmes aquatiques sont contaminés (**Fig. 19**). Aussi, certains élevages peuvent être contaminés (Jondreville et al., 2013).

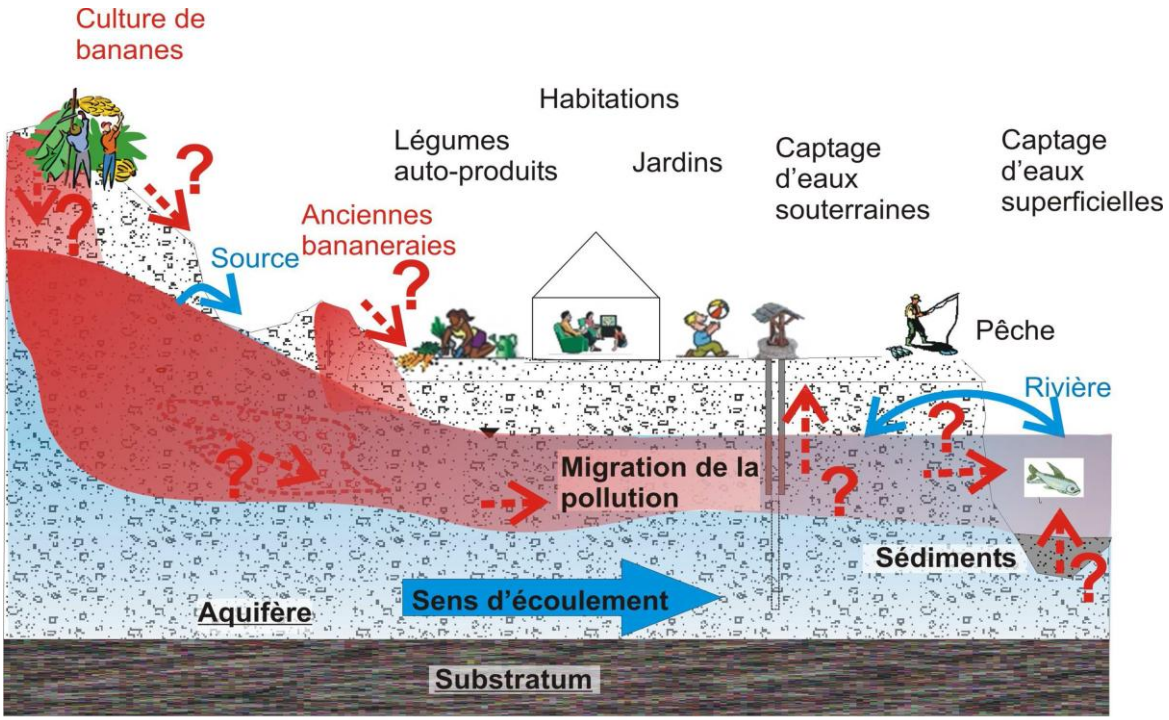


Fig. 19. Schéma conceptuel de la pollution à la chlordécone dans les Antilles (hors estuaire et mer) (BRGM, 2009)

La dégradation de la CLD dans le sol est faible, et 70 à 80% du stock de CLD reste disponible à l'entraînement par lessivage (Levillain et al., 2012). De par sa structure et sa nature lipophile, la CLD s'adsorbe facilement sur la matière organique des sols où elle a été épandue, les anciennes bananeraies, et peut être transférée aux milieux aquatiques dans les eaux de surface vers les bassins versants en aval et dans les eaux souterraines lors de l'infiltration et des écoulements sub-surfaciques (Levillain et al., 2012). La CLD contamine ainsi les organismes dulçaquicoles. De même, les plantes poussant sur un sol contaminé par la CLD ont leur système racinaire (et le tubercule s'il existe) en contact direct avec le sol contaminé, et ces plantes peuvent absorber la CLD diluée dans la solution du sol (**Fig. 20**).

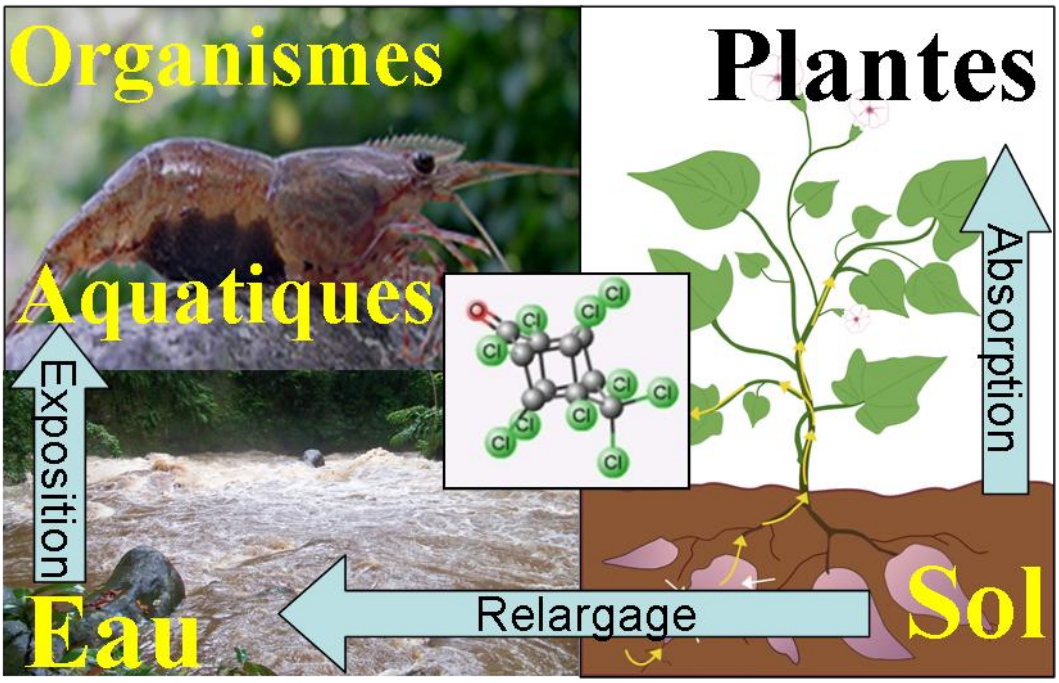


Fig. 20. Schématisation des transferts sol-eau-organismes aquatiques et sol-plante de la CLD

(source : Conculsions du projet CHLORDEXCO ; Cattan, 2012)

Les sols sont contaminés à des concentrations différentes en fonction de l'utilisation passée de la CLD sur les parcelles bananières et de leur nature physico-chimique. Les sols antillais sont d'origine volcanique. Ils sont soumis à un climat tropical, et donc à des évènements climatiques ponctuels de crues (et parfois de sécheresse) qui peuvent provoquer le phénomène de « weathering » (*Cf § I.3*). On distingue trois types de sols qui présentent une contamination par la CLD : les andosols, les ferralsols et les nitisols. Les andosols sont situés en amont des bassins versants, en hauteur, et donc ce sont généralement sur ces sols qu'ont été implantées les bananeraies. Plus bas sur le bassin versants se trouvent les ferralsols, et les nitisols sont localisés en aval du réseau hydrographique. Ces trois types de sols ont des teneurs en matière organique différentes. Ainsi, Cabidoche et al. (2009) ont mesuré des K_{oc}, coefficients de partage sol/eau, normalisé à la teneur en carbone organique, compris entre 12 et 25 $m^3\ kg^{-1}$ pour les andosols, entre 7,5 et 12 $m^3\ kg^{-1}$ pour les ferralsols et entre 2 et 3 $m^3\ kg^{-1}$ pour les nitisols.

Les andosols sont plus contaminés par la CLD que les nitisols, car ils constituent la zone majoritaire de la culture de la banane. Cependant, certains nitisols sur lesquels des exploitations ayant des modes de culture agroindustriels se sont développées aboutissent à des

niveaux de contamination comparables (Levillain et al., 2012). Les andosols entraînent toutefois une contamination moins forte. Les andosols sont des argiles à allophanes dont la structure en agrégats multi-échelles leur confère un volume de porosité très important (**Fig. 21**). Ainsi, cette structure piège la CLD qui est alors plus difficilement lixiviée (Woignier et al., 2011). Les nitisols, qui sont des argiles ne présentant pas ces structures désorberaient donc plus facilement la CLD.

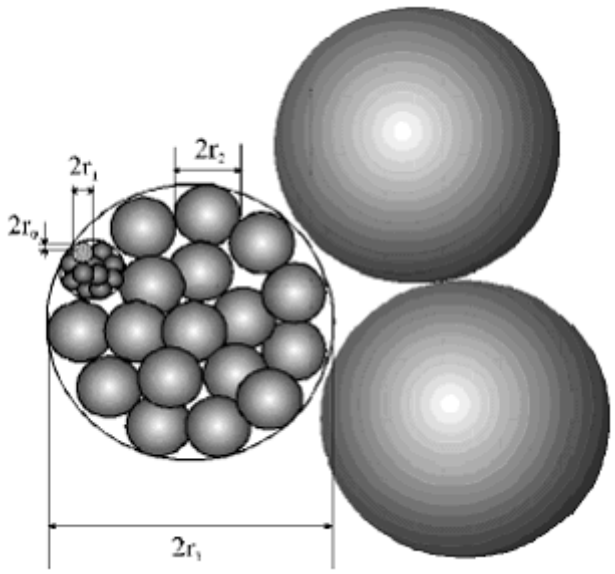


Fig. 21. Structure des argiles à allophanes (Le Déaut et Procaccia, 2009).

Le travail du sol influence aussi fortement la répartition de la CLD dans les sols. Dans un sol non travaillé, dans le cas des bananeraies pérennes, la CLD est retrouvée sur les 30 premiers centimètres alors que lorsqu'un travail de sol a lieu, la CLD est retrouvée sur 60 cm de profondeur notamment dans les sols des bananeraies où le sol est retourné très profondément (80 cm) à chaque rotation, mais en concentrations moins importante dû à l'effet de dilution. Ainsi, les sols guadeloupéens sont contaminés plus en profondeur mais à des concentrations plus faibles que les sols martiniquais, où souvent il y a peu de travail de sol.

Des cartes des risques de contamination par la CLD des sols guadeloupéens et martiniquais ont été établies. En Guadeloupe, le zonage a été effectué sur la base d'hypothèses d'utilisation de la CLD en relation avec l'assolement bananier durant les années de commercialisation de la CLD sous ses différentes formulations commerciales (**Fig. 22**).

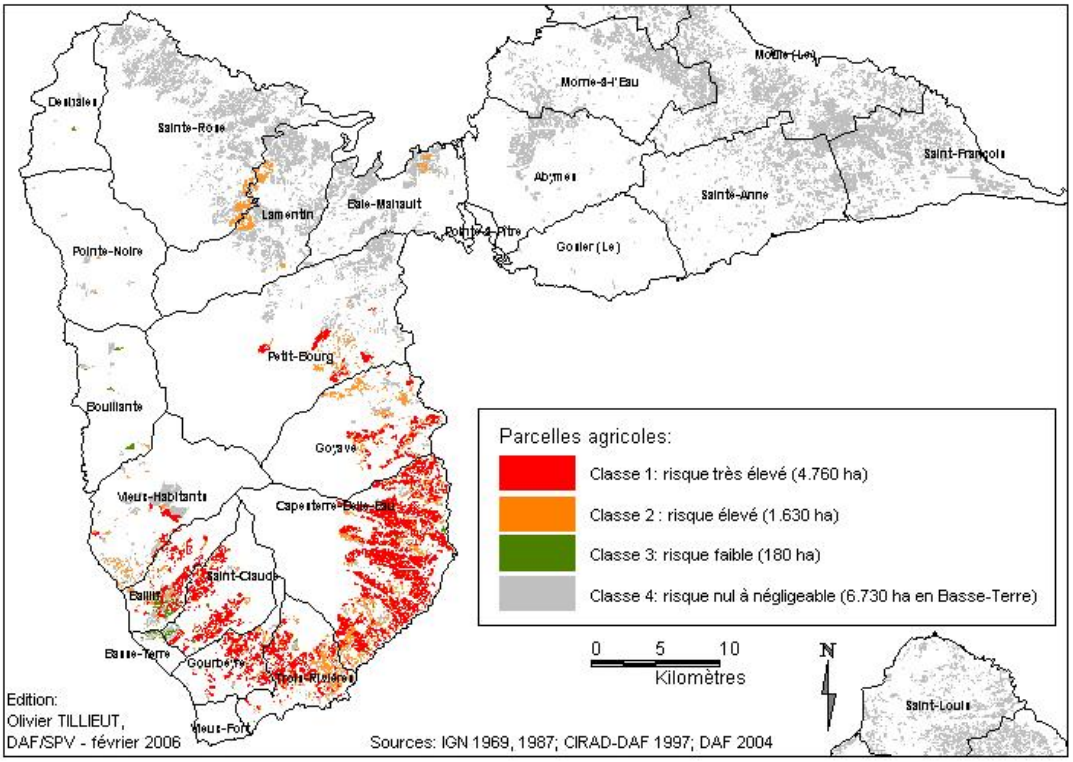


Fig. 22. Carte du risque de contamination des sols par la chlordécone en Guadeloupe

En Guadeloupe, le risque de contamination des sols est surtout présent au sud de Basse-Terre, où la culture bananière est localisée. Quatre classes de risque de contamination ont été distinguées, d'un risque très fort correspondant à la présence de bananeraies pendant les périodes de commercialisation à la fois de la Képone® puis du Curlone®, à un risque négligeable correspondant à l'absence de bananeraies durant ces périodes.

En Martinique, la cartographie a été établie selon l'assolement bananier pendant les périodes de commercialisation de la CLD, la teneur en matière organique des sols et le risque d'infestation par le charançon et donc la probabilité d'utilisation de CLD. Récemment, la constitution d'une base de données issues de plusieurs organismes de recherche a permis de cartographier la pollution des sols antillais par système d'informations géoréférencées (Koehne et al.) (**Fig. 23**).

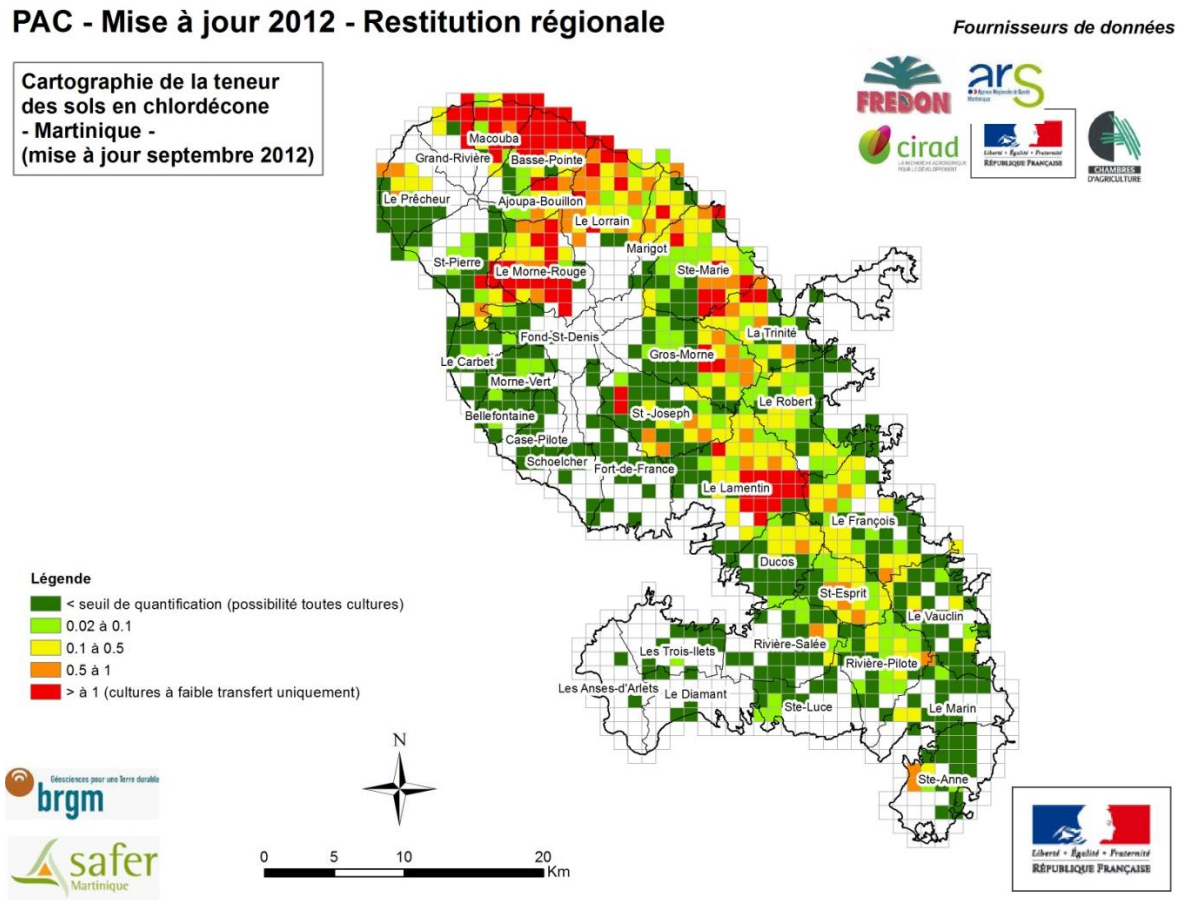


Fig. 23. Cartographie SIG de la pollution des sols par la chlordécone en Martinique. Les mailles représentent 1 km² ; les unités sont en mg kg^{-1}

(daaf972.agriculture.gouv.fr)

En Martinique, la contamination est plus largement répartie, avec de fortes concentrations dans le nord de l'île.

Les surfaces moyennement et fortement contaminées, dont la teneur en CLD est supérieure à 0,25 mg kg^{-1} sol sec, correspondent à 5200 ha en Guadeloupe et à 6200 ha en Martinique, soit respectivement 15 et 19% de la SAU.

La contamination des sols a conduit à la contamination des milieux aquatiques. Les écosystèmes sont ainsi contaminés. En Guadeloupe, les concentrations en chlordécone retrouvées dans les rivières varient de 0,5 à 10 µg L^{-1} (Rivière Pérou). Plusieurs fermes aquacoles de ouassous, qui sont des crustacés très consommés aux Antilles (espèce asiatique d'élevage, *Macrobrachium rosenbergii*), dont les captages d'eau sont en aval des bananeraies présentent des teneurs supérieures à la LMR de 20 µg kg^{-1}, nécessitant l'interdiction

d'exploitation pour certaines d'entre elles. De plus, il a été démontré une contamination et une bioamplification de la CLD dans les chaînes trophiques aquatiques (Coat et al., 2011) avec des teneurs supérieures à la LMR de 50 µg kg^{-1}. En Martinique, des concentrations en CLD de 386 µg kg^{-1} ont été mesurées dans certains poissons d'eau douce (Coat et al., 2006).

7.2. Risque sanitaire

Des études de la toxicité de la CLD ont été réalisées chez l'Homme et l'animal, particulièrement suite à l'accident d'Hopewell. L'espèce humaine présente une spécificité métabolique par rapport au rongeur, en raison de l'expression d'une enzyme, la chlordécone réductase, qui génère une fonction hydroxyle à la place de la fonction cétone, ce qui permet à la molécule d'être glucoronidée (INSERM et INVS, 2009). Mais cette activité reste faible et ne permet pas une élimination rapide de la molécule. Dans le sang, la CLD se lie aux protéines sériques telles que les lipoprotéines et l'albumine. Sa distribution dans l'organisme est particulière comparée aux autres organochlorés. Le taux de CLD retrouvé dans le foie est le plus élevé, suivi du tissu adipeux, puis des autres tissus. Le rapport des concentrations [foie] / [sang] est d'environ 15, et le rapport [tissus adipeux] / [sang] est de 7, alors que ce dernier est généralement compris entre 100 et 600 pour les autres organochlorés. Ce faible rapport pour la CLD pourrait s'expliquer en partie par la demi-vie relativement faible de la CLD dans le sang, de 120 à 160 j chez l'Homme, alors que celles des autres organochlorés peuvent aller jusqu'à 10 ans.

En 1979, la CLD, reconnue comme perturbateur endocrinien, a aussi été classée comme cancérigène possible (classe 2B) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), notamment en raison de preuves expérimentales chez l'animal, en l'absence d'arguments directs chez l'Homme. En effet, une étude a montré chez le rat et la souris que la CLD avait un rôle cancérigène dans le foie, mais pas dans les 15 autres organes examinés, et surtout chez les femelles (NCI, 1976).

Des études *in vitro* ont montré que la CLD n'était ni génotoxique ni mutagène. Cependant, elle présente des propriétés œstrogéno-mimétiques (Palmiter et Mulvihill, 1978; Hammond et al., 1979) qui pourraient expliquer une plus grande sensibilité des rats femelles. En effet, la CLD est un agoniste du récepteur à l'œstradiol ERα et un antagoniste de ERβ (Lemaire et al., 2006). Par ailleurs, il a été montré que les cytochromes P450, sous le contrôle des récepteurs nucléaire Pregnane Xenobiotic Receptor (PXR) et Constitutive Androstane Receptor (CAR),

étaient induits par la CLD. Or PXR est une cible de la CLD et d'autres organochlorés (Lemaire et al., 2004).

Concernant l'étude de la toxicité de la CLD chez l'Homme, les données existantes correspondent surtout à une exposition aiguë, c'est-à-dire à de fortes doses et sur une durée limitée. Il s'agit essentiellement de données issues de la population d'Hopewell. Peu de données existent concernant une exposition chronique, c'est-à-dire à de plus faibles doses mais de manière régulière, ce qui correspondrait plutôt à l'exposition de la population antillaise. Aux Antilles, la population présente des taux sanguins de l'ordre de 10 ng mL^{-1}, ce qui correspond à ceux des résidents d'Hopewell au moment de l'accident et non directement contaminés. Cependant, étant donnée la durée de vie limitée de la CLD dans le sang, ce taux ne reflète que les 2-3 dernières années d'exposition aux Antilles.

Lorsque la CLD était appliquée dans les bananeraies, les ouvriers agricoles étaient exposés à la fois par contact et par inhalation (le Képone® et le Curlone® épandus étaient sous forme de poudre). Aujourd'hui, l'exposition serait principalement alimentaire via les plantes cultivées sur des sols contenant de la CLD, notamment. Aux Antilles, les tubercules tels que l'igname, la dachine ou le manioc, sont une base de l'alimentation de la population locale et pourraient être un des principaux vecteurs d'exposition. Les poissons et crustacées tels que les ouassous sont aussi très consommés et vivent dans des milieux contaminés. Il a été mis en évidence un lien entre l'exposition à la CLD et le fort taux d'incidence du cancer de la prostate aux Antilles (Multigner et al., 2010) mais l'élévation du facteur de risque n'est pas plus grande chez les ouvriers agricoles que dans la population générale. Ceci confirme que aujourd'hui, l'exposition à la CLD est exclusivement alimentaire. D'autre part, il semblerait que plusieurs autres facteurs entrent en jeux, génétiques et environnementaux, dans le risque de développer un cancer de la prostate. Le taux d'incidence de ce cancer est plus élevé chez la population noire, et les personnes qui ont vécu pendant une période en dehors des Antilles présenteraient un risque supérieur de développer ce type de cancer. Une étude plus récente fait aussi le parallèle entre des problèmes de développement moteurs et cognitifs de l'enfant lors d'une exposition chronique à des doses environnementales pré- et postnatale (Dallaire et al., 2012; Boucher et al., 2013).

7.3. Aspects économiques et sociaux

En dehors de l'aspect sanitaire, la pollution par la CLD des milieux terrestres et marins se répercute sur de nombreux secteurs, économiques et sociaux. L'agriculture, l'élevage et la

pêche sont directement impactés puisque soumis aux LMR afin de réduire le risque d'exposition alimentaire à la CLD. La pollution étant inégalement répartie, certaines parcelles agricoles sont devenues inaptes à certaines cultures, en particuliers les tubercules tropicaux. Entre 2003 et 2005, plusieurs destructions de récolte ont eu lieu et de nombreux aliments ont été retirés du marché du fait de leur contamination. La réévaluation des LMR en 2008 (de 20 à 50 µg kg^{-1}) a conduit à la fermeture de plusieurs fermes aquacoles en Guadeloupe et Martinique. En Basse-Terre, 13 rivières sur 15 étaient interdites à la pêche, ainsi que toutes les rivières et littoraux en Martinique. Dans un arrêté préfectoral du 26 juin 2013, le zonage d'interdiction de pêche a été redéfini (**Fig. 24**).

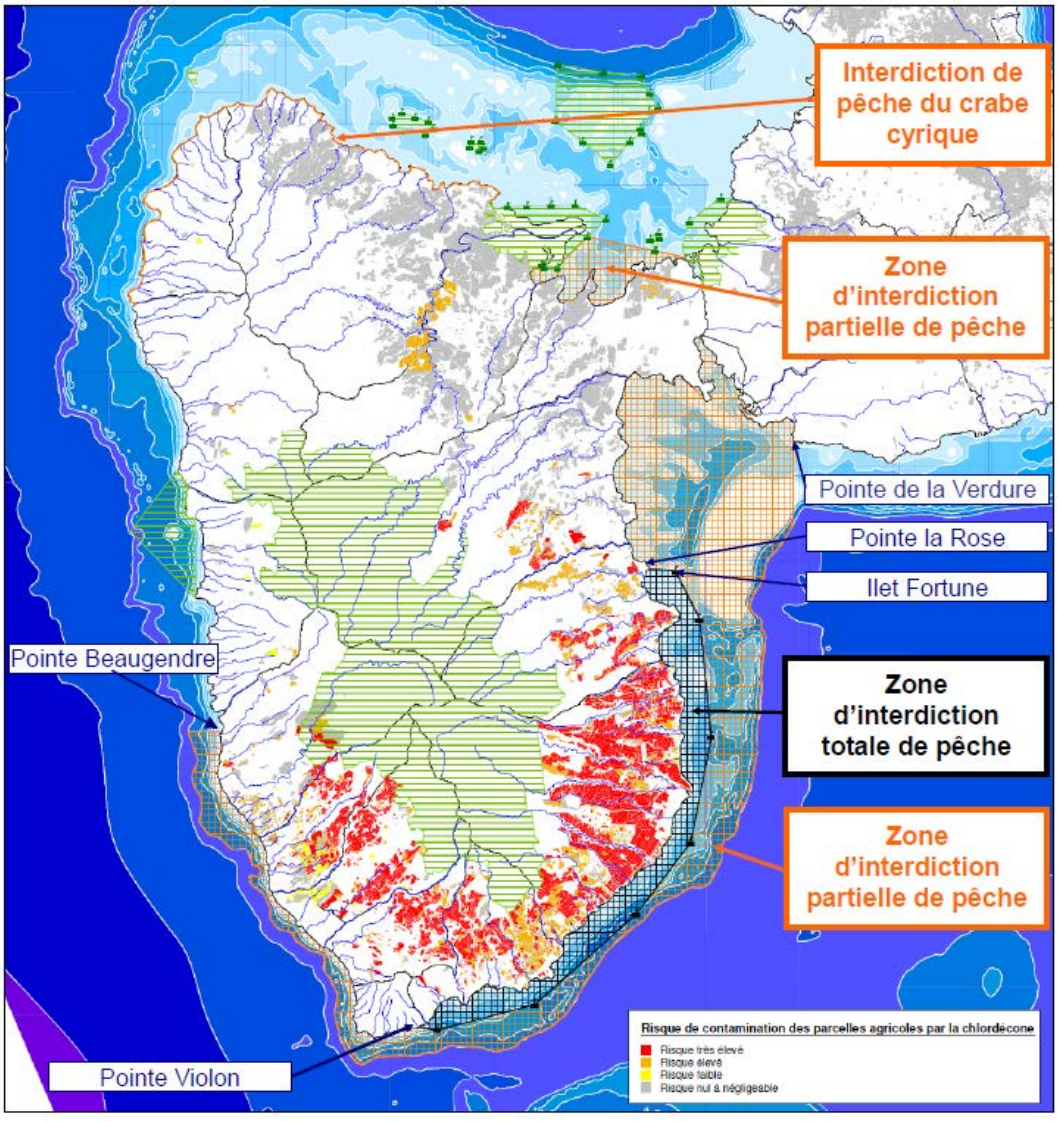


Fig. 24. Représentation cartographique des zones d'interdiction de pêche en Guadeloupe

(http://daaf971.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/AP130626_2013-057_reglementation-peche-chlordecone_cle0d7e8 1.pdf)

Il a été défini des zones d'interdiction partielle et une zone d'interdiction totale de la pêche. Ces zones représentent au total une superficie de 37 km² de littoral.

Les agriculteurs et pêcheurs sont donc touchés en premier lieu, mais l'image globale des Antilles françaises souffre aussi de cette pollution, dont les causes et conséquences sont souvent méconnues par le grand-public. Ainsi, l'image touristique des Antilles a été détériorée avec la médiatisation de la contamination de son milieu naturel.

8. Contexte et objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est de comprendre les mécanismes de contamination par la CLD des plantes cultivées sur des sols contaminés afin de participer à une meilleure gestion du risque d'exposition via l'alimentation, à la fois humaine et animale. En effet, si la contamination de plantes expose d'une part l'Homme par la consommation de tubercules notamment, elle expose aussi le bétail qui consomme des fourrages, en particulier des graminées.

La compréhension des mécanismes qui gouvernent d'une part l'absorption de la CLD dans quelques végétaux de référence et d'autre part qui conditionnement la distribution de la molécule entre les différents organes du végétal est donc l'enjeu scientifique majeur de cette thèse. Cette connaissance doit permettre d'appréhender au mieux le risque inhérent à chaque type de végétal en fonction de leur consommation par les différents acteurs des chaînes alimentaires, qu'ils soient humain ou non. Trois types de végétaux sont particulièrement visés comme présentant un risque : les légumes-racines, plantes à organe souterrain récolté (OSR), car en contact direct avec la contamination, les graminées dont certaines comme la canne à sucre accumulerait la CLD dans leurs parties aériennes (Cabidoche et al., 2006) et des cucurbitacées (*Cucurbita pepo*) dont certaines sous-espèces (*C. pepo ssp pepo*) possèderaient une aptitude particulière à absorber les organochlorés (White et al., 2003).

De plus, cette connaissance est nécessaire pour appréhender un autre problème lié à la CLD : la décontamination des sols pollués. Il n'est en effet pas envisageable d'utiliser des méthodes *ex situ* en raison du volume de terre à traiter trop important et de la nature diffuse de la contamination. Les solutions *in situ* non dommageables pour les sols et plus généralement pour l'environnement sont relativement restreintes. La phytoremédiation, c'est-à-dire la dépollution d'un milieu (sol ou eau) par les plantes serait une technique peu coûteuse et

respectueuse de l'environnement mais exigerait une meilleure connaissance de la capacité des plantes ou tout au moins de certaines d'entre elles à accumuler la CLD (phytoextraction).

9. Systèmes d'étude

L'étude des transferts sol-plante de la CLD s'est déroulée selon deux approches : (i) la pénétration de la molécule dans la plante par le système racinaire, et (ii) la translocation dans la partie aérienne de la plante. Les légumes-racines, largement consommés par la population antillaise et qui poussent directement au contact du sol ont donc constitué un premier système d'étude (**Tableau 1**). Nous avons choisi d'étudier des légumes-racines couramment consommés aux Antilles et ayant des processus de tubérisation différents. Les transferts dans la partie aérienne de la plante ont été étudiés chez les graminées, qui faisant partie des producteurs primaires sont au bas des chaînes alimentaires. De plus elles sont souvent utilisées comme fourrages pour le bétail. Les graminées font donc aussi le lien entre sphère agricole et sphère environnementale. Plusieurs critères pouvant jouer sur le risque de contamination des graminées ont été pris en compte : le cycle de culture (plante annuelle/pérenne), le métabolisme carboné (C3/C4) ou encore le type de système racinaire (racines/rhizome) (**Tableau 1**).

Tableau 1. Tableau comparatif des plantes étudiées

Légumes-racines				
Nom usuel	**Genre, espèce**	**Photo**	**Type de tubercule**	**Caractéristiques du périderme**
Radis	*Raphanus sativus*		Hypocotyle	Très fin et lisse
Carotte	*Daucus carota*		Racine	Fin et moyennement lisse
Pomme de terre	*Solanum tuberosum*		Tige souterraine	Moyennement fin et lisse
Patate douce	*Ipomoea batatas*		Racine	Epais et moyennement lisse
Igname	genre *Dioscorea*		Racine	Fin et assez lisse en cours de culture. S'épaissit et devient tortueux pendant la conservation
Dachine/Taro	*Colocasia esculenta*		Corme	Epais et tortueux

Manioc	*Manihot esculenta*		Racine	Très épais et tortueux pendant la conservation
Graminées				
Nom usuel	**Genre, espèce**	**Photo**	**Métabolisme**	**Cycle de vie**
Maïs	*Zea mays*		C4	Annuelle
Blé	*Triticum aestivum*		C3	Annuelle
Sorgho	*Sorghum*		C4	Pérenne
Miscanthus	*Miscanthus sinensis*		C4	Pérenne

Partie II

LE TRANSFERT DE LA CLD DANS LES LEGUMES-RACINES

II. LE TRANSFERT DE LA CLD DANS LES LEGUMES-RACINES

Les légumes-racines, lorsqu'ils poussent sur un sol contaminé par la CLD, sont susceptibles d'être eux aussi contaminés, puisqu'ils sont au contact direct de la source de contamination. Or puisque l'exposition à la CLD est alimentaire, la consommation des légumes-racines, qui constituent une part importante de l'alimentation de la population antillaise, pourrait augmenter le risque d'exposition.

Dans cette partie, nous montrons quels sont les paramètres physiologiques et histologiques qui gouvernent le taux de contamination des différents légumes-racines. Dans un premier temps, nous avons utilisé le radis comme plante d'étude afin de comprendre les mécanismes de transfert sol-plante de la CLD et déterminer les paramètres physiologiques et histologiques de ce transfert. Ces résultats ont un intérêt fondamental dans la compréhension du transfert de la CLD dans les autres légumes-racines, en particulier les tubercules tropicaux couramment consommés aux Antilles. Cela permet ainsi d'évaluer le risque de contamination des légumes-racines afin de participer à la gestion du risque sanitaire aux FWI.

Pour les expérimentations, nous avons utilisé de la CLD radiomarquée au carbone 14, afin de suivre la molécule dans la plante. La CLD n'étant pas métabolisée par les plantes, l'utilisation d'une méthode principalement basée sur la radiométrie était possible et présentait des avantages pratiques. Ainsi, nous avons réalisé d'une part des expérimentations permettant de localiser la CLD dans les tissus du radis et d'autre part des dosages de radioactivité dans les différents tissus, permettant ainsi de doser la CLD à partir de l'activité spécifique de la molécule. Ces expérimentations ont permis de distinguer les différentes voies de contamination du tubercule de radis et de déterminer quelle était la voie de contamination prépondérante chez le radis.

Nous avons d'autre part déterminé quelle part jouaient les différents tissus du tubercule de radis dans la contamination. Ainsi, par une étude de la tubérisation de différents légumes-racines d'intérêt, nous avons élargi les résultats obtenus chez le radis chez ces différents légumes, afin d'avoir une vue d'ensemble du risque de contamination des tubercules couramment consommés aux Antilles françaises.

1. Matériels et Méthodes

1.1. Produits chimiques

La [^{14}C]-Chlordécone (activité spécifique = 1,443 GBq mmol^{-1}, pureté radiochimique de 97% déterminée par analyse en radio-chromatographie liquide haute performance à phase inverse) a été fournie par Moravek (Brea, CA, Etats-Unis). La [U-^{14}C-imidazolidine]-Imidaclopride (activité spécifique = 9.916 10^2 MBq mmol^{-1}, pureté radiochimique de 97% déterminée par analyse en radio-chromatographie liquide haute performance à phase inverse) a été obtenue de l'Institut des Isotopes (Budapest, Hongrie). Le standard analytique de CLD (Fluka 45379, PESTANAL®) et tous les autres produits chimiques ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France) et sont de qualité analytique. Les solvants utilisés dans les expérimentations ont été achetés à Scharlau Chemie S. A. (Barcelone, Espagne).

1.2. Détermination de la radioactivité

Les échantillons solides ont été séchés dans un lyophilisateur (Alpha 15, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Allemagne) et broyés dans un broyeur vibrant à billes (MM 400, Retsch GmbH, Haan, Allemagne). Ils ont ensuite été brûlés à l'aide d'un oxydiser (Packard Oxidizer 307, PerkinElmer Life and Analytical Sciences, EU). Ainsi les atomes de carbone radiomarqués ont été récupérés à l'aide d'un solvant anionique et l'émission radioactive amplifiée grâce à un solvant scintillant (cocktail de scintillation PerkinElmer LAS : Permafluor et Carbosorb, 10:7, v/v). La radioactivité est alors comptée dans un compteur à scintillation liquide (Liquid Scintillation Analyzer, Tri-Carb® 2200 ou 1500 CA, Packard, Canberra, Australia).

Les échantillons liquides ont été directement mélangés à un cocktail de scintillation (Ultima Gold, PerkinElmer LAS, EU) avant d'être analysés par comptage en scintillation liquide (CSL).

Dans les expérimentations, la CLD radiomarquée est mélangée à de la CLD froide, c'est-à-dire non radiomarquée. Ainsi, en fonction de la quantité de CLD radiomarquée par rapport à la quantité de CLD froide utilisées pour une expérimentation, on calcule l'activité spécifique de la CLD, en Bq par quantité de CLD totale (froide et radiomarquée). On peut ainsi calculer la quantité réelle de CLD présente dans un échantillon.

1.3. Substrat de culture

Plusieurs substrats de culture ont été utilisés. Pour les cultures en sol artificiel, le substrat utilisé est un mélange d'humus (30% de matière organique) et de sable de quartz (50:50, w/w). Le sable de quartz est un sable d'aquarium (Zolux, quart n°3). Ce sable est aussi utilisé comme substrat seul pour certaines expérimentations. Il est alors arrosé avec une solution nutritive complète (Coic et Lesaint, 1973). Pour les expérimentations en hydroponie, cette même solution est utilisée.

La contamination du sable par la CLD a été réalisée en dissolvant tout d'abord la CLD dans un petit volume d'éthanol, puis un volume plus grand d'eau. La solution ainsi obtenue a alors été mélangée à du sable de façon homogène en utilisant un mélangeur. Le sable ainsi mouillé a alors été séché complètement dans un four à 60°C. Des aliquotes de la solution de contamination ont été contrôlées en CSL afin de connaître la concentration exacte de CLD dans la solution. Cela permet de connaître la quantité finale de CLD dans un volume donné de sable.

1.4. Paramètres généraux du transfert sol-plante de la CLD

1.4.1. Effet de la CLD sur la croissance de la plante

Des radis (*Raphanus sativus* cv. Nelson) ont été semés dans des cristallisoirs (42 radis / cristallisoir) contenant du sable contaminé avec de la CLD non radiomarquée à différentes concentrations (0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 5 ; 10 ; 20 ; 35 et 50 mg kg^{-1} de sable sec). Les radis ont été arrosés quotidiennement avec la solution nutritive complète (Coic et Lesaint, 1973). Nous avons utilisé un cristallisoir par concentration. Pour le témoin, les radis ont été semés dans du sable non contaminé. Trois réplicats ont été réalisés par concentration, en récoltant séparément 3 zones de chaque cristallisoir. L'expérience n'a été réalisée qu'une seule fois. Les cristallisoirs ont été placés dans une chambre de culture à atmosphère contrôlée pendant la durée de l'expérimentation (22°C/20°C, jour/nuit, photopériode 16 h, densité de flux de photons photosynthétiques de 350 µmol m^{-2} s^{-1}). Les radis ont été récoltés au stade d'initiation de la tubérisation, soit 19 j après semis (14 j après émergence).

1.4.2. Cinétique de solubilisation de la CLD dans le substrat sable

Il s'agissait d'évaluer le temps de solubilisation de la CLD lors de l'arrosage du substrat de culture, le sable, préalablement contaminé par de la CLD. Une cinétique de désorption de la

[^{14}C]-CLD a été réalisée sur 48 h, à partir de sable contaminé à 1 mg kg^{-1}, valeur limite de solubilité. Des échantillons de 3 g de sable ont été pesés dans des flacons en verre de 10 mL auxquels ont été ajoutés 3 mL d'eau du robinet. L'eau non adsorbée sur les grains de sable a ensuite été prélevée à différents temps et centrifugée pendant 10 min à 1 000 rpm. Des aliquotes de 100 µL mélangés dans 2 mL de cocktail scintillant Ultima Gold® ont ensuite été quantifiés en comptage en scintillation liquide (CSL) (Liquid Scintillation Analyzer, Tri-Carb® 2200 CA, Packard, Canberra, Australia). Trois réplicats ont été réalisés par temps.

1.4.3. Biodisponibilité de la CLD en fonction des concentrations dans le substrat sable

Nous avons voulu savoir si la disponibilité de la CLD dans le sol pour les plantes dépendait de la concentration en CLD dans l'eau du sol ou du stock de CLD présente dans le sol. Des radis (*Raphanus sativus* cv. Nelson) ont été cultivés dans des pots individuels contenant 300 g de sable contaminé par la [^{14}C]-CLD (58 830 Bq par pot). Les concentrations totales en CLD utilisées sont 0,1 ; 1 ; 5 ; 20 et 50 mg kg^{-1} de sol sec. Le témoin ne contenait pas de CLD. Cinq réplicats ont été réalisés par concentration, et l'expérimentation n'a été réalisée qu'une fois. Les radis ont été arrosés tous les jours par une solution nutritive complète (Coic et Lesaint, 1973), afin de compléter la masse d'eau évapotranspirée lors de la croissance. Les radis ont été récoltés 35 jours après semis, lorsque le tubercule avait atteint une taille commerciale, et les organes (partie aérienne, tubercule et racines fibreuses) ont été séparés à l'aide d'un scalpel puis congelés, lyophilisés et broyés. Les racines ont préalablement été rincées à l'eau du robinet, qui a été stockée, afin d'éliminer la CLD simplement adsorbée. Ensuite, la contamination des échantillons a été mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide ou CSL (Liquid Scintillation Analyzer, Tri-Carb® 1500 CA, Packard, Canberra, Australia) après combustion oxydative (Sample oxidizer model 307, Perkin Elmer, USA). L'eau de rinçage a été récupérée dans un bécher et des aliquotes ont été comptés en CSL et évacuée avec les déchets radioactifs.

1.4.4. Contamination en fonction du temps

L'influence de la durée de culture dans la contamination des plantes par la CLD a été évaluée. Des radis ont été semés individuellement dans des verres de 250 mL contenant du sable de quartz (380 g de sable, 80 mL de solution nutritive complète) contaminé avec de la [^{14}C]-CLD (37 000 Bq/verre, 12,5 µg CLD/verre). Les radis ont été arrosés tous les jours avec la solution

nutritive afin de compenser la perte d'eau par évapotranspiration. Les radis ont été récoltés à 7, 14, 24 et 34 j après émergence. Les racines ont été rincées à l'eau du robinet ainsi que la partie enterrée du tubercule de radis, et chaque organe a été séparé à l'aide d'un scalpel. Les échantillons ont été lyophilisés, broyés, et la distribution de la CLD a été analysée dans chaque organe des radis par CSL après combustion oxydative. L'eau de rinçage a été contrôlée en CSL.

1.5. Localisation tissulaire de la CLD chez le radis par autoradiographie

La localisation de la CLD au sein des différents tissus constitutifs du tubercule de radis lors du transfert sol-plante a été analysée. Des radis ont été semés dans un sol artificiel (humus/sable de quartz, 50:50, w/w) contaminé par la [^{14}C]-CLD (1 mg kg^{-1} ; 2,9 10^{6} Bq kg^{-1}). Les plants de radis ont été arrosés régulièrement avec la solution nutritive complète. Les radis ont été récoltés après 45 j et rincés à l'eau courante qui a été contrôlée en CSL. Des coupes longitudinales et transversales des tubercules ont été réalisées à l'aide d'un scalpel. La radioactivité a été détectée par autoradiographie après avoir préalablement exposé les coupes sur des films photographiques BioMax MS Kodak (Sigma-Aldrich) pendant un mois à -20°C. Les films ont ensuite été scannés et les images ont été obtenues par le logiciel Image PRO-Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MA). Des diagrammes de densité lumineuse des autoradiographies ont été obtenus par le logiciel en libre accès ImageJ (NIH, http://rsb.info.nih.gov/ij).

1.6. Dosage de la CLD chez le radis

La CLD a été dosée dans des radis contaminés et exprimée en concentration massique ou surfacique. Pour calculer la surface du radis, c'est-à-dire la surface de son périderme, nous avons assimilé le radis à un cylindre droit dont la surface est exprimée par la multiplication du périmètre de sa section par la hauteur, augmentée de la surface des deux cercles de base. Le diamètre et la hauteur des radis ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

1.6.1. Absorption racinaire et translocation de la CLD : étude de la contamination par voie systémique

Le courant de transpiration est le moteur du transfert des éléments nutritifs des racines vers la plante entière. Le rôle de ce flux ascendant, des racines vers les feuilles, dans le transfert de la CLD a été mesuré chez le radis. Pour cela des radis de 4 semaines ont été placés sur des

ballons de 50 mL contenant une solution nutritive complète contaminée avec la [^{14}C]-CLD (36 882 Bq, 0,38 µg mL^{-1}) de façon à immerger seulement les racines. Les feuilles de la moitié des radis ont été excisées afin de supprimer le courant de transpiration. La blessure ainsi faite a été colmatée avec de la graisse siliconée à base de polydiméthylsiloxane (Dow Corning®). L'ouverture des ballons a été recouverte de Parafilm® afin d'empêcher l'évaporation. Trois réplicats ont été réalisés pour chaque condition, avec feuilles et sans feuilles. Les montages, radis + ballon, ont été placés dans une enceinte climatisée (22°C/20°C, jour/nuit, photopériode 16 h) pendant 48 h (**Fig. 25**). Ensuite, les racines des radis ont été rincées, et différents tissus des tubercules, périderme + parenchyme phloémien et xylème + parenchyme médullaire, ont été séparés avec un scalpel. Les feuilles et les deux échantillons des tubercules ont été lyophilisés, broyés et la radioactivité a été quantifiée par CSL après combustion oxydative. Cette expérience a été réitérée en recouvrant cette fois les tubercules de paraffine afin d'empêcher l'évapotranspiration par la peau du tubercule et la contamination de la peau du tubercule par remontée capillaire depuis les racines. De même, afin de calculer précisément des facteurs de concentration, les racines des radis ont été immergées dans des ballons d'un volume de 150 mL contenant la solution contaminée avec de la [^{14}C]-CLD (v = 123 mL, 23643 Bq, 0,07 µg mL^{-1}).

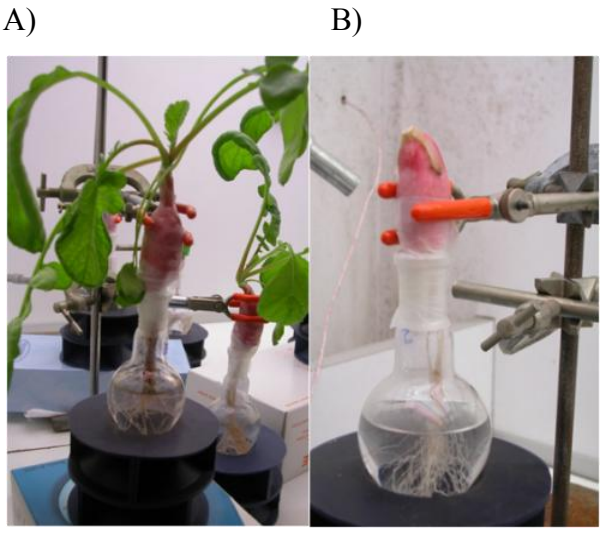


Fig. 25. Dispositif expérimental de l'expérience de translocation de la CLD dans des radis. A) Radis avec feuilles, B) radis sans feuilles. Les racines ont été plongées dans une solution nutritive contaminée avec la [^{14}C]-CLD (v = 123 mL, 23643 Bq, 0,07 µg mL^{-1}).

1.6.2. Contamination du périderme par capillarité

Pour les expérimentations réalisées en hydroponie, nous avons vérifié s'il pouvait se produire une contamination de la surface du tubercule de radis par remontée capillaire de la solution contaminée. Pour cela, la partie inférieure d'un radis (Nelson, 4 semaines) a été immergée dans une solution (v = 30 mL) de [^{14}C]-CLD (33 529 Bq, 0,38 µg mL^{-1}) et les concentrations surfaciques du périderme dans la partie immergée et non immergée ont été mesurées. Deux conditions ont été comparées : le radis 1 a été entouré d'un anneau de graisse siliconée (Dow Corning®) juste au-dessus de la partie immergée, afin d'empêcher la remontée de la molécule par capillarité. Le radis 2 n'avait pas d'anneau de graisse (**Fig. 26**). Les racines des radis ont été coupées à l'aide d'un scalpel et la blessure ainsi faite colmatée avec de la graisse, empêchant ainsi le passage de la CLD. Au bout de 24 h, les radis ont été découpés en 4 tranches chacun, la tranche 1 étant la tranche la plus éloignée de la solution, la tranche 4 étant la plus proche des racines soit la tranche immergée dans la solution. La surface de chaque tranche, correspondant à une section de cylindre, a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse en mesurant le diamètre et la hauteur de celle-ci. Le périderme de chaque tranche a été prélevé au scalpel et la quantité de CLD a été mesurée par CSL après combustion oxydative.

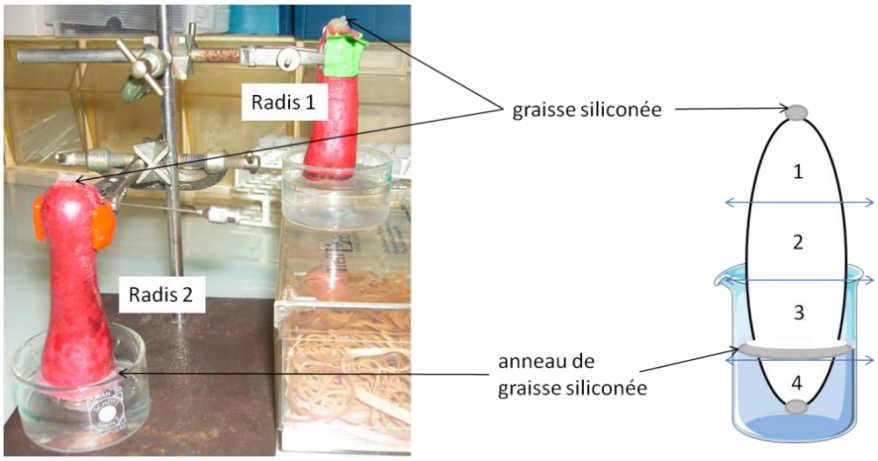


Fig. 26. Dispositif expérimental pour tester la contamination du périderme du radis par capillarité.

1.6.3. Etude des voies de contamination systémique et trans-péridermique du tubercule de radis par la CLD

Dans cette expérimentation, deux voies de contamination du tubercule de radis par la CLD étaient possibles. La CLD a été dosée chez des radis contaminés par ces deux voies

simultanées. Le système racinaire et le tubercule de radis de 4 semaines ont été immergés dans des béchers contenant 100 mL d'une solution nutritive complète contaminée par la [^{14}C]-CLD (293 333 Bq, 100 µg). Les feuilles et les pétioles de certains radis ont été coupés avec un scalpel et les blessures colmatées avec de la graisse siliconée (Dow Corning®). Trois réplicats ont été réalisés. Les ouvertures des béchers ont été fermées par du Parafilm® pour empêcher l'évaporation. Après 48 h, les radis ont été rincés avec de l'eau du robinet, contrôlée en CSL par la suite. La peau (1 mm d'épaisseur) a été séparée du cœur des tubercules à l'aide d'un économe, et les feuilles et les racines ont été prélevées séparément. Les échantillons ont été lyophilisés et broyés, et la CLD a été quantifiée par CSL après combustion oxydative.

1.7. Etude de la voie de contamination trans-péridermique par adsorption et diffusion de la CLD chez le radis

1.7.1. Comparaison de la diffusion de la CLD et de l'imidaclopride dans le tubercule de radis

Seule la voie d'adsorption de la CLD sur le périderme du tubercule de radis a été prise en compte dans cette expérimentation. Il s'agissait de mesurer la diffusion de la molécule au travers des différents tissus constituant le tubercule. Ici, on s'est totalement affranchi de la voie de contamination racinaire. Des tubercules de radis du commerce (4 semaines) ont été immergés pendant 48 h dans des béchers contenant chacun une solution de [^{14}C]-CLD (v = 40 mL; 10 000 Bq, 85,5 ng mL^{-1}) ou de [^{14}C]-imidaclopride (13 502 Bq, 7,89 ng mL^{-1}). Les feuilles et les racines ont été séparées préalablement avec un couteau et les blessures colmatées avec de la graisse siliconée. Après 48 h, les tubercules ont été rincés à l'eau courante et le périderme, le parenchyme phloémien, le xylème et le parenchyme médullaire ont été prélevés à l'aide d'un scalpel. Les échantillons ont été lyophilisés, broyés, et la radioactivité a été quantifiée par CSL après combustion oxydative.

Une cinétique de diffusion de la CLD dans les différents tissus sur 6 h a aussi été réalisée (t = 30 min, 1 h, 2h, 4 h, et 6 h, 7 603 Bq, 65.2 ng mL^{-1}) dans les mêmes conditions.

Quelques radis ont été immergés dans une solution de [^{14}C]-CLD à différentes concentrations de 0,01 à 10 ng mL^{-1} pendant 24 h. Des explants de périderme ont été prélevés à l'aide d'un scalpel et analysés comme précédemment.

Les paramètres de diffusion au travers du périderme ont été calculés. De même que pour la diffusion d'un composé organique à travers une membrane biologique, le flux de diffusion J au travers du périderme peut être estimé par la première loi de diffusion de Fick :

$$J = D_p \times \frac{\delta C_p}{\delta x} \qquad (1)$$

Où :

D_p = Coefficient de diffusion du composé dans le périderme (longueur^{-2} temps^{-1})

C_p = Concentration du composé dans le périderme (masse masse^{-1})

x = Epaisseur du périderme (longueur)

Comme dans le cas des membranes biologiques, le flux d'une solution externe vers les tissus du tubercule au travers du périderme est la somme de deux phénomènes : (i) l'adsorption de la CLD (ad) sur le périderme et (ii) la désorption de la CLD du périderme vers le tissu sous-jacent, le parenchyme cortical (Dettenmaier et al., 2009). Le flux J peut donc s'exprimer comme :

$$J = \frac{D_p}{x} \times [\ \delta C_{p\ ad} + \delta C_{p\ des}\ ] \qquad (2)$$

Où :

$\delta C_{p\ ad}$ = Variation de la concentration péridermique en CLD due à l'adsorption de la molécule depuis la solution

$\delta C_{p\ des}$ = Variation de la concentration péridermique en CLD due à la désorption de la molécule du périderme vers les tissus internes du tubercule

Le facteur limitant du flux de diffusion vers les tissus interne est la désorption. L'équation *(2)* peut donc s'écrire :

$$J = \frac{D_p}{x} \times \delta C_{p\ des} \qquad (3)$$

Or $\delta C_{p\ des}$ est fonction de la concentration en CLD du périderme et de l'inverse du coefficient de partage entre le périderme et le phloème Kd_p :

$$J=\frac{D_p}{x}\times\frac{1}{Kd_p}\times C_p \qquad (4)$$

Kd_p représente aussi un coefficient apparent de partage pour un tissu composé de plusieurs compartiments, chacun ayant sa propre masse et sa propre affinité pour la CLD. Cette molécule étant relativement lipophile, on peut considérer que les tissus ne sont composés que des compartiments eau et lipides.

On peut décomposer le terme $\frac{1}{Kd_p}\times C_p$ de l'équation *(4)* comme suit :

$$\frac{1}{Kd_p}\times C_p=\frac{1}{Kd_{pw}}\times\theta_w+\frac{1}{Kd_{pl}}\times\theta_l\times C_p \qquad (5)$$

Où :

Kd_{pw} = Coefficient de partage périderme-eau (sans unité)

Kd_{pl} = Coefficient de partage périderme-lipides (sans unité)

θ_w et θ_l = Pourcentage de masse des compartiments eau ($_w$) et lipides ($_l$) (sans unité)

Le coefficient de partage périderme-lipides peut être estimé par le rapport Kd_{pw}/K_{ow} puisque l'eau interstitielle constitue l'interface entre les bicouches lipidiques du périderme. On obtient l'équation suivante :

$$\frac{1}{Kd_{pw}}\times\theta_w+\frac{K_{ow}}{Kd_{pw}}\times\theta l\times C_p=\frac{C_p}{Kd_{pw}}\times(\theta_w+K_{ow}\theta_l) \qquad (6)$$

Ainsi le flux de diffusion J s'écrit :

$$J=\frac{D_p}{x}\times\frac{C_p}{Kd_{pw}}\times(\theta_w+K_{ow}\theta_l) \qquad (7)$$

et le rapport $\frac{D_p}{x}$ représente le coefficient de perméation P du périderme pour la CLD (longueur temps^{-1}).

Par la suite, le Kd sera mesuré graphiquement, en traçant l'isotherme de Freundlich d'adsorption de la CLD sur un explant de périderme. Kd correspond au coefficient de Freundlich K_f, et est alors exprimé en mL cm^{-2}.

1.7.2. Adsorption péridermique de la CLD

Afin de comparer les capacités d'adsorption péridermique de différents légumes-racines, des explants de surface 1,56 cm^2 issus de tubercules de légumes du commerce, pomme de terre nouvelle et mature, patate douce, igname, prélevés à l'aide d'un poinçon, ont été mis à incuber dans des tubes à hémolyse dans 2 mL d'une solution à 2% de pectinase et 2% de cellulase sous agitation (125 rpm) à température ambiante. Après 24 h, le périderme ainsi obtenu a été rincé à l'eau du robinet puis incubé dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations variant de 0,01 à 10 µg L^{-1} pendant 24 h. Après rinçage à l'eau, les explants de périderme ont été brûlés à l'aide d'un oxidizer pour quantifier ensuite la radioactivité en CSL. L'expérience a été réalisée en triplicat.

1.8. Analyse histologique des légumes-racines

1.8.1. Colorations au phloroglucinol

Dans le but d'identifier les différents tissus développés dans plusieurs légumes-racines lors de la tubérisation, une coloration des tissus lignifiés a été réalisée. Des coupes transversales de tubercules de différentes plantes (radis, carotte, patate douce, pomme de terre, igname, manioc, navet, dachine) ont été réalisées manuellement à l'aide d'un scalpel. Elles ont été incubées pendant 5 min dans une solution éthanolique de phloroglucinol 2% (m/v), puis transférées dans un bain d'acide chlorhydrique 6 N pendant 5 min. Des photographies ont été réalisées. Des coupes plus fines de tubercules de radis ont été réalisées au microtome (180 µm d'épaisseur) et observées au microscope inversé (Primo Vert, Carl Zeiss Inc., USA).

1.8.2. Dosage des lipides par la méthode de Folch

Afin d'établir s'il existe un lien entre le taux de lipides d'un tubercule et sa capacité à être contaminé par la CLD, la méthode Folch (Folch et al., 1957) a été utilisée pour doser les lipides dans la pulpe de tubercules. Les tubercules utilisés étaient des légumes du commerce

(radis, carotte, patate douce, pomme de terre, igname, dachine). La pulpe a été prélevée sous le périderme, après avoir enlevé ce dernier à l'aide d'un scalpel. Les échantillons ont été pesés en frais, puis lyophilisés pendant 48 h (Lyophilisateur Alpha 15, MAT/EXT/091 A 104, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Germany). Après avoir pesé les échantillons en poids sec, ceux-ci ont été broyés avec un broyeur vibrant à billes MM 400 (Retsch GmbH, Haan, Allemagne). Les échantillons ont été entièrement transvasés dans des tubes en verre, et les lipides ont été extraits avec un mélange dichlorométhane/méthanol (2:1, v/v) d'un volume de 20 fois le poids sec de l'échantillon (20 mL par g de poids sec). Le mélange a été agité doucement pendant 15-20 min. L'extrait a été récupéré par filtration (Papier filtre plissé 2V Qualitative, diamètre 150 mm, Whatman®, Springfield Mill, Maidstone, Kent, England), puis une solution de NaCl à 0,9% d'un volume de 0,2 fois le volume de la solution d'extraction a été ajoutée. Une nouvelle filtration a été réalisée, en utilisant des filtres siliconés séparateurs de phases (Phase separator, silicone treated, 1PS, 11,0 cm, Whatman®, Maidstone, England). La phase solvant a été récupérée dans un tube en verre préalablement taré. Les échantillons ont été séchés sous flux d'azote en ajoutant un peu d'éthanol pour accélérer l'évaporation puis au four jusqu'au séchage complet. Les lipides ont alors été pesés avec une balance de précision (Balance XT 120 A Precisa, Precisa Gravimetrics AG, Dietikon, Suisse). Les échantillons des tubercules ont analysés en triplicats. De l'huile de maïs (Corn oil, C8267, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO 63103, USA) a été utilisée pour déterminer le rendement d'extraction. Les quantités de lipides mesurées dans les échantillons ont été ajustées avec le pourcentage de lipides extrait de ce contrôle.

2. Résultats-Discussion

Les légumes-racines, tels que l'igname en Guadeloupe ou la dachine (Alavanja et al.) en Martinique, sont des éléments importants de la nourriture des populations antillaises. Lorsque ces légumes poussent sur des sols contenant de la CLD, ils sont particulièrement susceptibles d'être contaminés par celle-ci et donc d'exposer la population antillaise à la CLD par voie alimentaire. Puisqu'ils sont en contact direct avec le sol, la CLD peut ainsi pénétrer dans le tubercule par absorption systémique racinaire ou contaminer le périderme, la peau du tubercule. Il a été montré que ce dernier était plus fortement contaminé que la pulpe (Cabidoche et al., 2006). Ces auteurs ont aussi montré que le volume du tubercule, et en particulier le ratio de la surface sur le volume du tubercule, était proportionnel à la

contamination (**Fig. 27**). Il semblerait que plus le volume du légume est petit, plus il est contaminé.

Afin de comprendre les processus de contamination des légumes-racines par la CLD, nous avons réalisé une étude détaillée chez le radis (*Raphanus sativus*), que nous avons utilisé comme plante modèle. En effet, cette plante a un cycle de vie court, adapté à la culture en laboratoire, et des racines bien individualisées du tubercule. Les résultats obtenus chez cette plante modèle ont alors pu être appliqués à plusieurs légumes-racines, bien représentés dans l'alimentation antillaise, en fonction de leurs caractéristiques physiologiques et histologiques propres, que nous avons détaillés dans la partie bibliographique de ce manuscrit.

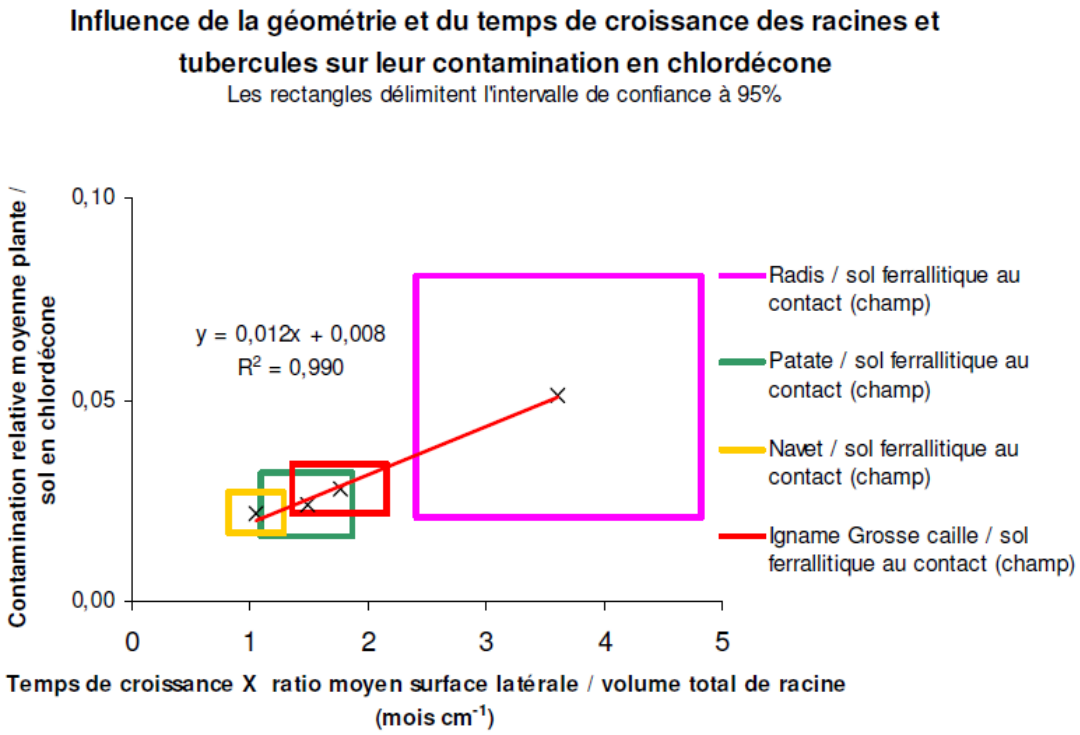


Fig. 27. Relation entre l'efficience de la contamination des racines et tubercules et leur risque de contamination au contact des sols ferralitiques, approché par des facteurs de forme et les durées de remplissage. D'après Cabidoche et al. (2006).

2.1. Absorption racinaire de la CLD par les légumes-racines

L'absorption racinaire de la CLD chez le radis est influencée par divers paramètres. Après avoir vérifié que la CLD n'était pas phytotoxique dans nos conditions d'expérimentations,

l'influence de la concentration en CLD dans le sol et du temps de culture a été examinée chez le radis (*Raphanus sativus*).

2.1.1. Phytotoxicité de la CLD chez le radis

Afin de contrôler un effet potentiellement phytotoxique de la CLD à de fortes concentrations, nous avons mesuré plusieurs paramètres de la croissance des radis en fonction des concentrations dans le substrat de culture (**Fig. 28**).

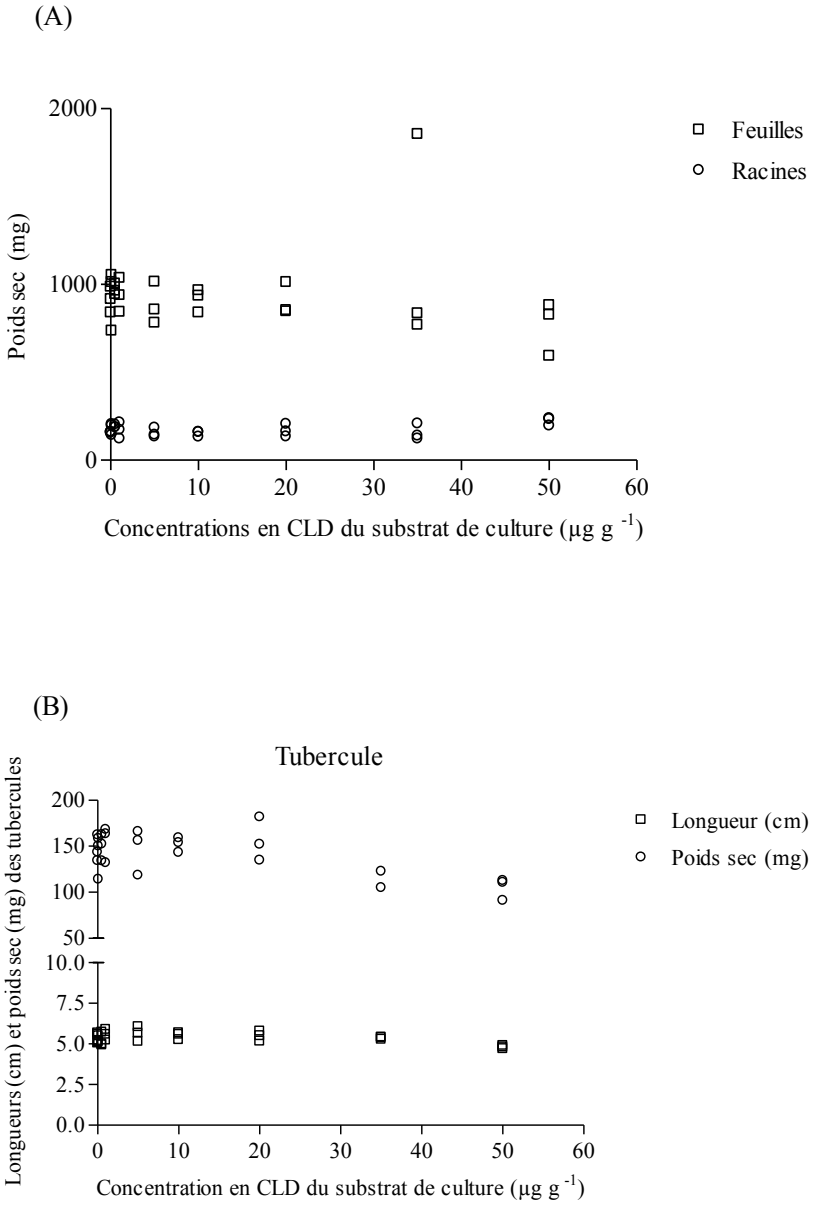


Fig. 28. Poids secs des feuilles et des racines (A) et poids secs et longueurs des tubercules (B) de radis cultivés dans du sable contaminé avec la CLD à différentes concentrations et récoltés au stade d'initiation de la tubérisation à 14 j après émergence.

Les radis ont été récoltés au stade d'initiation de la tubérisation (14 j après émergence) et les paramètres suivants ont été mesurés : longueur et poids sec du bulbe, poids sec des feuilles et des racines. La **figure 28** montre que le poids sec des feuilles et des racines (A) et le poids sec des bulbes et leur longueur (B) ne varient pas significativement en fonction de la concentration en CLD dans le sol. Il n'y a donc pas d'effet phytotoxique de la CLD observable à ces concentrations sur le radis.

2.1.2. Disponibilité de la CLD dans le substrat sable

Une cinétique de désorption/solubilisation de la [^{14}C]-CLD du sable contaminé à 1 mg kg^{-1} dans l'eau a été réalisée. Nous avons déterminé la concentration de [^{14}C]-CLD dissoute dans la solution à différents intervalles de temps pendant 48 h. (**Fig. 29**). Quel que soit ce temps de prélèvement, les résultats ne varient pas. En moyenne 0,640 ± 0,008 µg de CLD a été dissoute, soit 21% de la CLD contenue dans le sable (3 µg/échantillon), pour obtenir une concentration de 0,210 ± 0,003 µg mL^{-1}.

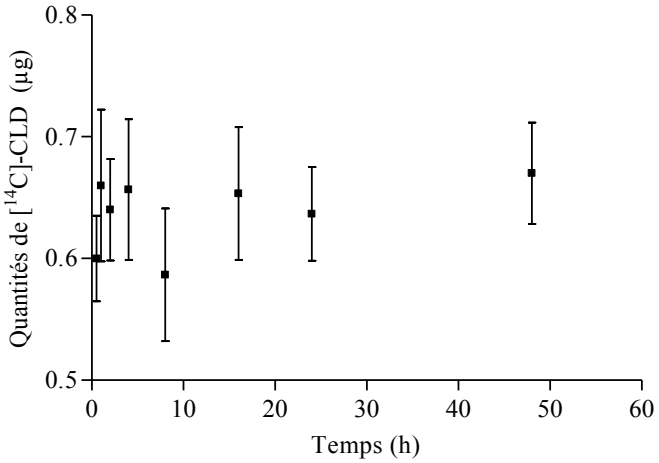


Fig. 29. Quantités de [^{14}C]-CLD dissoute dans l'eau au cours du temps à partir de sable contaminé à 1 mg kg^{-1} de [^{14}C]-CLD. Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 3).

Ces résultats semblent indiquer que le phénomène de désorption de la CLD du sable vers la solution du sol est très rapide et ne pourrait donc pas constituer un frein à la contamination des radis. Cependant, la réplication de cette expérimentation à une concentration en CLD inférieure à la limite de solubilité pourrait permettre de confirmer cela.

2.1.3. Effet du stock de CLD dans le sol dans la contamination des plantes

Afin de déterminer la relation entre la concentration dans le sol et le taux de contamination du radis, la concentration en CLD a été mesurée dans les différents organes de radis cultivés sur du substrat à concentrations croissantes en CLD (**Fig. 30**). Les tubercules ont été séparés en deux parties, la partie développée au-dessus de la surface du sol et la partie enterrée.

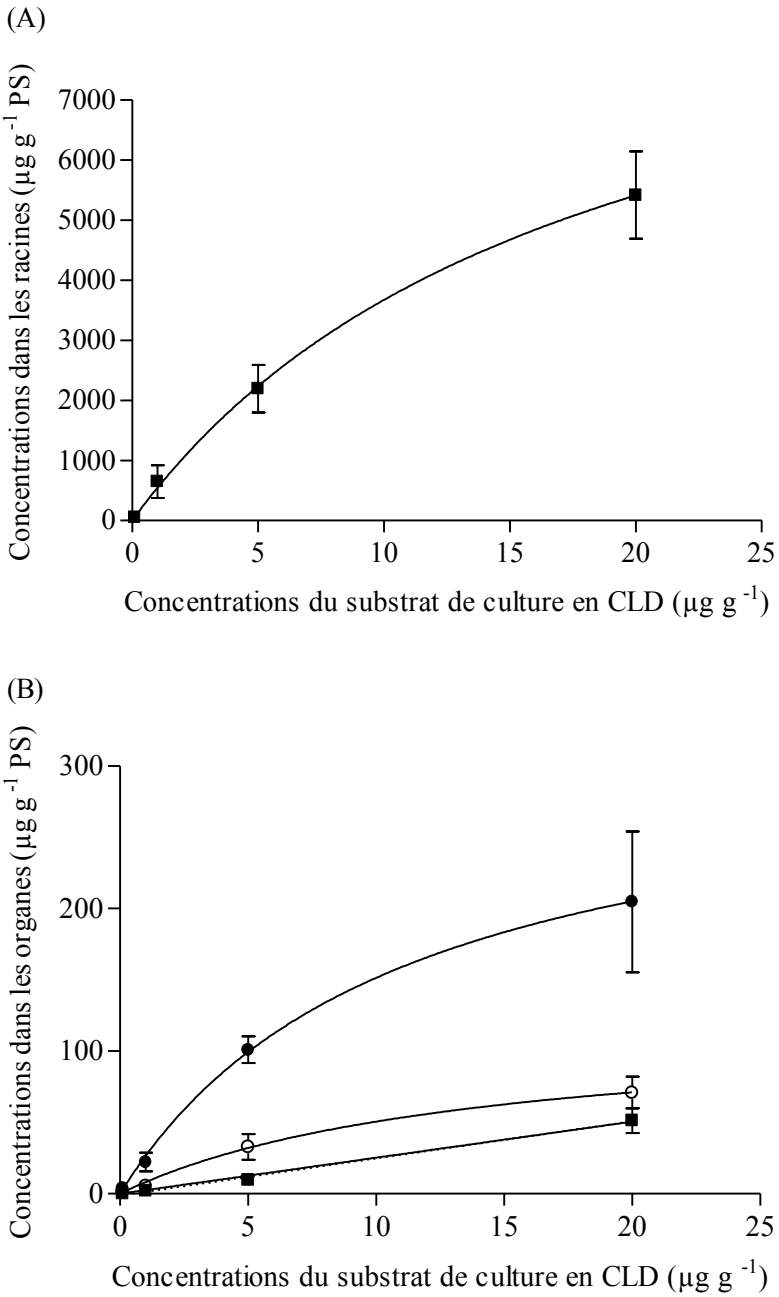


Fig. 30. Concentration en CLD dans les racines (A) et les feuilles (■), la partie aérienne du tubercule (○), et la partie souterraine du tubercule (●) (B). Les radis ont été cultivés pendant 35 j dans du sable contaminé à des concentrations différentes en CLD. Les résultats sont exprimés en µg g^{-1} de poids sec (PS). Les barres verticales indiquent l'erreur standard. n = 5.

Les concentrations en CLD mesurées dans les différents organes des radis ne sont pas linéairement proportionnelles aux concentrations en CLD du sol. Ceci est en accord avec la solubilité limitée de la CLD dans l'eau, aux alentours de 1 à 3 mg L^{-1} (PRAM, 2011) et donc à une saturation de la solution du sol aux concentrations élevées en CLD. Il semble cependant que le stock de CLD présent dans le sol ait participé à la contamination des radis, en plus de la seule CLD dissoute dans la solution du sol. En effet, bien que non linéaires, les courbes ne présentent pas un infléchissement net au-delà des concentrations saturantes. Ces dernières peuvent être estimées atteintes aux alentours de 10 µg de CLD par g de substrat (21 % de 10 µg = 2 µg dans la solution du sol). Ce résultat concorde avec ceux de Cabidoche et Lesueur-Jannoyer (2012) qui montrent que la quantité de CLD dans les ignames est proportionnelle au stock de CLD présent dans les différents sols guadeloupéens plutôt qu'à la concentration en CLD de la solution des sols.

Quelle que soit la concentration en CLD dans le sol, un gradient de concentration s'est établi au sein de la plante, des racines très contaminées (**Fig. 30A**) aux feuilles, les organes les moins contaminés (**Fig. 30B**). Le facteur de concentration (CF), défini comme le ratio entre la concentration dans un organe et la concentration dans le sol, a été calculé à 35 j pour la concentration initiale de 1 µg g^{-1} de CLD dans le sable. Pour les racines, le RCF_{35j} calculé entre les racines et le substrat de culture à 35 j est de 647 mL g^{-1} et les CF_{35j} sont de 6,3 mL g^{-1} pour les tubercules et de 1,7 mL g^{-1} pour les feuilles. La concentration en CLD dans la partie souterraine des tubercules est plus élevée que celle de la partie aérienne de ces mêmes tubercules (**Fig. 30B**). La contamination des feuilles et de la partie aériennes des tubercules indiquent une absorption systémique et une translocation de la CLD au sein de la plante. En plus de cette absorption systémique, s'ajoute probablement dans la partie souterraine de la plante une contamination par adsorption de la CLD sur le tubercule qui n'aurait pas était éliminée lors du rinçage.

2.1.4. Effet du temps de culture dans la contamination des plantes par la CLD

La quantité de CLD absorbée par les radis a augmenté au cours de leur développement, de 25 µg à 7 j après l'émergence, correspondant au stade d'initiation de la tubérisation (T1), à 107 µg à 34 j, correspondant au stade de commercialisation des tubercules (T4) (**Fig. 31A**). Le taux de transfert de la CLD dans les radis a augmenté au cours du développement, de 6,8% au

premier stade à 28% au stade final. Les racines représentent 90% de la contamination de la plante entière, et le tubercule ne représente que 5% de la contamination (**Fig. 31B**).

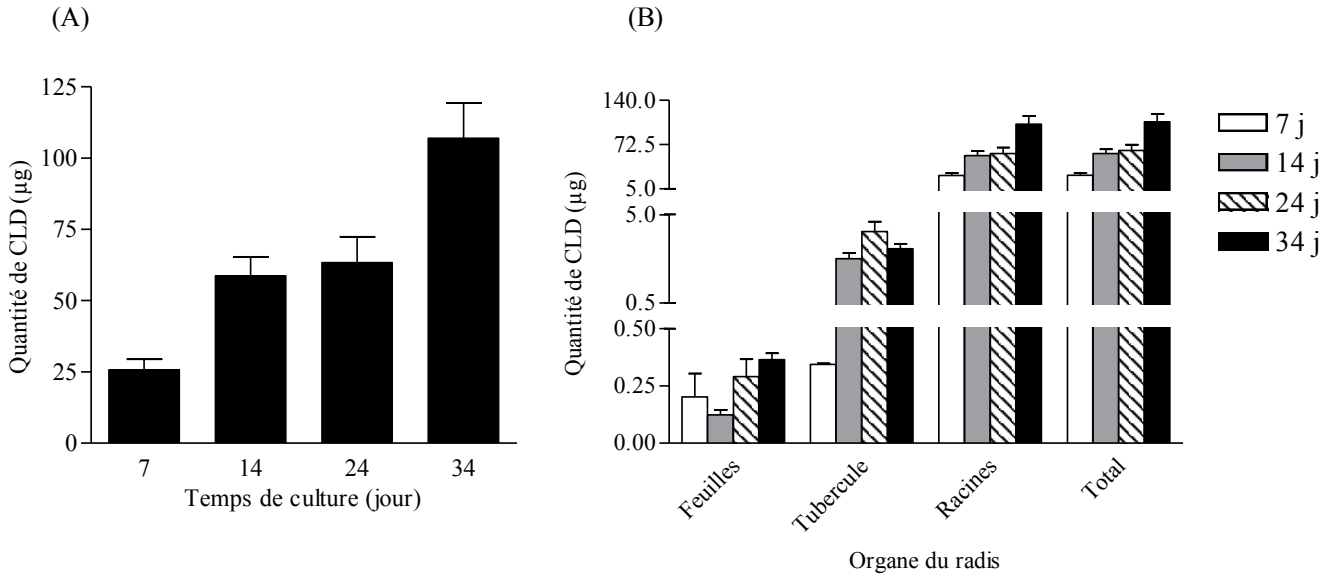


Fig. 31. Quantités de CLD retrouvée dans les plants de radis (A) et dans les différents organes des radis (B). Les radis ont été cultivés dans du sable contenant la [^{14}C]-CLD, 37 000 Bq/pot, 12,5 µg g^{-1}, et récoltés 7, 14, 24 et 34 j après émergence. Les résultats sont exprimés en µg de CLD. Les barres verticales indiquent l'erreur standard (n = 5 à 7j, n = 6 à 14 et 24 j, n = 8 à 34 j).

Le facteur de concentration racinaire (RCF), c'est-à-dire le rapport entre la concentration dans les racines et la concentration dans le sable, a été calculé. Il est de 328 mL g^{-1} au stade T4. La partie aérienne du radis représente une part négligeable de la contamination, mais cela montre une translocation de la CLD qui s'accumule au cours du temps dans la partie émergée de la plante. Par contre la concentration en CLD dans le tubercule diminue de 10,2 µg g^{-1} à 2,6 µg g^{-1}. Ainsi, le facteur de translocation (Rocheleau et al., 2008) défini comme le rapport entre la concentration dans la partie aérienne et la concentration dans la partie souterraine de la plante, augmente de 2,55 10^{-3} à 3,37 10^{-3} respectivement entre le stade T1 et le stade T4. Les facteurs de translocation mesurés entre les racines et les feuilles, les feuilles et le tubercule entier, et entre le tubercule et les racines, sont présentés dans le **tableau 2**. Ils indiquent un transfert acropétal de la CLD dans la plante.

Tableau 2. Facteur de translocation (TF) calculés comme le rapport des concentrations entre différents organes chez des radis incubés dans du sable contaminé par la [^{14}C]-CLD (37 000 Bq/pot, 12,5 µg/pot) à T1 = 7 j et T4 = 34 j.

	TF		
	Feuilles / Racines	**Feuilles / Tubercule**	**Tubercule / Racines**
T1	$1{,}2\ 10^{-3}$	0,15	$8{,}2\ 10^{-3}$
T4	$0{,}9\ 10^{-3}$	0,11	$8{,}5\ 10^{-3}$

2.2. Distribution de la contamination par la CLD dans les légumes-racines

La distribution de la CLD dans des radis cultivés dans un sol contaminé par de la [^{14}C]-CLD a été observée dans différentes conditions de culture, afin de déterminer quels étaient les paramètres (histologiques, physiologiques) influençant la contamination et quelle était leur contribution dans la contamination du radis

L'analyse des autoradiographies de coupes longitudinales et transversales de tubercules de radis (**Fig. 32**) confirme les résultats précédents et détaille plus précisément la distribution de la CLD au sein des tubercules. La molécule n'est pas distribuée de manière homogène dans les tubercules de radis. La contamination par la CLD, proportionnelle à la densité des grains d'argent exposés, est fortement localisée sur les racines fibreuses et à la surface de la partie du tubercule s'étant développée dans le sol (**Fig. 32A, B**). La CLD s'est donc adsorbée sur le périderme en contact direct avec le sol contaminé. Dans la chair du tubercule, la radioactivité semble liée aux faisceaux vasculaires, certainement sur les vaisseaux du xylème, avec un gradient apical de concentration, y compris dans la partie aérienne du tubercule. Cela peut s'expliquer par une absorption racinaire et un transfert systémique de la CLD dans la plante. Cependant, l'autoradiographie des coupes transversales (**Fig. 32C, D**) montre que la CLD contamine aussi le parenchyme des tubercules, avec, toutefois, une différence entre les deux parties du tubercule. Dans la partie souterraine, l'ensemble des parenchymes, parenchyme cortical et parenchyme médullaire, est contaminé. Au contraire, dans la partie supérieure, seule la zone médullaire est contaminée (**Fig. 32C**), la densité des grains d'argent de la zone

corticale étant au même niveau que le bruit de fond, comme le montrent les diagrammes de densité des transects.

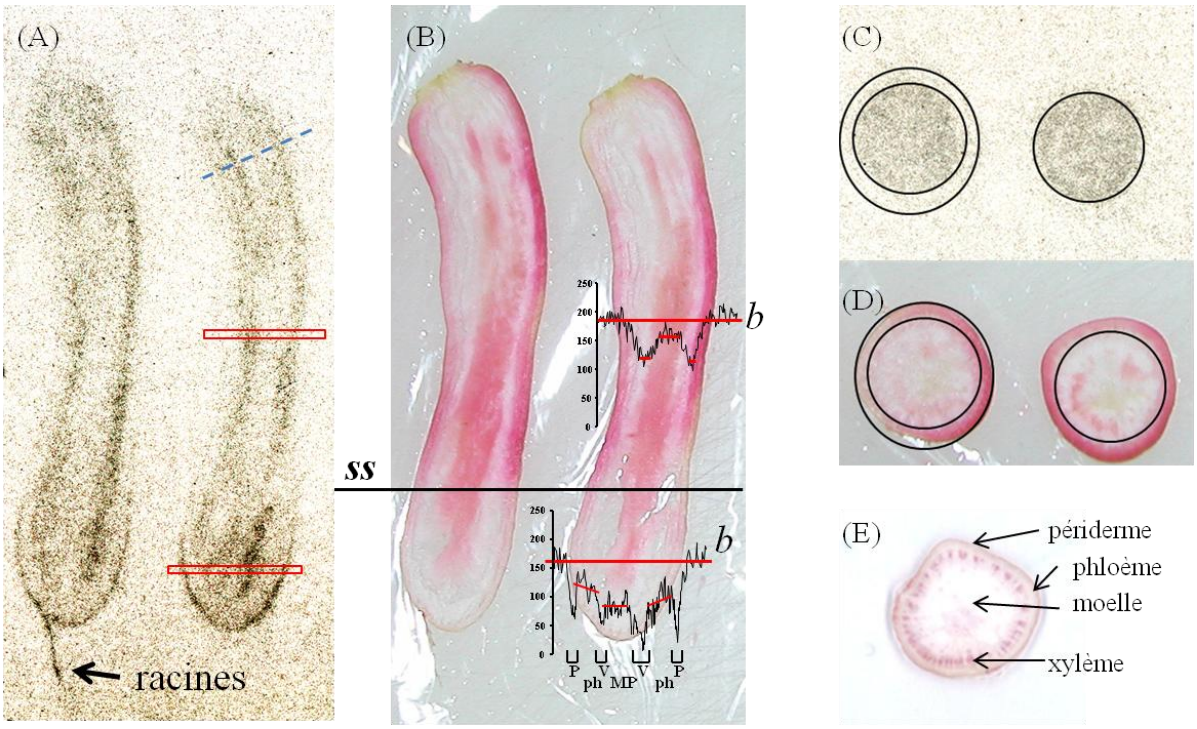


Fig. 32. Autoradiographies (A, C) (la radioactivité est représentée par les points noirs) et photographies (B, D, E) de coupes longitudinales (A, B) et transversales (C, D, E) de tubercules de radis cultivés dans un sol contaminé par la [^{14}C]-CLD. (A) *Rectangles rouges :* transects de densité de (B), *ligne pointillée :* niveau de la coupe transversale de (C, D, E). (B) Les diagrammes représentent la densité de radioactivité des transects de l'autoradiographie, exprimée en densité$^{-1}$ (densité lumineuse). (C, D) *Cercles :* périderme du tubercule (externe) ou cambium (interne). (E) Coloration au phloroglucinol des coupes transversales. P, périderme ; V, faisceaux vasculaires ; Ph, phloème ; M¨, parenchyme médullaire (chair) : *b,* bruit de fond ; *gs,* surface du sol.

La distribution plus ou moins homogène de la radioactivité dans le parenchyme médullaire, malgré une plus forte concentration en vaisseaux xylémiens en périphérie, est probablement due à la grande interconnexion de ces vaisseaux (structure en filet) dans le parenchyme. Par contre, il y a semble-t-il un effet de barrière à la diffusion centrifuge de la CLD puisque la zone corticale n'est pas contaminée dans la partie supérieure. Or celle-ci l'est dans sa partie souterraine. Cela semble indiquer une diffusion centripète de la molécule au travers du périderme vers le parenchyme cortical phloémien. Ces autoradiographies mettent donc en évidence deux voies de contamination des tubercules de radis par la CLD : (i) une voie systémique de contamination via les vaisseaux du xylème par le flux d'évapotranspiration, et (ii) une voie trans-péridermique, non systémique, par adsorption puis diffusion de la molécule au travers du périderme du tubercule.

2.3. Absorption racinaire et translocation de la CLD dans la plante entière

Nous venons de voir, avec les autoradiographies, que la CLD contamine les tubercules de radis par deux voies : l'adsorption péridermique et l'absorption racinaire. Nous avons voulu savoir quelle était la part de la voie systémique de pénétration de la CLD, résultant de l'absorption racinaire, dans la contamination totale de tubercules de radis.

2.3.1. Contribution du flux de transpiration

Nous nous sommes intéressés ici au transfert de la CLD dans les tubercules de radis par la seule voie d'absorption racinaire, en immergeant uniquement les racines des plantes dans une solution contaminée par la [^{14}C]-CLD. De plus, pour la moitié des plants de radis, les feuilles ont été excisées afin de bloquer le courant d'évapotranspiration foliaire. Nous avons alors comparé la contamination des tubercules des radis ayant des feuilles de ceux n'ayant pas de feuilles (**Tableau 3**). Les résultats montrent que la CLD est transférée dans les tubercules de radis, y compris dans ceux n'ayant pas de feuilles. Les quantités moyennes de CLD transférée dans les radis ayant des feuilles et dans les radis sans feuilles sont respectivement de 220,6 ± 50,2 ng et 73,2 ± 21,6 ng. Il y a donc absorption de la CLD même lorsqu'il n'y a pas de courant d'évapotranspiration foliaire, et logiquement, en proportion moindre. Il semble que la pression racinaire seule suffise à contaminer les tubercules de radis. D'autre part, les concentrations tissulaires sont sensiblement plus élevées dans les tubercules en absence de feuilles qu'en leur présence, particulièrement dans la partie périphérique du cylindre central (cf. parenchyme xylémien périphérique, **Tableau 3**). Cependant, un test statistique de Student ne confirme pas que les résultats soient différents entre les radis avec des feuilles et ceux n'ayant pas de feuilles. Toutefois, l'excision des feuilles bloque le flux d'évapotranspiration et cela devrait donc stopper la translocation de la CLD par la voie systémique xylémienne. Or, malgré l'absence de feuilles, il y a eu absorption de 6 à 8 ml de solution par les tubercules, ceci en l'absence d'évaporation de la solution, comme montré chez les contrôles. Cela s'est traduit par une augmentation de la masse des tubercules de 5 à 10% à la fin de l'expérimentation. Ce volume de solution absorbé contribue ainsi à une contamination des tubercules.

Tableau 3. Concentration en CLD en poids sec (PS) dans différents tissus de radis après immersion des racines dans une solution de [^{14}C]-CLD pendant 48 h. Quatre conditions ont été testées : (1) radis avec feuilles, (2) radis sans feuilles, (3) radis avec feuilles et tubercules recouverts de paraffine, (4) radis sans feuilles et tubercules recouverts de paraffine. Valeurs moyennes ± écart-types (n = 3).

	Concentrations (ng g^{-1} PS)			
Organes	**Feuilles**	**Sans feuilles**	**Feuilles + paraffine**	**Sans feuilles + paraffine**
Feuilles	262,7± 121,2	/	335,9 ± 147,5	/
Périderme	0,8 ± 0,3	1,5 ± 0,7	76,2 ± 18,9	51,0 ± 11,8
Parenchyme phloémien	84,1 ± 39,2	177,4 ± 54,8		
Parenchyme xylémien périphérique	104,7 ± 31,8	317,3 ± 132,1	110,1 ± 40,8	50,5 ± 12,4
Parenchyme central	50,6 ± 29,9	69,0 ± 9,2	30,6 ± 11,6	17,9 ± 5,8

Ainsi, la présence de CLD dans le tubercule s'explique par la pression osmotique racinaire, qui entraîne l'eau et les molécules dissoutes, ions et composés organiques, vers le haut de la plante via le xylème, et en l'absence de flux d'évapotranspiration cela bloque la CLD dans le tubercule.

Par ailleurs, la CLD est présente dans les tissus externes des tubercules (périderme et parenchyme phloémien) alors que ceux-ci ne contiennent pas de vaisseaux de xylème, et que la surface du tubercule n'est pas en contact avec la solution. Cette contamination pourrait s'expliquer par un flux centrifuge de CLD, depuis les vaisseaux de xylème de la partie centrale du tubercule. Cette contamination secondaire pourrait être entraînée par un second phénomène physiologique, peut-être plus important que la pression racinaire dans la contamination : l'évaporation trans-péridermique. En effet, lorsque cette voie trans-péridermique est bloquée par un pelliculage de paraffine sur le périderme, les concentrations dans les tubercules exfoliés sont plus faibles.

Finalement, la présence de CLD dans le parenchyme phloémien, même en l'absence d'évaporation trans-péridermique (tubercules exfoliés paraffinés) ne peut s'expliquer que par une diffusion centrifuge depuis le xylème. En effet, nous avons vérifié que la CLD dans le parenchyme phloémien ne pouvait pas provenir d'une diffusion depuis le périderme qui aurait pu être contaminé par une remontée capillaire de la solution à la surface du tubercule (**Tableau 4**). En effet, lorsque l'on bloque la possibilité d'un flux ascendant de la solution contaminée par capillarité à la surface du tubercule (Radis 1), la section immédiatement au-dessus du niveau de la solution (tranche 3) est moins contaminée. Quoiqu'il en soit, cette contamination du périderme par capillarité reste négligeable.

Tableau 4. Concentrations surfaciques de [^{14}C]-CLD sur le périderme de radis immergés en partie dans une solution de [^{14}C]-CLD (33 529 Bq, 0,38 µg mL^{-1}) pendant 24 h. Seule la tranche 4 est immergée.

Radis	Tranche	Concentration surfacique (dpm cm^{-2})
1	1	3,3
	2	2,7
	3	15,9
	4	7 899,2
2	1	6,0
	2	1,3
	3	80,9
	4	6 403,6

Nous montrons dans cette expérimentation que la contamination de la pulpe des tubercules de radis résulte de la translocation par évapotranspiration et de la translocation par évaporation au travers du périderme du tubercule.

Les facteurs de concentrations CF, exprimés comme le rapport des concentrations en CLD d'un organe sur la solution nutritive, calculés pour les racines, le tubercule et les feuilles étaient respectivement de 2 943 ± 1200, 0,13 ± 0,03 et 0,61 ± 0,10. Ces résultats suggèrent une forte adsorption racinaire de la CLD, suivie d'une faible translocation vers les feuilles. En effet, il est connu que les composés lipophiles sont fortement adsorbés au niveau des racines, donnant lieu à des valeurs de RCF élevées (Briggs et al., 1982; San Miguel et al., 2013).

Au cours de l'expérimentation, environ 10 mL de solution ont été absorbés par les radis, mais seulement 2 à 5% de CLD présente dans la solution ont été transloqués des racines vers le reste de la plante. La valeur de TSCF qui en résulte est de $3,44\ 10^{-3} \pm 1,73\ 10^{-3}$. Lorsque les tubercules étaient recouverts de paraffine, le TSCF calculé était de $2,67\ 10^{-3} \pm 5,72\ 10^{-4}$, ce qui n'est pas significativement différent du TSCF calculé sans paraffine. Cela implique que le phénomène d'évaporation au travers du périderme est négligeable dans la translocation de la CLD dans le tubercule.

Or en condition réelles de culture, le tubercule de la plante est en contact direct avec le sol. Ainsi, comme le montraient précédemment les autoradiographies, lorsque le sol est contaminé par la CLD, celle-ci s'adsorbe à la surface du tubercule. Il se peut que la CLD soit alors transférée dans la pulpe depuis le périderme par diffusion. Il s'agit de vérifier l'existence de cette voie de contamination et de déterminer si elle peut être la voie majoritaire de contamination des tubercules.

2.3.2. Contribution de la contamination trans-péridermique

Dans cette expérimentation, des tubercules de radis ainsi que leurs racines ont été immergés dans une solution de [^{14}C]-CLD pendant 48 h. Ainsi, en plus de la voie d'absorption racinaire de la CLD, la molécule peut s'adsorber sur le périderme du tubercule. Comme précédemment, les feuilles de certains radis ont été coupées afin de bloquer l'évapotranspiration foliaire.

Pour les radis ayant des feuilles, la concentration dans la peau des tubercules (constituée du périderme et de phloème) et la concentration dans le cœur du radis (constitué de parenchyme médullaire et de xylème) étaient respectivement de $186,1 \pm 25,2$ et $1,13 \pm 0,26$ µg g^{-1}. La concentration mesurée dans les feuilles était de $1,58 \pm 0,10$ µg g^{-1}, soit du même ordre de grandeur que la concentration dans le cœur des tubercules. Cela montre donc que la CLD est transférée à des taux équivalents dans le cœur du tubercule et dans les feuilles. Pour les feuilles, il s'agit clairement d'un transfert systémique ascendant de la CLD. Concernant la contamination du parenchyme médullaire, on ne peut discriminer s'il s'agit d'un transfert de la CLD par le courant d'évapotranspiration ou d'une stricte diffusion depuis les vaisseaux xylémiens. Or, lorsque l'on s'affranchit du courant d'évapotranspiration en supprimant les feuilles, la contamination de la chair des tubercules n'est pas significativement différente des radis avec des feuilles, respectivement de $1,25 \pm 0,53$ et $1,13 \pm 0,26$ µg g^{-1}. Cela semble

signifier que l'absorption racinaire et la translocation par évapotranspiration jouent un rôle négligeable dans la contamination des tubercules.

Alors que les autoradiographies montraient, pour certains tissus tels que les faisceaux vasculaires, une contamination aussi élevée que celle du périderme, il semble que l'apport de cette contamination dans la concentration totale en CLD dans la pulpe soit relativement faible. Ceci pourrait être dû à une forte adsorption de la CLD sur les vaisseaux, probablement sur la lignine des parois cellulaires mais en quantité restreinte au vu de la faible proportion que représentent ces vaisseaux par rapport à la masse totale de la pulpe. Ces résultats rejoignent ceux de Fujisawa et al. (2002), qui ont montré que des pesticides lipophiles étaient préférentiellement transférés dans le cœur de radis par diffusion trans-péridermique plutôt que par le flux d'évapotranspiration à partir des chevelus racinaires.

En résumé, la contamination de la pulpe des tubercules de radis résulte de trois processus : (i) la translocation par évapotranspiration, (ii) la diffusion péridermique et (iii) la translocation par évaporation au travers du périderme du tubercule. Les conditions de culture et le taux d'humidité tant au niveau du sol que de l'atmosphère doivent largement modifier l'importance relative de ces trois voies de contamination.

2.4. Adsorption et diffusion trans-péridermique de la CLD dans les légumes-racines

Les tubercules, poussant directement dans le sol, présentent un risque de contamination par la CLD plus important que les parties aériennes des plantes, tige et feuilles. Lorsqu'un tubercule se développe dans un sol contaminé par la CLD, son périderme est en contact direct avec la molécule. De par sa nature lipophile, la CLD peut s'adsorber facilement sur le périderme des tubercules et le traverser, conduisant ainsi à une contamination de la chair des légumes. Il s'agit de quantifier ce phénomène d'adsorption-diffusion chez le radis et d'établir la capacité d'autres légumes-racines cultivés aux Antilles à se contaminer.

2.4.1. Adsorption et diffusion de la CLD dans le tubercule de radis

Nous avons montré que la CLD diffusait dans le tubercule de radis au travers du périderme et que le taux d'accumulation variait selon le tissu (*Cf § II.2.2 et II.2.3*). Afin de déterminer l'effet puits que peuvent avoir les compartiments riches en lignine (Barak et al., 1983), et donc possédant une capacité d'adsorption des molécules lipophiles, sur la diffusion totale de la CLD dans le tubercule, nous avons comparé la diffusion de la CLD avec celle de

l'imidaclopride. L'imidaclopride est un insecticide de systémie exclusivement ascendante à cause de sa relativement faible lipophilie (log K_{ow} = 0,7), c'est-à-dire qu'il est transféré facilement dans toute la plante en empruntant uniquement le courant d'évapotranspiration dans les vaisseaux xylémiens, sur les parois desquels il ne s'adsorbe pas (Laurent et Rathahao, 2003; Alsayeda et al., 2008). Les résultats de l'expérience de diffusion de ces deux molécules au travers du périderme de radis sont présentés dans la **figure 33**. Les deux molécules sont retrouvées dans les quatre tissus analysés, périderme, tissu phloémien, vaisseaux xylémiens et parenchyme médullaire, ce qui montre que comme l'imidaclopride, la CLD diffuse par la voie apoplastique. Les concentrations le périderme et le phloème, le xylème et le cœur ne sont pas significativement différentes pour l'imidaclopride (test ANOVA, $p > 0,05$) alors qu'elles sont significativement différentes pour la CLD (test ANOVA, $p < 0,05$). Comme nous le supposions, l'imidaclopride ne s'accumule pas dans les différents tissus du tubercule quelle que soit leur composition (présence de lignine ou non). Pour la CLD, un gradient s'est instauré depuis le périderme vers le cœur, avec un piégeage au niveau de la couronne de vaisseaux xylémiens (**Fig. 33**) qui semble limiter sa diffusion vers le cœur contrairement à ce qui est observé dans le cas de l'imidaclopride.

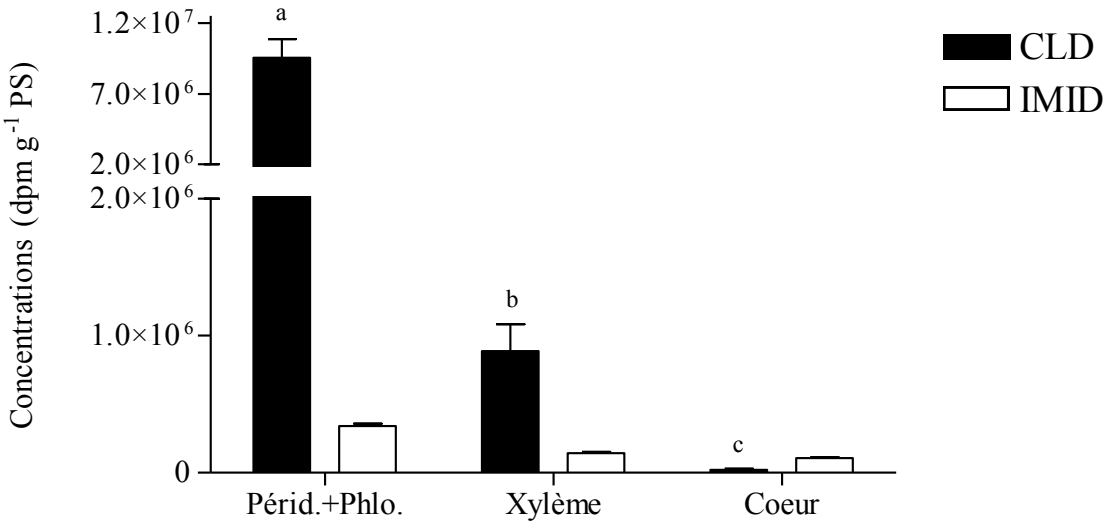


Fig. 33. Concentrations en [^{14}C]-CLD et [^{14}C]-imidaclopride dans différents tissus de tubercules de radis immergés pendant 48 h dans des béchers contenant une solution nutritive contaminée avec la [^{14}C]-CLD (v = 40 mL; 10 000 Bq, 85,5 ng mL^{-1}) ou du [^{14}C]-imidaclopride (13 502 Bq, 7,89 ng mL^{-1}). Périd.+Phlo. = périderme + phloème : concentration moyenne dans le périderme et le phloème Les barres verticales représentent l'erreur standard (n = 3). Test ANOVA : a, b, c : p < 0,05.

Nous avons voulu déterminer si le gradient de concentration observé était dû à la rétention de la CLD sur le périderme et la lignine des vaisseaux xylémiens, ou s'il pouvait être dû à la vitesse de diffusion de la molécule. Pour cela, une cinétique de diffusion de la [^{14}C]-CLD a été réalisée pendant 6 h dans les différents tissus du tubercule, le périderme, le phloème, le xylème et le cœur constitué de parenchyme médullaire. Les concentrations ont été calculées par rapport à la surface des tubercules, mesurée à l'aide d'un pied à coulisse, afin de déterminer le flux de diffusion de la CLD. Le périderme étant en contact direct avec la CLD de la solution nutritive, il est contaminé par adsorption. Puis la CLD diffuse au travers de celui-ci et contamine les tissus internes. La cinétique de contamination du périderme par la [^{14}C]-CLD est présentée dans la **figure 34A**. La concentration surfacique de CLD augmente dans le périderme au cours du temps selon une hyperbole. La diffusion au travers du périderme dépend de l'adsorption de la molécule sur le périderme depuis la solution nutritive et de sa désorption vers le phloème. L'adsorption et la diffusion sont deux mécanismes du même ordre de grandeur.

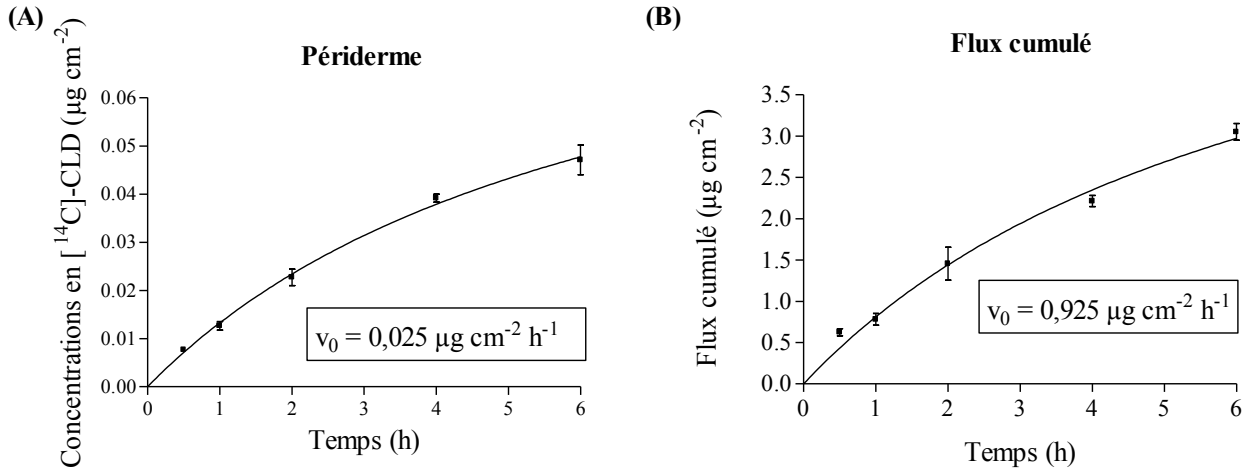


Fig. 34. Diffusion de la CLD dans les différents tissus du radis après immersion des tubercules dans une solution de [^{14}C]-CLD (7 603 Bq, 65,2 ng mL^{-1}) pendant 6 h. Cinétique de diffusion de la CLD dans le périderme (A). Flux cumulé de CLD à travers le périderme (B).

Le flux cumulé de diffusion de la [^{14}C]-CLD au travers du périderme au cours du temps a été calculé en par la somme des quantités de CLD retrouvées dans tous les tissus du tubercule excepté le périderme (**Fig. 34B**). Il semble que la CLD diffuse facilement dans tout le tubercule. La vitesse de diffusion de la CLD au travers du périderme a été calculée par le coefficient directeur de la tangente à l'origine de la courbe et est égale à 0,025 µg cm^{-2} h^{-1}.

Cette vitesse est bien inférieure à la vitesse initiale du flux cumulé de contamination, égale à 0,925 µg cm^{-2} h^{-1}. Cela semble signifier que c'est la forte adsorption péridermique de la CLD qui génère le gradient de contamination du tubercule que nous avons mis en évidence précédemment.

D'autre part, la diffusion de la CLD au travers du périderme dépend de l'adsorption de la molécule sur le périderme et de sa désorption vers le tissu phloémien, et donc du coefficient de partage entre le périderme et le phloème (Kd_p) que nous avons calculé graphiquement (**Fig. 35**). En effet, nous avons tracé une linéarisation de l'isotherme de Freundlich pour des radis immergés dans une solution de [^{14}C]-CLD à différentes concentrations pendant 48 h et dont nous avons ensuite prélevé des explants de périderme. L'affinité du périderme pour la CLD ou Kd_p est déterminé dans la partie linéaire de l'isotherme d'adsorption obtenue à l'équilibre et est ici représentée par le coefficient de Freundlich ou K_f. K_f est mesuré graphiquement par l'ordonnée à l'origine de la droite.

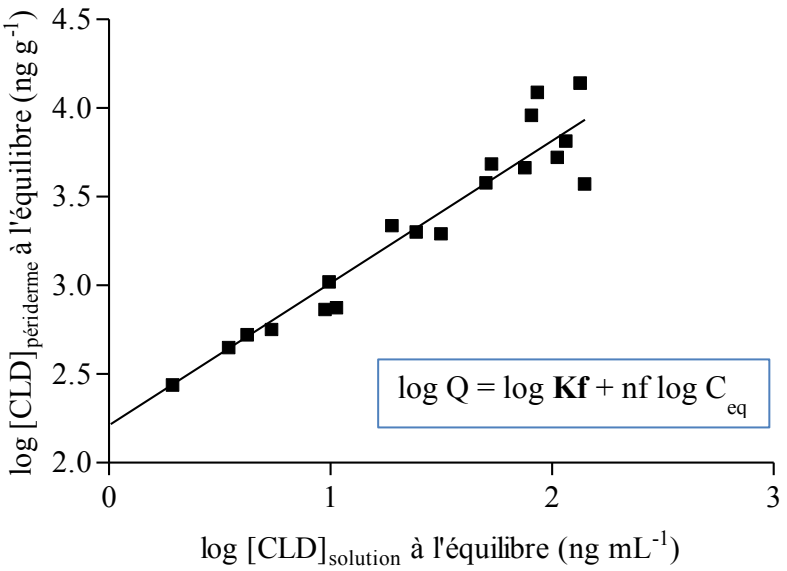


Fig. 35. Linéarisation de l'isotherme de Freundlich de l'adsorption de la CLD sur le périderme de radis immergés dans une solution de [^{14}C]-CLD à différentes concentrations de 0,01 à 10 ng mL^{-1} pendant 24 h.

Ainsi on calcule Kd_p égal à 162,18 cm^3 g^{-1} (**Tableau 5**). Le flux de diffusion J vers les tissus internes est estimé par la quantité de CLD mesurée dans le cœur du tubercule (**Fig. 34B**). J dépend des caractéristiques du périderme, ses teneurs en eau et lipides (θ), son épaisseur (x), de son affinité pour la CLD (Kd_p), de son coefficient de perméation pour la CLD (P)

(**Tableau 5**). Etant donnée la faible épaisseur du périderme (inférieure à 125 µm), ce paramètre est négligeable dans le phénomène de diffusion (Weiss, 1996; Dettenmaier et al., 2009). Ainsi, le flux de diffusion de la CLD au travers du périderme du tubercule vers le tissu phloémien sous-jacent est calculé par la somme des quantités de CLD retrouvées dans tous les tissus du tubercule excepté le périderme (**Fig. 34B**). La quantité de CLD accumulée dans le cœur du radis dépend aussi de la proportion d'eau et de lipides. Or, la CLD étant très lipophile (log K_{ow} = 4,5), les lipides influencent largement l'accumulation de CLD, bien que leur proportion dans le tubercule soit très faible (**Tableau 5**). En effet, ce log K_{ow} signifie qu'une part de lipide adsorbe la même quantité de produit que $10^{4,5}$ parts d'eau.

Tableau 5. Caractéristiques des différents paramètres du périderme et du tissu phloémien de tubercules de radis. Kd_p, l'affinité du périderme pour la CLD ; x ; l'épaisseur du périderme ; θ, la fraction massique des compartiments eau ($_w$) et lipides ($_l$) du phloème ; J, le flux de diffusion de la CLD dans le phloème ; D, le coefficient de diffusion et P, le coefficient de perméation du périderme pour la CLD.

Kd_p $cm^3\ g^{-1}$	x µm	θ_w %	θ_l %	J * $g\ cm^{-2}\ s^{-1}$	D* $cm^2\ s^{-1}$	P* $cm\ s^{-1}$
162,18	40-100	94	0,25	$5,71\ 10^{-14}$	$7,62\ 10^{-10}$	$1,27\ 10^{-7}$

* Valeurs calculées pour x = 60 µm

Il sera intéressant de calculer ces paramètres pour d'autres légumes, afin de les comparer entre eux et de déterminer lesquels présentent ou non un risque d'exposition alimentaire à la CLD.

2.4.2. Capacité d'adsorption de la CLD chez différents légumes-racines

Le contact direct de la peau des tubercules, le périderme, avec le sol est un des facteurs principaux de la contamination. Mais la qualité de ce périderme est très variable selon les tubercules, la plante ou même l'âge du tubercule. Afin d'étudier l'adsorption péridermique de la CLD chez les différents légumes-racines, nous avons mis en place un test *in vitro* sur des explants de périderme. La validation de la méthode a été réalisée chez le radis sur des explants isolés soit enzymatiquement du parenchyme sous-jacent par 24 h d'incubation dans une solution de pectinase et cellulase puis incubés dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations variables, soit prélevés manuellement après incubation de tubercules entiers de

radis dans la solution de [^{14}C]-CLD. Pour ces derniers, l'isolement mécanique du périderme n'est pas réalisable. En effet, une couche de cellules du tissu phloémien est systématiquement prélevée en même temps que le périderme et peut contribuer à la valeur de l'adsorption. De plus, sur radis entier, l'isolement enzymatique n'est pas possible après incubation. En conséquence, la comparaison périderme isolé / non isolé ne peut être faite qu'en rapport des surfaces (**Fig. 36**). La surface des explants de 1,56 cm² correspond à la surface du poinçon utilisé.

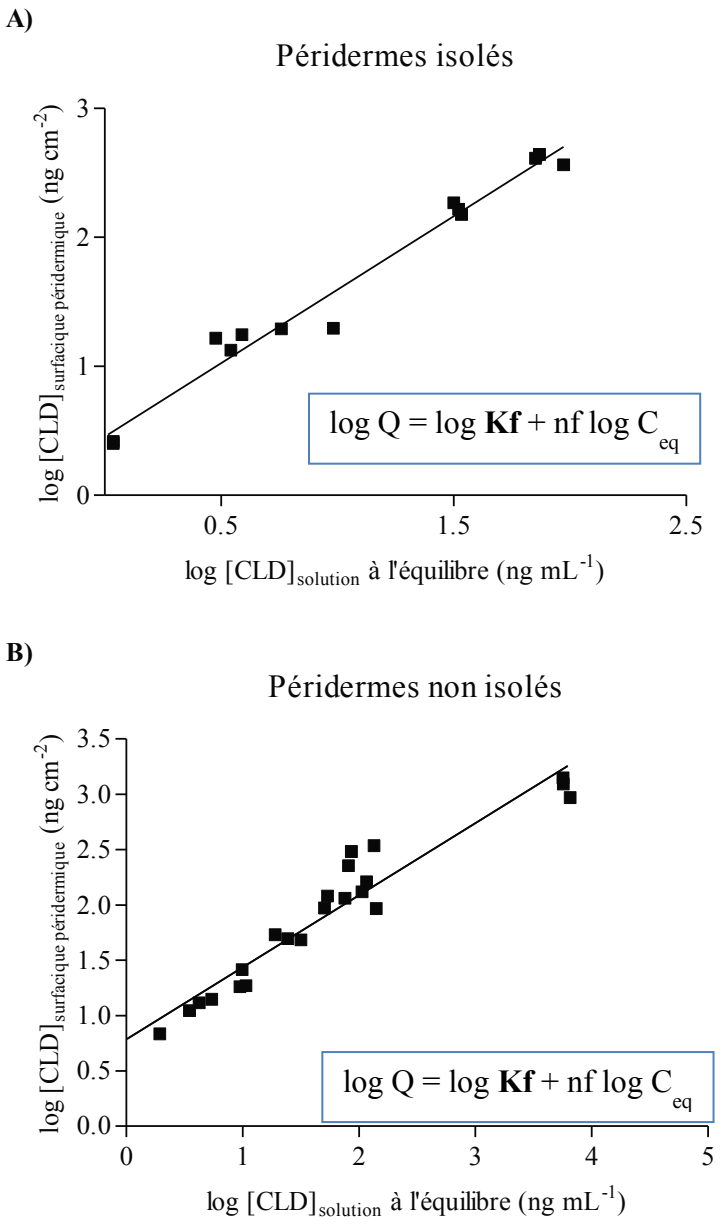


Fig. 36. Isothermes linéarisées de Freundlich de l'adsorption surfacique de la CLD sur des explants de périderme de radis incubés pendant 24 h dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations de 0,01 à 10 µg L^{1}. A) Péridermes isolés enzymatiquement avant incubation, B) péridermes non isolés avant incubation.

La comparaison de ces deux méthodes a montré que l'adsorption de la CLD sur les explants dépendait fortement du tissu directement adjacent au périderme, le phloème. En effet, lorsque l'on compare la contamination surfacique des explants isolés enzymatiquement avant incubation et celle des explants prélevés après l'incubation des tubercules entiers (**Fig. 36**), la capacité d'adsorption surfacique (Kd) a été mesurée graphiquement par la linéarisation d'isothermes de Freundlich. Kd correspond ici au coefficient de Freundlich K_f, et est égal à l'ordonnée à l'origine de la droite. Cette capacité d'adsorption surfacique est environ deux fois plus élevée pour les explants isolés après incubation que pour ceux des radis entier, respectivement 2,94 et 5,62 mL cm^{-2} (**Tableau 6**). Il semble donc que les tissus sous-jacents au périderme contribuent chez le radis en partie à l'adsorption sur ce périderme, par diffusion de la CLD au travers des couches péridermiques et corticales.

La méthode de périderme isolé a permis de comparer la capacité d'adsorption des péridermes de différents légumes-racines, igname, patate douce, pomme de terre (**Fig. 37A**). Ces résultats montrent que l'igname semble posséder l'adsorption par unité de surface la plus forte. Au contraire, le périderme de pomme de terre jeune (Pdt jeune) semble moins adsorbant avec des Kd respectivement de 16,83 et 9,64 mL cm^{-2} (**Tableau 6**). Chez le radis, le Kd est environ 3 fois plus faible que celui de la pomme de terre jeune. Cela peut s'expliquer par des taux de subérification du périderme plus élevés pour l'igname que pour la pomme de terre jeune ou le radis, les composés subéreux, très lipophiles, étant probablement les composés adsorbants du périderme. Cependant, un test statistique de comparaison des moyennes ne permet pas d'établir de différences significatives entre chacun de ces légumes.

Tableau 6. Paramètres de la régression linéaire des isothermes d'adsorption de Freundlich de la [^{14}C]-CLD sur des explants de périderme de différents légumes-racines : pomme de terre jeune (Pdt jeune), pomme de terre vieille (Pdt vieille), igname et patate douce et radis, incubés pendant 24 h dans 2 mL de solution de [^{14}C]-CLD. (Kd = constante de dissociation ± écart-type, r^2 = coefficient de corrélation).

	Comparaison surfacique		Comparaison massique	
	Kd (mL cm^{-2})	**r^2**	**Kd (mL cm^{-2})**	**r^2**
Igname	16,83 ± 1,03	0,980	1138 ± 1	0,962
Pdt jeune	9,64 ± 1,34	0,973	5284 ± 1	0,966
Pdt vieille	13,55 ± 1,28	0,985	3837 ± 1	0,989
Patate douce	18,45 ± 1,26	0,983	3715 ± 1	0,957
Radis	2,94 ± 1,14	0,978	nd	---

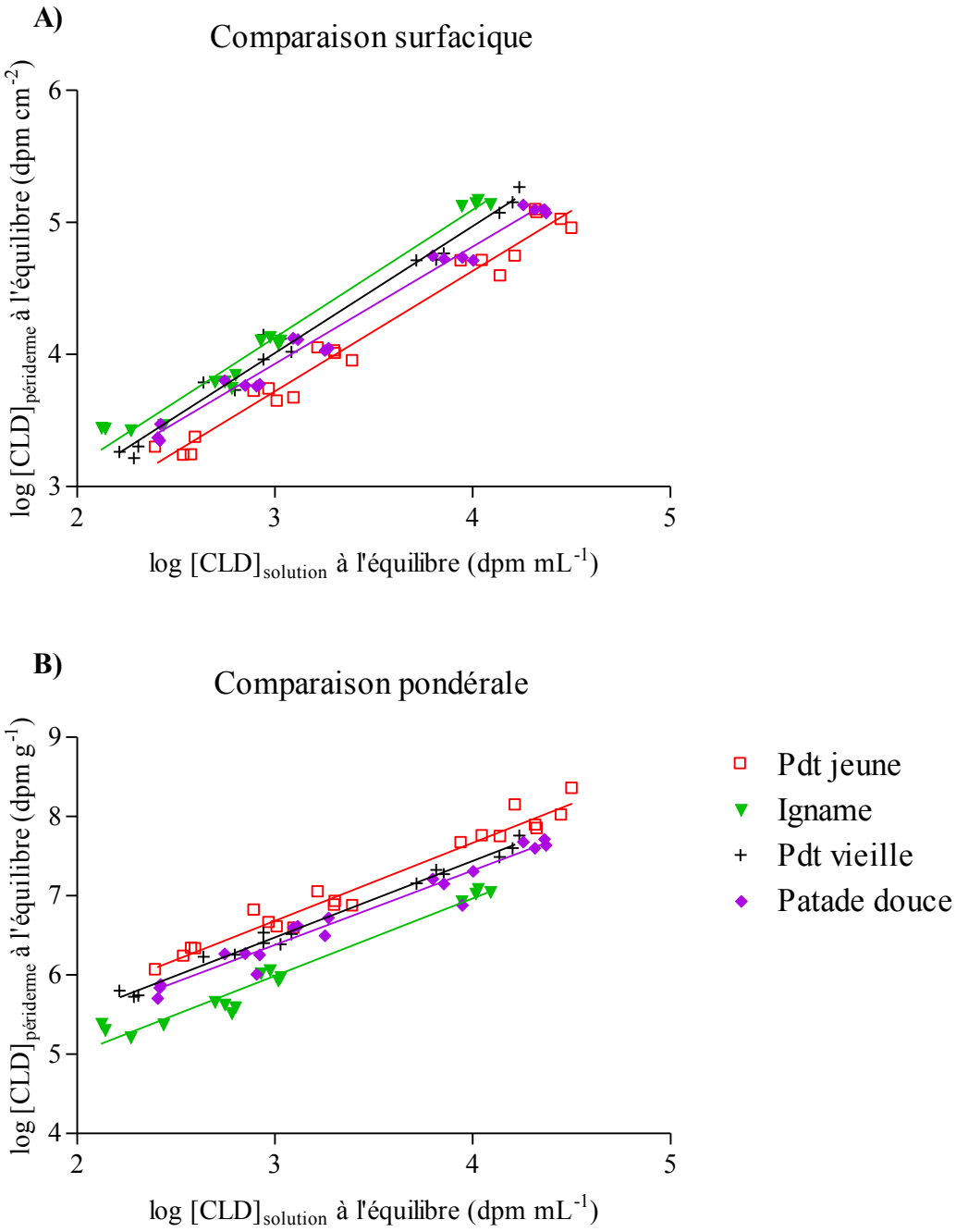


Fig. 37. Isothermes linéarisées de Freundlich d'adsorption de la [^{14}C]-CLD sur des explants de péridermes de différents légumes-racines, isolés enzymatiquement dans une solution à 2% de pectinase et 2% de cellulase pendant 24 h, puis incubés dans une solution de [^{14}C]-CLD à des concentrations de 0,01 à 10 µg L^{-1} pendant 24 h. Les concentrations dans les explants et dans la solution sont à l'équilibre à la fin de l'expérimentation. Pdt : pomme de terre. n = 3 pour Pdt vieilles, sinon n = 4. Chaque point représente un échantillon.

Par contre, lorsque la comparaison se fait en fonction de la masse des explants (**Fig. 37B**), les résultats sont inversés, mais de même que précédemment, il n'est pas montré de différences significatives entre chacune de ces valeurs. Le Kd du périderme d'igname semble le plus faible et le Kd du périderme de pomme de terre jeune semble le plus élevé. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces contradictions apparentes : entre autres l'épaisseur du périderme, fin chez la jeune pomme de terre et au contraire très épais chez l'igname, l'épaisseur plus élevée de ce dernier pouvant réduire la diffusion de la molécule et donc la concentration finale dans le tissu ; le type de surface et, en conséquence, la surface totale réelle du périderme, périderme lisse d'une pomme de terre jeune ou du radis, et rugueux dans le cas de l'igname. La capacité d'adsorption de la CLD sur un périderme est donc dépendante entre autres de la qualité de la surface d'adsorption. Or la capacité d'adsorption conditionne en partie le flux de diffusion de la CLD vers la chair interne des légumes-racines, et donc le risque de contamination. Un autre facteur est la structure du périderme, continue (igname) ou en « écailles » (radis). La structure en écailles chez le radis pourrait expliquer l'importante diffusion trans-péridermique de la CLD.

2.5. Comparaison tissulaire de différents légumes-racines

2.5.1. Localisation de la vascularisation xylémienne dans les tubercules

Nous avons vu précédemment (*Cf § I.6*) que la structure tissulaire des tubercules se mettait en place lors du processus de tubérisation. En particulier, l'organisation des faisceaux libéro-ligneux et l'épaisseur du périderme est variable selon la plante (**Fig. 38**). Nous avons utilisé le phloroglucinol, qui colore les tissus lignifiés en magenta, ce qui permet de localiser les faisceaux xylémiens ainsi que les dépôts de subérine dans le périderme. On peut ainsi visualiser l'épaisseur du périderme. L'épaisseur du périderme est une caractéristique importante à prendre en compte dans l'évaluation du risque de contamination par diffusion, puisqu'il s'agit du tissu protecteur externe du tubercule en contact direct avec la source de contamination. De plus, comme nous le montrerons plus loin, le périderme est une surface d'adsorption de la CLD (*Cf § II.2.4*). Toutefois on peut supposer que plus le périderme d'un tubercule est épais et subérifié, moins il laissera diffuser la CLD adsorbée vers la chair du tubercule.

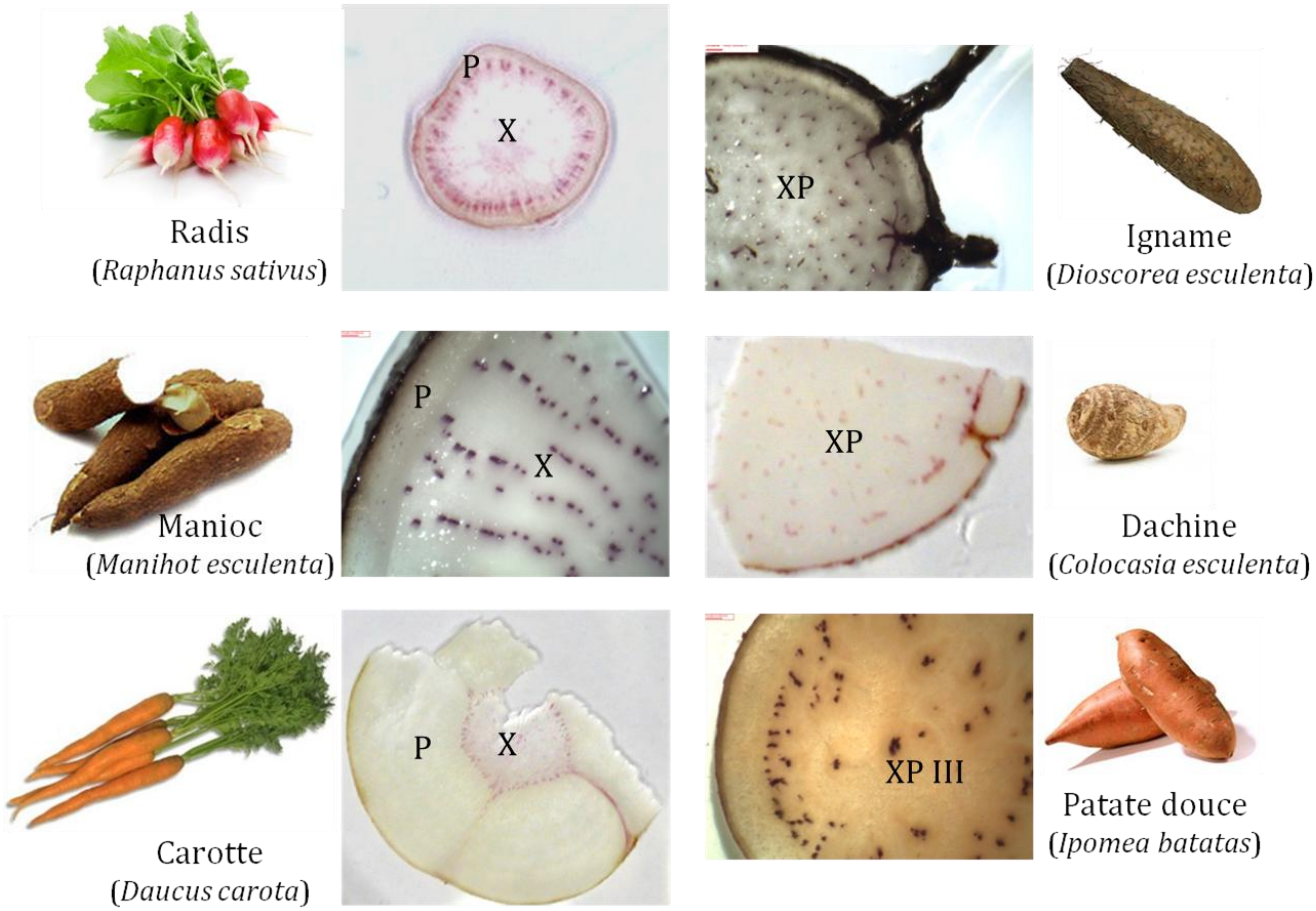


Fig. 38. Photographies et coupes transversales de tubercules de légume-racines. Les coupes sont colorées au phloroglucinol, les tissus lignifiés ou subérifiés apparaissent en magenta. P : parenchyme phloémien, X : parenchyme xylémien, XP : parenchyme xylémien et phloémien, III : développement tertiaire.

On distingue deux types d'organisation des faisceaux vasculaires. Chez le radis et le manioc, les vaisseaux de xylème sont répartis en rayons, comme le montre la coloration rose sur les coupes transversales de tubercules (**Fig. 38**). On observe que le manioc a un périderme très épais. Chez la carotte, le volume occupé par le xylème au centre de la stèle est relativement faible comparativement au volume de phloème en périphérie. Toutefois nous avons vu précédemment (*Cf § I.6.2*) que des racines adventices traversaient ce phloème jusqu'au cambium.

Dans le cas de l'igname et de la dachine qui sont toutes deux des plantes monocotylédones, les faisceaux vasculaires sont organisés en ilôts au sein du parenchyme. L'igname possède un périderme très épais et lignifié, et les vaisseaux xylémiens sont répartis dans tout le tubercule. Les racines adventices prennent leur origine juste sous le périderme. Les vaisseaux de xylème peuvent donc être alimentés par ces racines ou par le chevelu racinaire au niveau du collet

entre la tige et le tubercule. L'alimentation en eau du tubercule pourrait aussi être garantie par les deux systèmes racinaires à la fois. Pour le cas de la patate douce, qui est une dicotylédone, c'est l'apparition anarchique de nombreux cambiums tertiaires au cours de la tubérisation qui conduit à la formation de nombreux îlots de faisceaux vasculaires dans tout le tubercule. On visualise cependant, par absence de coloration, une bande relativement épaisse dépourvue de tissus lignifiés, qui correspond à un parenchyme phloémien.

Concernant le tubercule de radis, que nous étudions plus en détail dans ce manuscrit, les vaisseaux de xylème sont organisés en rayons interconnectés entre eux et séparés par du tissu parenchymateux. Le phloème se restreint à une bande très fine juste sous le périderme. Ce dernier est très fin (**Fig. 39**) et est en fait discontinu, constitué de plaques plus ou moins recouvrantes. On peut supposer que cette structure particulière du périderme ne constitue pas une barrière très efficace au passage de la CLD par diffusion vers le phloème.

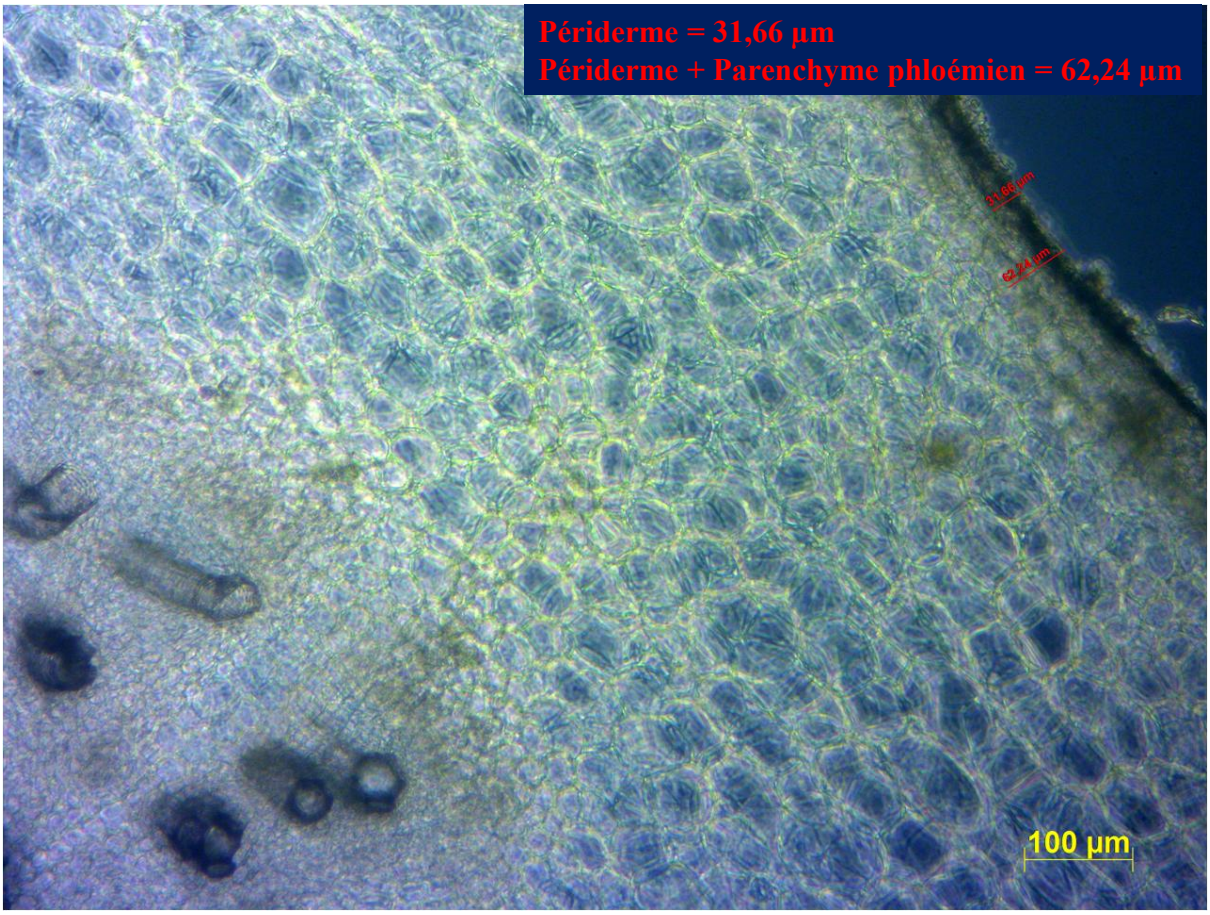


Fig. 39. Coupe transversale de radis réalisée au microtome (180 µm), colorée au phloroglucinol et observée au microscope inversé (Primo Vert, Carl Zeiss Inc., USA), grossissement 10X. Les tissus lignifiés apparaissent en marron-gris.

La **figure 39** montre que le périderme et le phloème sont très fins. Ici, le périderme mesure 32 µm et le périderme + phloème mesure 62 µm. Cependant d'autres observations ont montré que l'épaisseur du périderme pouvait varier en fonction de la coupe et était en moyenne égale à 60 µm. Nous avons retenu cette épaisseur moyenne de 60 µm, comprise entre 30 et 100 µm, pour les calculs de diffusion (*Cf § II.2.4.1*).

2.5.2. Taux de lipides sous-péridermiques des tubercules

Les composés lipidiques d'un tissu végétal jouent un rôle majoritaire dans le phénomène d'adsorption des molécules lipophiles telles que la CLD (log K_{ow} 4,5) (Barbour et al., 2005; Li et al., 2005). Un taux élevé de lipides dans un tissu végétal pourrait favoriser la séquestration de la CLD dans celui-ci. Des dosages de lipides ont été réalisés dans le parenchyme phloémien de différents tubercules (**Tableau 7**). En effet, le parenchyme phloémien est le tissu qui jouxte directement le périderme à l'intérieur du tubercule. Donc si la CLD s'adsorbe sur le périderme, sa pénétration dans le tubercule dépendra de l'affinité du phloème pour celle-ci. Les résultats présentés dans le **tableau 7** ont été ajustés par rapport à la valeur témoin de 83% de lipides dosés dans l'huile de maïs.

Tableau 7. Teneurs en lipides dans le tissu phloémien de différents tubercules par dosage par la méthode Folch. Les valeurs obtenues sont ajustée par rapport à une valeur témoin.

Phloème de tubercules	Taux de lipides, en % de masse fraîche
Pomme de terre mature	$0,98 \pm 0,09^{A}$
Radis	$1,18 \pm 0,28^{A,B}$
Carotte	$1,52 \pm 0,24^{B,C}$
Patate douce	$1,63 \pm 0,15^{C}$
Dachine	$1,73 \pm 0,23^{C}$
Igname	$1,83 \pm 0,24^{C}$

Les lettres $^{A,\ldots,E}$ correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de comparaison multiple de Student-Newman-Keuls, p-value < 0,05)

Le pourcentage de lipides dosés dans les différents échantillons végétaux est très faible. Le tubercule dont le taux de lipides est le plus élevé dans le phloème est l'igname, le moins élevé a été calculé pour la pomme de terre. Un test de comparaisons multiple de Student-Newman-Keuls montre que le taux de lipides mesuré dans le parenchyme phloémien de la pomme de terre est très significativement différent de celui de l'igname et de la dachine (p-value < 0,01), significativement différent de celui de la patate douce et de la carotte (p-value < 0,05), mais non significativement différent de celui du radis. Le taux de lipides dans le parenchyme phloémien du radis est significativement différent de celui de l'igname. La teneur en lipides du tissu phloémien de radis a une valeur intermédiaire, autour de 1% de poids frais. On peut supposer que le flux de diffusion de la CLD au travers du périderme de ces tubercules sera le plus important chez l'igname et le plus faible chez la pomme de terre mature.

3. Conclusion : Evaluation du risque d'exposition alimentaire à la CLD chez les légumes-racines

Les légumes-racines sont particulièrement susceptibles d'être contaminés par la CLD puisqu'ils poussent directement au contact du sol. La contamination par la CLD peut être à la fois d'origine physiologique, par absorption racinaire, et d'origine histologique, de par la nature et les caractéristiques du périderme et la capacité de diffusion de la CLD au travers de cette « barrière ». D'autre part, l'organisation des faisceaux vasculaires mis en place lors de la tubérisation tient une place majeure dans l'évaluation du risque de contamination des tubercules par la CLD. Les vaisseaux de xylèmes sont la voie de transfert de la solution nutritive du sol vers les organes aériens de la photosynthèse et les organes de stockage tels que les tubercules. Or les parois épaissies des cellules du xylème sont riches en lignine, composé ayant une forte affinité pour les molécules lipophiles. La subérine, un autre composé lipophile, est un des composants majeurs des péridermes épais. Ainsi, l'épaisseur du périderme, sa tortuosité et son degré de subérification vont influencer l'adsorption-diffusion de la CLD au travers de celui-ci. D'autre part, nous montrons que la contamination de tubercules poussant dans des sols contaminés par la CLD dépend de la proportion volumique de tissus ayant une forte affinité pour la CLD, comme l'ont aussi montré Cabidoche et Lesueur-Jannoyer (2012). Les légumes-racines ayant un volume relativement faible, un périderme peu épais et une forte proportion de tissus lipophiles, sont donc plus susceptibles d'être contaminés par la CLD.

L'incorporation de xénobiotiques et de leurs métabolites dans la lignine est connue comme une voie générale pour les métabolites terminaux (Sandermann et al., 1983). L'incorporation de produits chimiques par la lignine se fait par des liaisons covalentes ou des liaisons non-covalentes. Il a été montré que la lignine des parois cellulaires était un site majeur de liaison pour les chloroanilines, les quinones benzo[α]pyrene, et le 2,4-D (Schafer et Sandermann, 1988; Sandermann, 2004). Barak et al. (1983) ont aussi montré que la liaison de pesticides était liée à la lignification de la voie apoplastique et à la lipophilie de la molécule. Ainsi la contamination de la pulpe des légumes-racines est certainement corrélée à la nature du parenchyme associé aux tissus vasculaires.

Certaines plantes utilisées comme légumes se développent par une prolifération du parenchyme lié au phloème, et les cellules de ce parenchyme se remplissent d'assimilats phloémiens tels que l'amidon. C'est le cas de la pomme de terre. Chez cette plante, la part de tissus xylémiens est faible comparée à la part de tissus non lignifiés. On peut donc penser que la contamination par la CLD de la pomme de terre par la voie racinaire sera relativement faible, en concentration tout du moins. La chair du tubercule de manioc apparaît très lignifiée, avec d'épais rayons xylémiens. Tout comme chez le radis, la majorité du parenchyme est associé au xylème et donc irrigué par lui. Ces deux légumes présentent un potentiel de contamination racinaire certainement plus élevé qu'un légume comme la pomme de terre. Un autre paramètre doit être pris en considération, la disposition du tubercule dans le flux d'évapotranspiration. La patate douce se développe par la multiplication des faisceaux vasculaires due à l'apparition de nombreux cambiums. Cela est certainement le cas aussi pour l'igname et la dachine, qui ont la même organisation tissulaire à maturité. Ainsi, le parenchyme qui constitue la chair du tubercule est à la fois irrigué par la sève xylémienne et phloémienne. D'autre part, la concentration en amidon relativement élevée de ces légumes renforce l'idée d'une part non négligeable de l'alimentation phloémienne du tubercule en assimilats photosynthétiques. Dans le cas de l'igname, il serait intéressant de savoir quelle est la part de l'alimentation en sève brute fournie par les racines adventices face à celle fournie par le chevelu racinaire. En effet, lorsque la CLD est diluée dans la solution du sol, il existe donc deux flux potentiels d'entrée de la CLD dans le tubercule via la sève xylémienne. Or la sève brute absorbée par les racines adventices circule nécessairement dans le tubercule, tandis que la sève absorbée par le chevelu racinaire peut court-circuiter le tubercule pour alimenter fortement la partie aérienne, qui comme toute les plantes tropicales est soumise à de forts taux d'évapotranspiration. Ainsi la sève brute n'alimenterait que faiblement le tubercule. Si tel est

le cas, sachant que les racines adventices prennent naissance juste sous la surface du périderme, la chair de l'igname pourrait n'être que peu contaminée, d'autant plus que l'épaisseur du périderme pourrait constituer une barrière relativement efficace à la diffusion de la CLD. Cependant, nous avons montré que la capacité d'adsorption de la CLD sur le périderme d'igname pouvait augmenter son potentiel de diffusion vers la chair et ainsi constituer un risque de contamination à prendre en compte. Néanmoins un épluchage grossier des tubercules d'igname pourrait restreindre le risque d'exposition alimentaire de façon non négligeable. Dans le cas de la dachine, l'adsorption péridermique de la CLD est en fait peu probable, car au cours de la croissance du tubercule, celui-ci est protégé par les anciennes feuilles qui ne tombent pas et qui forment comme une gangue protectrice. Le tubercule de dachine ne se développe donc pas directement au contact du sol. Il se peut que ce tubercule ne soit en fait que peu contaminé par la voie d'adsorption-diffusion, et qu'il ne soit que peu contaminé de manière générale.

Pour les autres tubercules décrits dans cette partie, les racines sont situées à la base du tubercule et la sève brute absorbée circule donc nécessairement dans le tubercule avant d'atteindre les organes aériens. Ces légumes sont donc contaminés par une voie d'absorption racinaire, en plus d'une voie de diffusion trans-péridermique.

Partie III

LE TRANSFERT DE LA CLD DANS LES GRAMINEES

III. LE TRANSFERT DE LA CLD DANS LES GRAMINEES

Les graminées ou poacées appartiennent à la classe des liliopsidées (monocotylédones). Comme toutes les plantes herbacées, elles constituent un des premiers maillons de la chaîne alimentaire. Or il semble que ces plantes puissent être contaminées par la CLD dans leur partie aérienne lorsqu'elles poussent sur des sols contaminés. C'est le cas de la canne à sucre aux Antilles, dont la capacité de transfert de la CLD dans la partie aérienne a été mise en évidence par Cabidoche et al. (2006). En effet, la culture de la canne à sucre aux Antilles est souvent réalisée sur des sols d'anciennes bananeraies ou parfois en rotation avec celles-ci afin d'éviter la prolifération des nématodes et pour permettre la régénération des nutriments du sol, sur des bassins versants potentiellement contaminés par la CLD. Des observations sur le terrain semblaient montrer que la canne à sucre, qui est une culture pérenne, accumulait d'une année sur l'autre de plus fortes quantités de CLD dans ses tiges (Lesueur-Janoyer et Michel, 2009). La mise en place de la culture de la canne à sucre se fait par la plantation d'un tronçon de canne que l'on implante dans le sol la première année, et qui produit la première année quelques tiges qui sont récoltées avant la floraison. Les années suivantes de nouvelles tiges se développent et sont récoltées de même. Le plateau de tallage reste en place et les nouvelles tiges aériennes produites seraient apparemment plus contaminées. Une hypothèse de l'accroissement de la contamination serait que le plateau de tallage joue un rôle de réservoir, qui accumule la CLD au cours du temps et ainsi transfère une quantité de CLD de plus en plus importante aux tiges néoformées. Pour vérifier cette hypothèse, une culture de miscanthus a été mise en place au laboratoire. Le choix de cette plante, au lieu de la canne à sucre, tient au fait que la canne à sucre est une plante tropicale à très fort développement difficile à cultiver en métropole ou en phytotron tandis que la variété miscanthus utilisée se cultive plus facilement en milieu tempéré et présente de nombreuses caractéristiques communes avec la canne à sucre. Le miscanthus est une espèce originaire d'Asie et d'Afrique, et comme la canne à sucre, c'est une espèce pérenne. Il reste implanté dans le sol, ce qui permet la repousse l'année suivante. Sa culture s'effectue sur une période de 15 à 25 ans, et la récolte est annuelle dès la deuxième année. De plus, le miscanthus et la canne à sucre sont toutes deux des plantes avec un métabolisme en C4. Sa multiplication végétative s'effectue à partir

du rhizome, qui est une tige souterraine et un organe de réserve. Le rhizome produit chaque année de nouvelles tiges aériennes et des racines.

Le transfert de la CLD dans la partie aérienne des plantes laisse penser que la molécule emprunte la voie d'évapotranspiration du xylème. Cependant la translocation sol-plante via le courant d'évapotranspiration est généralement faible pour des composés hydrophobes (Briggs et al., 1982; Burken et Schnoor, 1998), comme la CLD. Ces auteurs ont montré que le facteur de bioconcentration (BCF), qui correspond au rapport de la concentration du composé dans un organe de la plante sur sa concentration dans le sol (que nous avons appelé CF précédemment, (*Cf § I.5.3.2*), était négativement corrélé au log K_{ow}. Il est donc peu probable que des composés lipophiles soient transloqués du sol à la partie aérienne de la plante via le courant d'évapotranspiration (Briggs et al., 1982; Wild et al., 2005; Trapp, 2007). Cette capacité de transfert de la CLD mise en évidence chez la canne à sucre n'est probablement pas restreinte qu'à cette seule plante mais à toutes les plantes de la classe des graminées, relativement proches au niveau de leur architecture fonctionnelle.

L'étude de la contamination des graminées par la CLD constitue un enjeu important. Or Coat et al. (2011) ont montré que la CLD se bioamplifiait le long de la chaîne alimentaire dans le cas des écosystèmes aquatiques. Si ce phénomène de bioamplification existe au niveau terrestre, la biocœnose terrestre présente un risque important de contamination. D'autre part, de nombreuses plantes cultivées sont des graminées, fourragères ou grain. L'agriculture est donc pleinement impactée par ce risque de contamination des graminées, et cela constitue aussi un risque sanitaire.

En outre, l'étude du transfert de la CLD dans les graminées peut aussi contribuer par la suite à la mise en place de solutions de dépollution des sols. Le problème de la pollution à long terme des sols antillais par la CLD ne peut être résolu par les techniques habituelles de dépollution des sols, comme par exemple l'excavation des sols, au vu de l'importance des surfaces polluées. La rémédiation et en particulier la phytoremédiation semblent alors les seules pistes envisageables.

La compréhension du transfert de la CLD dans les graminées constitue par conséquent un enjeu primordial dans la gestion du risque environnemental et sanitaire que représente la pollution des sols. Cela permettrait d'appréhender les mécanismes qui entrent en jeu dans le

transfert aérien de la CLD dans les plantes. Ainsi, ces connaissances pourraient permettre d'établir les critères physiologiques et/ou histologiques des espèces de plantes susceptibles d'être contaminées afin d'éviter les cultures à destination alimentaire sur les sols contaminés ou afin de les utiliser en phytoremédiation.

L'objectif de cette partie est donc l'étude de la contamination de plusieurs graminées couramment cultivées, se différenciant par leur cycle de culture (annuelle/pérenne) et leur métabolisme (C3/C4). Les plantes choisies, outre le miscanthus qui mime le cycle de vie de la canne à sucre, étaient le sorgho, le blé et le maïs qui sont des plantes annuelles et cultivables en laboratoire.

1. Matériel & Méthodes

De même que précédemment (*Cf § II.1*) nous avons utilisé de la CLD marquée au carbone 14 afin de suivre la molécule dans les plantes contaminées. Le dosage de la radioactivité par CSL après combustion oxydative des échantillons a permis de quantifier la CLD dans les différents tissus analysés.

1.1. Culture de Miscanthus

Afin de comprendre le transfert de la CLD chez la canne à sucre, nous avons étudié une plante ayant des caractéristiques similaires, le miscanthus. Cette plante est pérenne et possède un appareil racinaire rhizomateux. De plus le miscanthus a comme la canne à sucre un métabolisme énergétique en C4.Outre ces caractéristiques, le miscanthus est plus adapté que la canne à sucre à une culture en laboratoire. Ainsi nous donc avons étudié l'effet du cycle de vie de la plante et le rôle du rhizome sur la contamination chez le miscanthus.

1.1.1. Sol

Une culture de *Miscanthus sinensis* (variété Fendengo) a été implantée le 8 février 2010, dans un bac de dimensions 0,9 m x 0,9 m x 0,15 m contenant 125 kg de terre contaminée par la [^{14}C]-CLD, et 3 kg de vermiculite (afin d'augmenter la rétention d'eau).

Un mélange de contamination a été préparé avec 1,6 kg de terre sèche à très faible teneur en matière organique (< 1%), granulométrie < 0,2 mm (INRA, Toulouse), 320 g de sable de quartz d'une granulométrie de 30 et 47 g de vermiculite. Ce mélange a été contaminé avec

une solution de [^{14}C]-CLD (1,03 g CLD, 16,9 MBq) diluée dans 150 mL d'acétone et d'eau (85:15, v/v). Ce mélange de contamination a été d'abord mélangé à quelques kg de terre, puis à un volume un peu plus important et ainsi de suite jusqu'à contaminer les 128 kg de terre totale. Ainsi, on a obtenu un sol contaminé de manière homogène (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}) vérifié par dosage de la radioactivité en CSL. A 24 h, La terre avait une capacité de rétention en eau d'environ 38% / kg de sol sec.

1.1.2. Design de l'expérimentation et condition de culture

49 plants de miscanthus ont été repiqués selon un plan constitué de 7 colonnes (de 1 à 7) et de 7 lignes (de A à G) (**Fig. 40**). Lors du repiquage, seul le rhizome a été semé, les premières feuilles et les racines des plants ont été coupées. Une double épaisseur de géotextile a été placée au fond du bac, sous la terre, de manière à empêcher un contact direct des racines du miscanthus avec l'eau de lessivage lors de l'arrosage. La culture de miscanthus a été placée dans un phytotron (24°C/18°C, 12h/12h, jour/nuit) et le sol a été arrosé régulièrement à sa capacité en eau.

1.1.3. Plan de récolte et préparation des échantillons

Le plan de récolte est un prélèvement aléatoire prédéfini selon un carré latin. Les bordures ne sont pas récoltées. Trois plants de miscanthus ont été récoltés tous les mois pendant 4 mois, puis au 6ème, 10ème et 22ème mois. La partie souterraine (racines + rhizome) a été séparée de la partie aérienne (tige + feuilles), et chaque organe analysé séparément. Les racines et le rhizome ont été rincés abondamment à l'eau du robinet afin d'éliminer les particules de terre. La CLD a été quantifiée par combustion oxydative puis comptage par CSL. Entre la première année (10 mois) et la seconde année (12 mois) de culture, les pieds non prélevés sont récoltés afin de mimer le cycle de culture de la canne à sucre qui est récoltée avant la floraison. La partie aérienne de tous ces plants a été coupée afin de permettre le développement de nouvelles tiges.

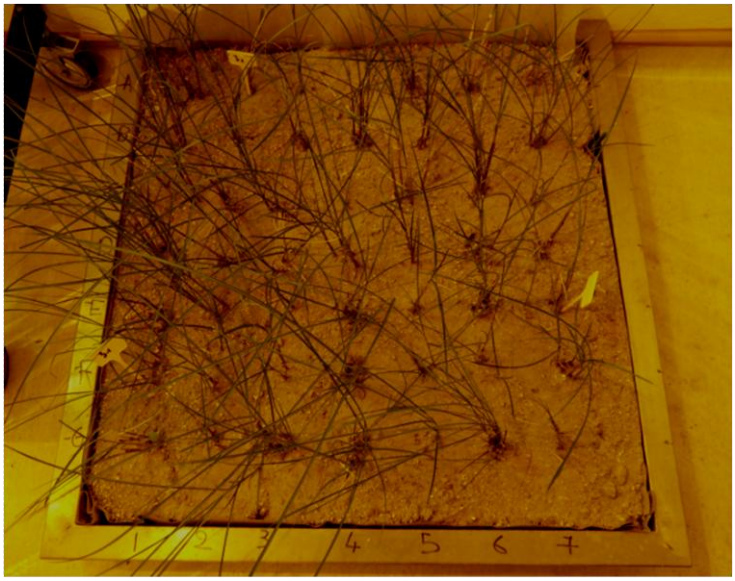


Fig. 40. Photographie de la culture de *Miscanthus sinensis* mise en place au laboratoire.

1.2. Comparaison de la contamination chez des graminées annuelles

Nous avons comparé la contamination par la CLD de graminées couramment cultivées et ayant le même cycle de vie afin d'étudier l'effet de l'anatomie et du métabolisme énergétique sur le transfert sol – plante de la CLD.

1.2.1. Cinétique d'adsorption racinaire

Pour comparer le taux d'adsorption de la CLD sur les racines de différentes plantes, des graines de maïs, blé et sorgho sucrier ont été mises à germer sur du papier filtre imbibé d'eau distillée, dans des boîtes hermétiques et à l'abri de la lumière. Les graines de blé ont été préalablement désinfectées par des lavages successifs : 10 s dans l'éthanol, 1 min dans du Triton X-100 à 0,1%, 20 s dans du Triton X-100 à 0,05% (eau de Javel 1/5e), puis rincées 2 h sous l'eau courante. Cinq jour après l'émergence, les extrémités des racines d'une longueur de 1,5 cm ont été prélevées à l'aide d'un scalpel, puis incubées dans 1 mL d'une solution de [^{14}C]-CLD (7 400 Bq mL^{-1}, 2,5 µg mL^{-1}), 1 fragment par mL, pendant 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 6 ; 8 ; 15 ; 24 ; 33 ; 48 et 72 h. Les racines ont ensuite été rincées rapidement à l'eau distillée, puis la radioactivité a été comptée en CSL après combustion oxydative.

1.2.2. Dosage de lipides racinaires

Afin d'établir s'il existe un lien entre la contamination racinaire par la CLD et le taux de lipides racinaire, des dosages de lipides dans des racines de graminées, maïs, blé et sorgho (fourrager) ont été réalisés. De la même manière que pour doser les lipides dans les parenchymes corticaux des tubercules, la méthode Folch a été utilisée (Folch et al., 1957). Les racines ont été obtenues par germination de graines pendant 5 jours à l'obscurité sur du papier filtre humidifié avec de l'eau distillée. Les lipides ont été extraits par une solution de dichlorométhane/méthanol (2:1, v/v) et filtration (*Cf § II.1.8.2*). La fraction lipidique a été quantifiée par gravimétrie. Les échantillons ont été analysés en triplicats. L'huile de maïs (Corn oil, C8267, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO 63103, USA) a été utilisée comme témoin, on considère la teneur en lipides du témoin à 100%. Le rendement d'extraction du contrôle a été mesuré à 83%. Les quantités de lipides mesurées dans les échantillons ont été divisées par le rendement d'extraction.

1.2.3. Cinétique de contamination par la CLD du maïs et du blé au stade plantule et cultivés sur un substrat sable

Afin de comparer les vitesses de contamination par la CLD chez des plantes ayant des métabolismes énergétiques différents, des graines de blé et de maïs ont été semées séparément dans des pots en verre (une graine / pot) contenant chacun 250 g de sable de quartz. Ce sable a été lavé à l'acide chlorhydrique 37% dilué au 20ème afin d'éliminer la matière organique résiduelle éventuelle et séché à l'étuve pendant environ 10 h. Les graines de blé ont été désinfectées comme précédemment (*Cf § III.1.2.1*) mais non les graines de maïs qui sont moins sujettes à la moisissure. Une fois les graines semées, les pots ont été contaminés par 60 mL d'une solution de [^{14}C]-CLD (1,3 mg L^{-1} ; 25,9 MBq mg^{-1} soit 1,85 MBq / pot, 80 µg / pot). Les pots ont été placés dans une enceinte climatisée (22°C/20°C, jour/nuit, photopériode 16 h) et arrosés tous les jours avec de la solution nutritive (Coic and Lesaint, 1973) afin de compléter la masse d'eau évapotranspirée. Des pots témoins ne contenant que du sable et arrosés de la même manière ont servi à mesurer la seule évaporation. Cela a permis de calculer la masse d'eau transpirée par les plantes au cours de la culture. Le blé a été récolté à 7 j, 10 j et 13 j après émergence et le maïs à 8 j, 11 j et 14 j après émergence (3 réplicats / temps). La différence des temps de récolte entre le blé et le maïs est uniquement d'ordre pratique. Les racines ont été rincées à l'eau du robinet après avoir été séparées de la partie

aérienne (tige + feuilles). Les échantillons ont ensuite été lyophilisés, broyés et la CLD a été quantifiée en CSL après combustion oxydative.

1.2.4. Facteurs de transfert chez deux graminées annuelles cultivées sur sol reconstitué

Nous avons comparé les facteurs de transfert de la CLD chez deux plantes ayant des métabolismes énergétiques différents. Des graines de blé et de maïs ont été semées dans des béchers de 2 L contenant un sol reconstitué : 78% de terre (teneur en matière organique < 1%, granulométrie < 0,2 mm), 14% de sable de quartz (granulométrie 30) et 8% de vermiculite. L'utilisation de ce sol reconstitué a pour but de se rapprocher des conditions de terrains. Le sol reconstitué a été contaminé avec la [^{14}C]-CLD (7,48 mg CLD kg^{-1}, 122 672 Bq kg^{-1}). On a semé 3 graines par bécher pour le maïs et 5 pour le blé, en duplicat (2 béchers par plante). Les plantes ont été placées dans un phytotron (24°C/18°C, 12h/12h, jour/nuit) et arrosées régulièrement avec de l'eau du robinet. Les plantes ont été récoltées à 2 ou 3 mois après le semis. Les racines ont été rincées abondamment à l'eau du robinet et séparées de la partie aérienne. Pour le maïs, les tiges ont été divisées à chaque entrenœud, et les feuilles de chaque entrenœud ont été récoltées séparément (**Fig. 41**). La CLD a été quantifiée par CSL dans chaque échantillon après lyophilisation, broyage et combustion oxydative.

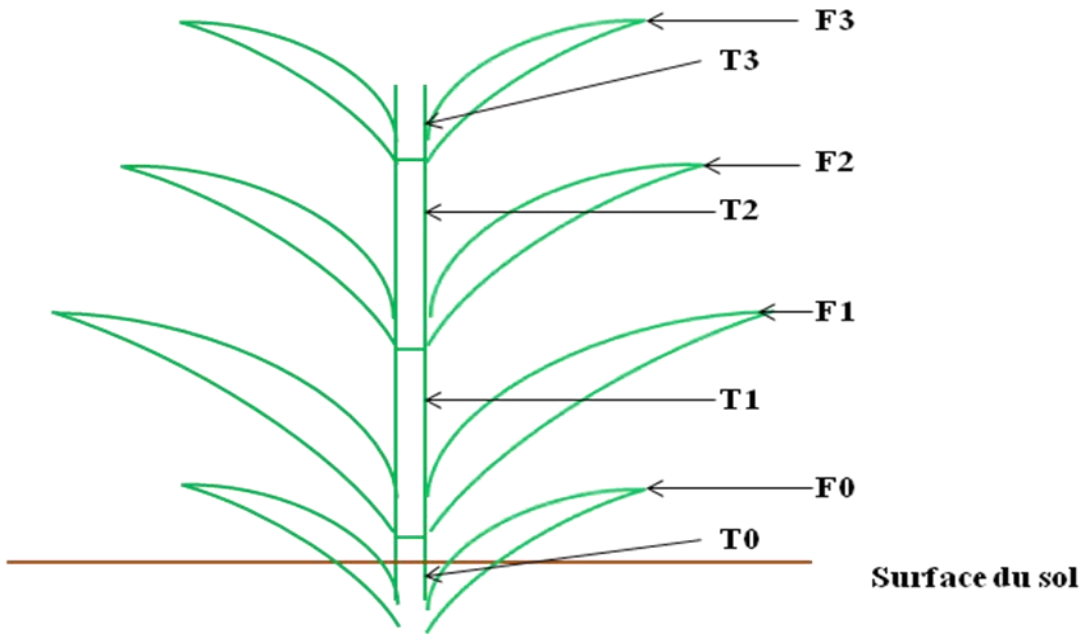
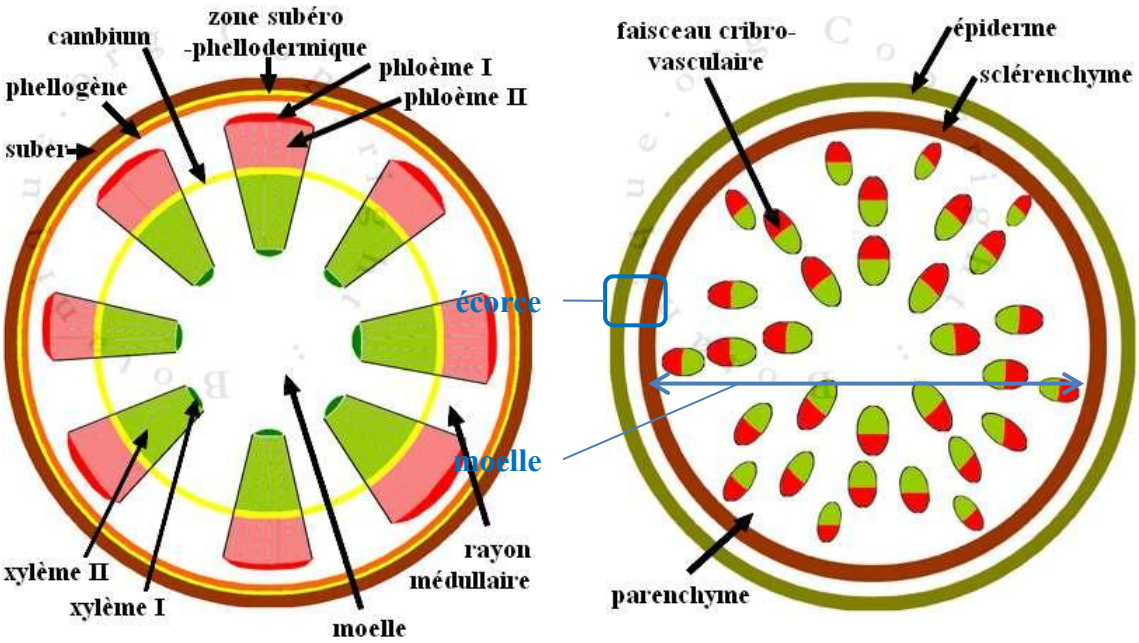


Fig. 41. Schématisation de la partie aérienne d'un thalle d'une graminée

1.3. Sorgho : contamination des tissus de la tige

Dans le but de déterminer si les différents tissus composant une tige de plante pouvaient être contaminés à des concentrations différentes lors du transfert de la CLD dans celle-ci, nous avons étudié la contamination des tissus des tiges de sorgho, qui présentent l'avantage d'être non creuses et épaisses, et donc plus facilement analysables. Des graines de sorgho ont été semées dans un substrat d'un volume de 2,2 kg constitué d'un mélange de 78% de terre (teneur en matière organique < 1%, granulométrie < 0,2 mm), 14% de sable de quartz (granulométrie 30) et 8% de vermiculite. Ce mélange a été contaminé avec la [^{14}C]-CLD (2,14 mg CLD kg^{-1}, 37 000 Bq kg^{-1}). Cinq graines ont été semées par bécher de 2 L. Les plantes ont été cultivées pendant 4 mois dans un phytotron (24°C/18°C, 12h/12h, jour/nuit). Les plantes ont ensuite été récoltées et les racines rincées abondamment à l'eau du robinet. La partie aérienne de chaque plant a été séparée de ses racines, puis les tiges ont été découpées à chaque entrenœud. Chaque tronçon a été séparé en deux parties, la moelle du centre de la tige (la stèle ou moelle) d'une part et la paroi de la tige fortement sclérifiée, « l'écorce » externe, d'autre part (**Fig. 42**). Les échantillons ont été analysés par CSL après lyophilisation, broyage et combustion oxydative.



source : Botanique.org

source : Botanic.org

Fig. 42. Organisation des faisceaux vasculaires dans la tige des plantes monocotylédones.

2. Résultats–Discussion

Les graminées cultivées sur des sols contaminés par la CLD peuvent être contaminées aussi et de ce fait cela pose un problème d'exposition de la chaîne alimentaire terrestre. La compréhension du transfert de la CLD du sol vers ces plantes constitue donc un enjeu important en matière de sécurité environnementale. Nous avons donc étudié ce transfert chez plusieurs espèces de graminées, afin de comparer ces plantes entre elles et ainsi de distinguer les caractéristiques physiologiques ou anatomiques qui pourraient favoriser ou limiter la contamination par la CLD.

La contamination de la canne à sucre aux Antilles soulève l'hypothèse que la pérennité de la plante sur la parcelle pourrait avoir un rôle dans la contamination. C'est pourquoi nous avons étudié la contamination d'une plante présentant les mêmes caractéristiques physiologiques et anatomiques que la canne à sucre, le miscanthus. D'autre part, nous avons comparé la contamination de plantes annuelles, blé, maïs et sorgho, afin d'étudier les différences inter-spécifiques et le rôle du métabolisme énergétique des plantes dans la contamination.

2.1. Cinétique d'absorption de la CLD par une graminée pérenne tropicale, le miscanthus

La translocation de la CLD chez une plante ayant des caractéristiques similaires à celles de la canne à sucre a été étudiée chez le miscanthus (*Miscanthus sinensis*). En effet, aux Antilles, la canne à sucre est parfois cultivée en rotation avec les bananiers, et par conséquent, elle peut être cultivée sur des sols contaminés par la CLD. Le constat de la contamination des tiges néoformées de canne à sucre par la CLD conduit à s'interroger sur les mécanismes de transfert de cette molécule lipophile dans la partie aérienne des plantes.

Le miscanthus a été choisi afin de reproduire le cycle de vie de la canne à sucre et d'avoir des caractéristiques métaboliques proches (plante en C4). La terre utilisée au laboratoire pour la culture du miscanthus est moins riche en matière organique que celle trouvée aux Antilles, plus adsorbante vis-à-vis des molécules hydrophobes et de ce fait favorise moins le transfert sol-plante Dans nos conditions, le transfert de la CLD est favorisé et peut ainsi être étudié plus facilement.

L'hypothèse dite du « réservoir » que nous voulions vérifier était que le plateau de tallage des graminées pérennes qui reste en place dans la parcelle d'une année sur l'autre, était de plus en

plus contaminé et de ce fait contaminait de plus en plus la partie aérienne. Nous avons donc dosé la CLD en fonction du temps de culture après repiquage dans un sol contaminé (**Fig. 43**) dans la partie aérienne constituée des tiges et des feuilles (plusieurs tiges par rhizome) (**Fig. 43A**) et dans la partie souterraine constituée des racines et du rhizome (**Fig. 43B**). La concentration dans les parties aériennes, tiges et feuilles, varie peu au cours du temps. Elle est globalement égale à 3,98 ± 2,56 µg g^{-1}. On note cependant une différence significative entre la concentration dans les feuilles et la concentration dans les tiges respectivement de 3,54 ± 0,14 et 2,39 ± 0,02 µg g^{-1} à 4 mois et de 1,35 ± 0,18 et 1,98 ± 0,04 µg g^{-1} à 22 mois.

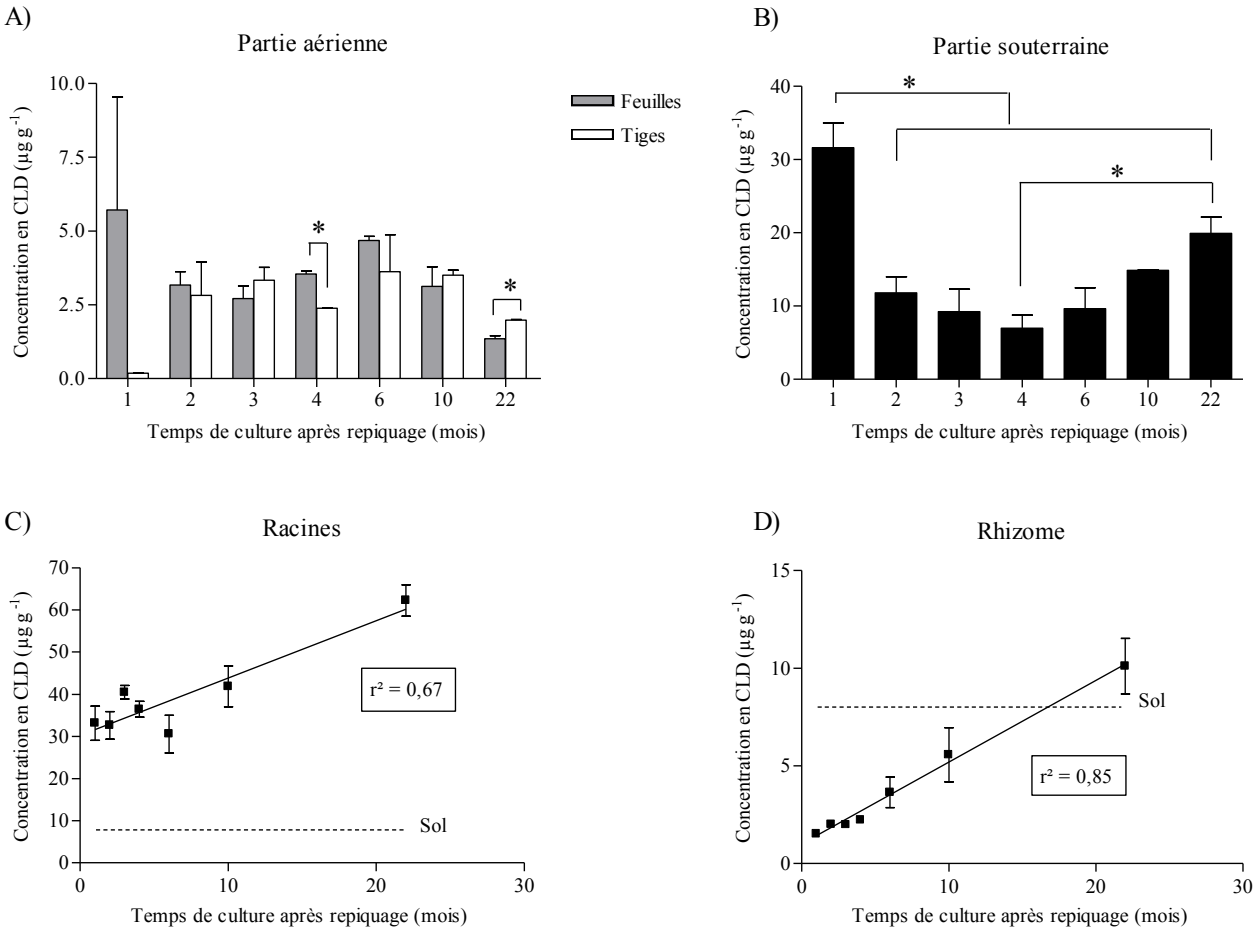


Fig. 43. Concentrations en CLD dans différentes parties de plants de miscanthus cultivés pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). (A) Partie aérienne : feuilles et tiges. (B) Partie souterraine : racines + rhizome. (C) et (D) Détail de la partie souterraine. La ligne pointillée correspond à la concentration en CLD du sol. Moyennes de 3 réplicats. Les barres d'erreurs représentent les écarts-types. Les * indiquent les valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,01).

Dans la partie souterraine, la concentration en CLD diminue jusqu'au 4ème mois de culture de 31,61 ± 5,91 µg g^{-1} à 1 mois à 6,98 ± 2,57 µg g^{-1} à 4 mois, puis augmente à nouveau, y compris jusqu'au 22ème mois, à la fin de la seconde année de culture jusqu'à 19,91 ± 3,90 µg g^{-1}, mais cependant sans atteindre la valeur plus élevée du premier prélèvement à 1 mois. Cela pourrait s'expliquer par les rapports de masse et de volume entre les racines et le rhizome. A ce stade de la culture, le rhizome est peu développé comparé aux racines, la proportion du rhizome dans la masse souterraine est faible. L'apport de la contamination due à la masse du rhizome est donc faible au début de la culture, et cela s'inverse au cours du temps lorsque le rhizome se développe. Cependant, du fait de nos conditions de culture, le développement des racines au cours du temps a rendu difficile leur prélèvement en totalité dans le sol et la mesure de l'évolution du rapport de masse rhizome/racines. Lorsque l'on étudie les concentrations en CLD dans les deux organes souterrains indépendamment, les concentrations retrouvées dans les racines (**Fig. 43C**) et dans le rhizome (**Fig. 43D**) augmentent toutes deux au cours du temps de manière linéaire mais les concentrations sont cependant 6 fois plus faibles dans le rhizome que dans les racines. Notons que la concentration en CLD dans les racines est supérieure à la concentration dans le sol tout au long de la culture, mais que la concentration dans le rhizome ne dépasse celle du sol que lors de la seconde année de culture.

Le rôle de « réservoir » de CLD du rhizome n'a pas pu être mis en évidence par un transfert de CLD vers la partie aérienne plus élevé la seconde année. Bien que la concentration en CLD du rhizome soit près de deux fois plus élevée entre la fin de la première année de culture et la fin de la deuxième année. D'autre part, les racines n'étant, comme les tiges, pas pérennes, lors de la seconde année de culture ce sont des racines néoformées qui se développent. La concentration en CLD plus élevée dans ces racines, qui sont aussi développées que lors de la fin de la première année, pourrait s'expliquer par une relocalisation de la CLD du rhizome dans les racines néoformées. Toutefois cette relocalisation n'est pas retrouvée dans les tiges néoformées, cette hypothèse physiologique ne semble pas devoir être retenue.

Les facteurs de translocation (Rocheleau et al. 2008) entre la partie souterraine totale et la partie aérienne totale, ainsi que les facteurs de concentration racinaire (RCF) entre le rhizome et la terre de culture ont été calculés (**Tableau 8**). La concentration dans le rhizome étant de plus en plus élevée au cours de la culture (**Fig. 43D**), le RCF du rhizome augmente, traduisant une accumulation de CLD dans le rhizome. Cependant, le TF ne montre pas d'accumulation plus forte dans la partie aérienne de la plante durant le second cycle de culture.

Tableau 8. Facteurs de concentration de la CLD dans le rhizome (RCF) et dans la partie aérienne (CF) de plants de miscanthus cultivés pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). Moyennes de 3 réplicats avec écarts-types.

Temps de culture	RCF ([rhizome] / [sol])	TF ([partie aérienne] / [partie souterraine])
1 mois	0,19 ± 0, 02	0,30 ± 0,27
2 mois	0,25 ± 0,04	0,30 ± 0,15
3 mois	0,25 ± 0,04	0,37 ± 0,21
4 mois	0,28 ± 0,02	0,53 ± 0,17
6 mois	0,45 ± 0,17	0,56 ± 0,24
10 mois	0,69 ± 0,30	0,21 ± 0,07
22 mois	1,26 ± 0,31	0,07 ± 0,02

En termes de quantités de CLD transférées de la partie souterraine (racines et rhizome) à la partie aérienne (tiges et feuilles) du miscanthus, il y a une augmentation de cette quantité au cours du premier cycle de culture, mais le transfert est moindre lors du second cycle (**Fig. 44**).

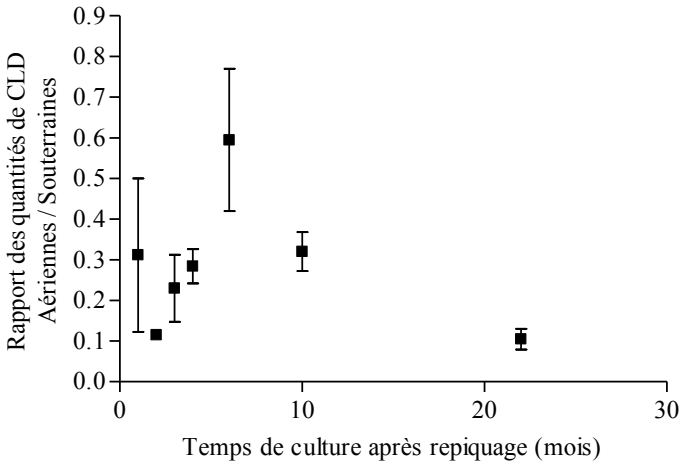


Fig. 44. Transfert de la CLD des organes souterrains, racines et rhizome, vers les organes aériens, tiges et feuilles, du miscanthus (*Miscanthus sinensis*) cultivé pendant 2 ans sur de la terre contaminée avec la [^{14}C]-CLD (8,05 mg CLD kg^{-1}, 131 792 Bq kg^{-1}). Rapport des quantités de CLD dosées dans la partie aérienne sur les quantités dosées dans la partie souterraine. Moyennes de 3 réplicats avec écarts-types.

Comme nous le supposions, le système racinaire d'une plante pérenne qu'est le miscanthus poussant en milieu contaminé par de la CLD accumule celle-ci d'une année à l'autre. Cependant, cette expérimentation ne montre pas d'augmentation de l'accumulation de la CLD dans la partie aérienne de la plante d'une année sur l'autre. Il semblerait que le transfert de la CLD dans la partie aérienne d'une plante ne soit donc pas uniquement dépendant de la concentration dans la partie souterraine. D'autre part, la culture de miscanthus ne s'est pas aussi bien déroulée que prévue au laboratoire. Même si le développement plus faible de l'espèce *M. sinensis* comparé à d'autres espèces (*M. giganteu*s par ex.) était un choix afin de réaliser cette culture en phytotron, les tiges et feuilles des plants se sont moins développées que prévu. D'autre part, le tallage des plants a été important, surtout la deuxième année, ce qui a pu avoir un effet de « dilution » de la CLD au sein de la partie aérienne. Notons que si cet effet existe, cela n'est pas le facteur limitant du transfert de la CLD puisque les quantités transférées dans la partie aérienne de la plante la seconde année ne sont pas plus importantes que lors de la première année de culture.

Aux Antilles, la contamination des sols n'est pas homogène et les différents types de sols n'ont pas le même pouvoir contaminant. Les nitisols, qui ont un K_{oc} plus faible que les andosols, sont plus contaminants (Cabidoche et Lesueur-Jannoyer, 2012). Pour une teneur égale en CLD, le transfert en CLD dans la partie souterraine d'une plante est plus important dans les nitisols que dans les andosols. D'autre part, ces auteurs ont montré que la contamination de l'organe souterrain d'une plante était dépendante de sa taille. Plus un organe est petit plus il sera contaminé. Ainsi, la canne à sucre, dont le plateau de tallage reste en place plusieurs années et a une taille importante, doit être contaminée dans sa partie souterraine de manière non négligeable.

2.2. Comparaison de la contamination chez des graminées annuelles

Le transfert de la CLD a été comparé chez des graminées courantes en agriculture métropolitaine, le blé, le maïs et le sorgho, et ayant un développement annuel afin d'étudier plusieurs paramètres de la contamination à différents stades de développement au cours de leur cycle de vie végétatif. Le blé et le maïs sont des plantes annuelles et le sorgho est une plante bisannuelle, mais cultivé en général comme une plante annuelle.

2.2.1. Cinétique d'adsorption racinaire

La molécule de CLD étant relativement lipophile (log K_{ow} = 4,5), le phénomène d'adsorption sur les parties souterraines de la plante, directement en contact avec le sol et la molécule, doit largement influencer son entrée dans la plante. Nous avons comparé la capacité d'adsorption racinaire chez trois graminées : le maïs, le blé et le sorgho. Les racines ont été mises à incuber dans une solution de [^{14}C]-CLD pendant des durées variables afin de calculer les paramètres de la cinétique d'adsorption de chaque plante. Le phénomène physiologique d'absorption entre peu en jeu puisque les racines sont excisées. Cependant, la CLD pénètre à l'intérieur de la racine par simple diffusion, jusqu'à atteindre l'équilibre entre la solution et la racine. Afin de rendre compte de la cinétique d'adsorption-diffusion, le rapport entre la concentration racinaire et la concentration dans la solution a été représenté en fonction du temps (**Fig. 45**).

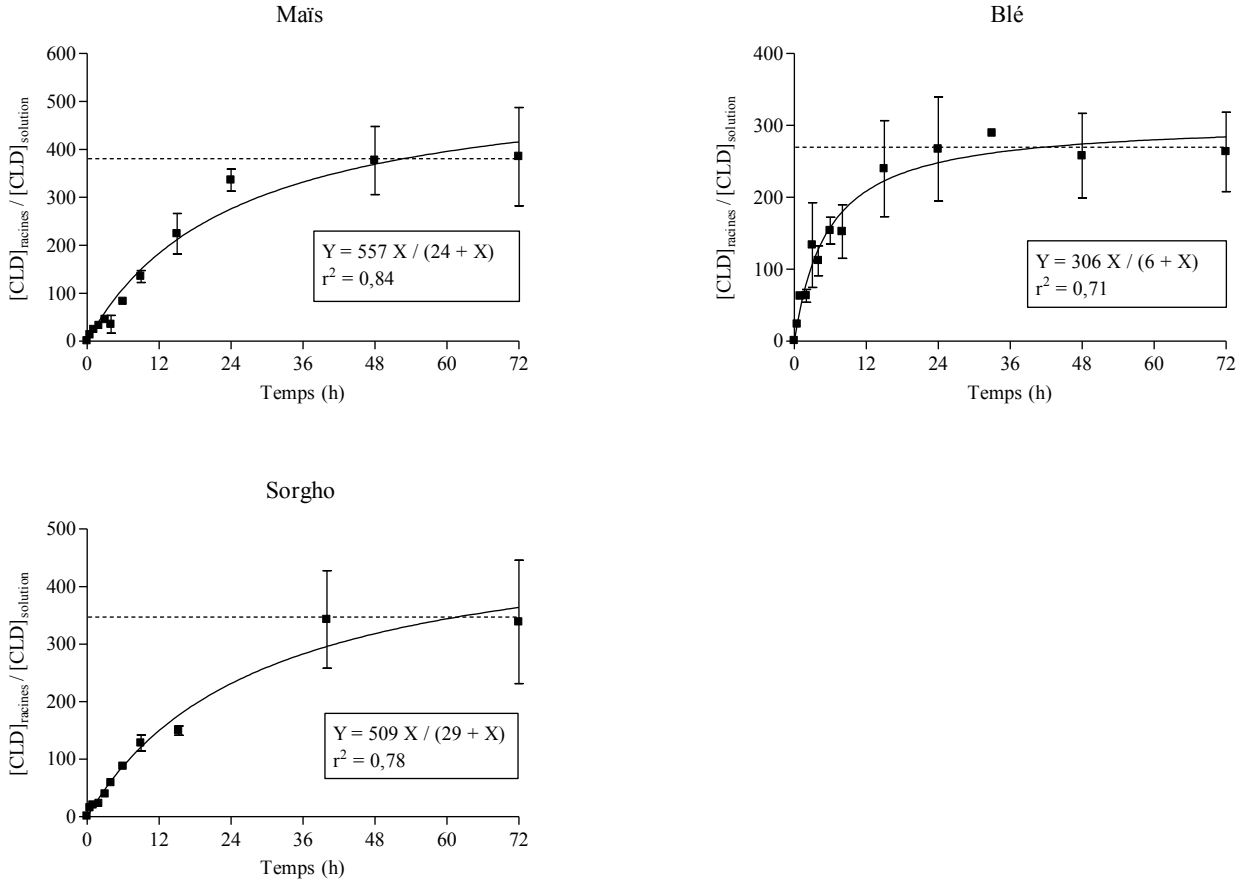


Fig. 45. Cinétique de contamination de racines excisées de blé, maïs et sorgho sucrier mises à incuber pendant des durées variables dans une solution de [^{14}C]-CLD (7 400 Bq mL^{-1}, 2,5 µg mL^{-1}). Rapport de la concentration racinaire sur la concentration dans la solution d'incubation au cours du temps. Les points sont la moyenne de 3 réplicats. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les lignes pointillées représentent l'adsorption maximale.

Le rapport des concentrations se modélise par une hyperbole. Un équilibre s'établit entre la concentration de la solution et la concentration racinaire. Dans les trois cas, ces ratios montrent une forte capacité d'adsorption de la CLD sur les racines. Pour le maïs et le sorgho, un plateau de saturation est atteint autour de 48 h, tandis que pour le blé ce plateau est atteint plus tôt, aux alentours de 24 h. Nous avons calculé (GraphPad Prism, GraphPad Sofware, USA) les valeurs maximales des facteurs de concentrations racinaires à 72 h. Elles sont de 385 pour le maïs, 263 pour le blé et 339 mL g^{-1} pour le sorgho, avec des valeurs d'erreurs standards de la moyenne de 103, 55 et 107 respectivment pour le maïs, le blé et le sorgho. Les racines de maïs semblent posséder une meilleure capacité d'accumulation de la CLD que celles du blé et du sorgho. Comme le montre le calcul des vitesses initiales déterminées graphiquement : v_i = 22, 17 et 49 mL g^{-1} h^{-1} respectivement pour le maïs, le sorgho sucrier et le blé. L'adsorption-diffusion de la CLD semble être plus rapide chez le blé que chez le maïs et le sorgho, toutefois la quantité de CLD qui pénètre dans la racine de blé semble plus faible. Cependant, un test statistique ANOVA n'a pas permis de montrer une différence significative entre les facteurs de concentrations racinaires des trois plantes (p-value > 0,05).

2.2.2. Dosage des lipides racinaires

De la même manière que pour les tissus des tubercules, le taux de lipides des racines des plantes pourrait influencer l'adsorption racinaire de la CLD et favoriser son passage dans la plante. Nous avons donc comparé la teneur en lipides des racines de trois graminées, le blé, le maïs et le sorgho fourrager. Les résultats présentés dans le **tableau 9** ont été ajustés par rapport à la valeur témoin de 83% de lipides dosés dans l'huile de maïs.

Tableau 9. Teneurs en lipides obtenues par la méthode de dosage de Folch dans des racines de graminées de 5 j. Les valeurs obtenues sont ajustée par rapport à une valeur témoin.

Racines	Taux de lipides, en % de masse fraîche
Blé ^{A}	0,61 ± 0,20
Maïs ^{B}	1,03 ± 0,21
Sorgho (fourrager) ^{B}	1,22 ± 0,20

Les lettres ^{A,B} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de comparaison multiple de Student-Newman-Keuls, p-value < 0,05)

Le pourcentage de lipides dosés dans les racines des trois plantes est très faible. Cependant, le taux de lipides est deux fois plus élevé dans les racines de sorgho que dans les racines de blé. Le maïs a une teneur en lipides intermédiaire, mais peu différente de celle du sorgho. Un test de Student a montré que le taux de lipides racinaires du blé était significativement différent de celui du maïs et du sorgho (p-value <0,05). Nous avons vu dans le paragraphe précédent que les racines de maïs et de sorgho avaient une capacité d'adsorption de la CLD supérieure à celle du blé. Ainsi, la capacité d'absorption racinaire d'une molécule lipophile telle que la CLD pourrait être liée au taux de lipides dans les racines.

En effet, la bicouche lipidique des membranes cellulaires est perméable aux xénobiotiques lipophiles et apolaires. (Briggs et al., 1982) ont montré que pour une molécule plus son log K_{ow} était élevé, plus le facteur de bioconcentration dans une plante était élevé. De plus, une corrélation positive entre le taux de lipides racinaires et l'incorporation d'un composé lipophile dans ce tissu a été établie (Schwab et al., 1998; Gao et Ling, 2006). Cependant (Macherius et al., 2012) n'ont pas pu confirmer ce résultat chez différentes variétés de carottes ayant des teneurs lipidiques différentes. Aussi, dans notre expérimentation, un taux élevé de lipides racinaires semble être inversement lié à la vitesse de l'adsorption. Celle-ci ne serait pas liée au taux de lipides mais peut-être au diamètre des racines qui sont nettement plus fines chez le blé et le sorgho, 0,01 mm, contre 0,05 mm pour le maïs.

En résumé, on peut supposer que plus le taux de lipides est élevé, plus la capacité d'adsorption est grande, moins vite la saturation est atteinte. Ces résultats seront à mettre en relation le transfert de la CLD au sein de ces plantes.

2.2.3. Cinétique de contamination par la CLD du maïs et du blé au stade plantule et cultivés sur un substrat sable

Dans cette partie, nous avons étudié si des plantes ayant des métabolismes énergétiques différents avaient des capacités de transfert de la CLD dans leur partie aérienne différentes. Pour cela, nous avons comparé la capacité translocation de la CLD dans la partie aérienne, constituée de la tige et des feuilles, chez le maïs (plante en C4) et le blé (plante en C3). Des plantules ont été cultivées dans du sable contaminé avec de la CLD et récoltées à trois jeunes stades de culture différents (entre 1 à 2 feuilles). Les concentrations de CLD dans la partie aérienne sont 200 à 500 fois plus faibles que dans les racines aux trois temps de récolte (**Fig. 46**).

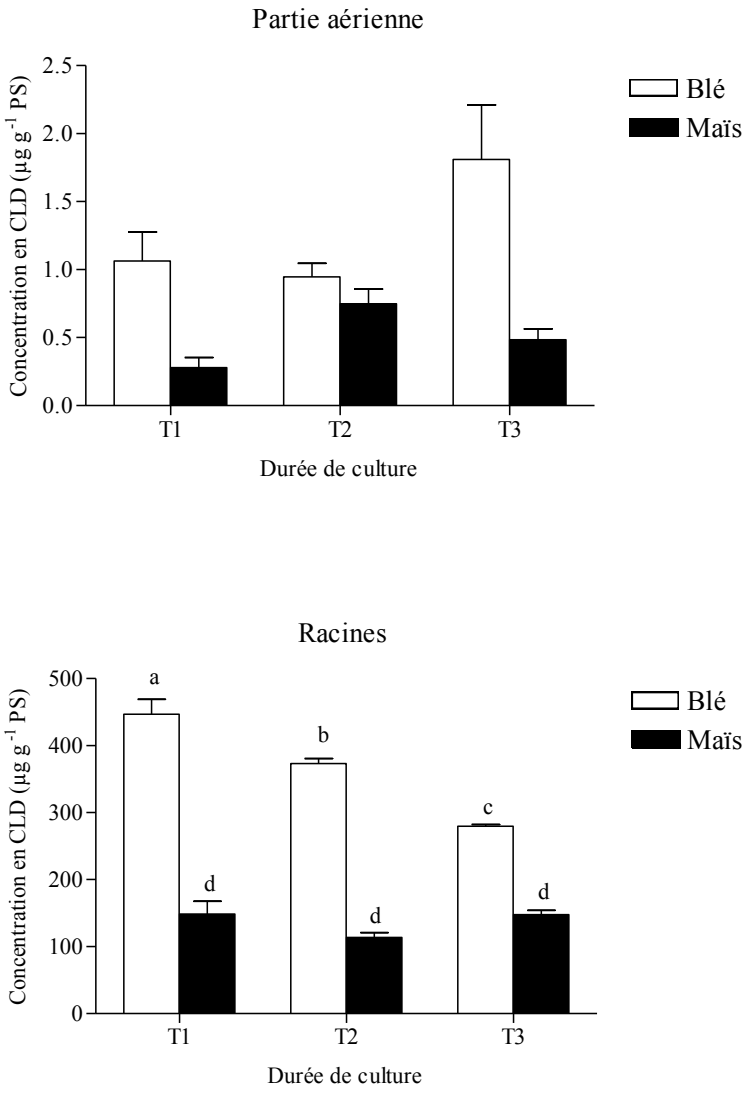


Fig. 46. Concentrations en CLD mesurées dans les tiges et les racines de plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à différents jours après émergence : T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Les lettres a, b, c, d représentent des valeurs significativement différentes (test ANOVA, p-value < 0,005). Les barres d'erreurs représentent la déviation standard (n = 3).

Que ce soit dans la partie aérienne ou dans les racines, les concentrations chez le blé et chez le maïs sont significativement différentes (test de Student, p-value < 0,0005) et sont plus élevées chez le blé que chez le maïs. Ce résultat paraît contradictoire avec ceux obtenus précédemment (*Cf § III.2.2.1*) qui semblaient montrer que la concentration en CLD dans les racines de blé était plus faible que dans celles de maïs et de sorgho. Or, un test statistique n'avait pas permis d'affirmer cette tendance. Ici, les concentrations dans la partie aérienne de blé semblent augmenter au cours du temps mais cela n'est pas significatif. Les concentrations demeurent stables chez le maïs. De plus, les concentrations dans les racines de blé diminuent

de manière significative au cours du temps alors qu'elles restent stables pour le maïs (test ANOVA, p-value < 0,005). Le facteur de concentration racinaire (RCF) du blé diminue entre T1 et T3 (test de student, p-value < 0,001) alors qu'il reste constant pour le maïs (**Tableau 10**). D'autre part, le RCF est très différent entre le blé et le maïs (test de Student, p-value < 0,001). On peut donc supposer, au moins pour le blé, qu'un phénomène d'épuisement de la CLD du milieu par absorption racinaire se produit et que la CLD est transloquée dans la partie aérienne, entraînant une augmentation de la concentration en CLD dans cette dernière. Effectivement, lorsque l'on examine le taux de prélèvement de CLD par la plante, en % de quantité extraite du sol au cours du temps, celui-ci atteint une valeur de 77% pour le blé à T3 alors qu'il n'est que de 31% pour le maïs (**Tableau 11**). D'autre part, la proportion massique de la partie aérienne sur la partie souterraine reste équivalente chez le blé et semble même augmenter chez le maïs (test de Student, p-value < 0,05) (**Tableau 12**).

Tableau 10. Facteur de concentration racinaire (RCF) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3).

Temps de récolte	Blé	Maïs
T1	338,7 ± 28,5 $^{(A)}$	112,6 ± 25,3 $^{(D)}$
T2	282,7 ± 9,6 $^{(B)}$	85,9 ± 10,1 $^{(D)}$
T3	211,9 ± 3,4 $^{(C)}$	111,8 ± 8,1 $^{(D)}$

Les lettres ^{A,B,C,D} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

Tableau 11. Taux de prélèvement de la CLD du sol par la plante entière, en % de la quantité appliquée, chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3).

Temps de récolte	Blé	Maïs
T1	55,8 ± 2,4 $^{(A)}$	37,4 ± 17,0 $^{(A,C)}$
T2	64,0 ± 8,3 $^{(A,B)}$	29,8 ± 17,6 $^{(C)}$
T3	77,2 ± 4,5 $^{(B)}$	31,0 ± 4,3 $^{(C)}$

Les lettres ^{A,B,C} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

Tableau 12. Rapports de la masse de la partie aérienne sur la partie souterraine au cours du temps chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3).

Temps de récolte	Blé	Maïs
T1	1,47 ± 0,11 $^{(A)}$	1,29 ± 0,10 $^{(A)}$
T2	1,30 ± 0,05 $^{(A)}$	1,04 ± 0,04 $^{(A,B)}$
T3	1,47 ± 0,10 $^{(A,C)}$	1,67 ± 0,21 $^{(C)}$

Les lettres ^{A,B,C} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

Le facteur de translocation (Rocheleau et al., 2008) a été calculé pour le blé et le maïs aux trois temps de récolte (**Tableau 13**). Celui-ci augmente au cours du temps chez le blé alors qu'il semble rester stable chez le maïs. Le blé a donc une meilleure capacité de translocation de la CLD dans sa partie aérienne que le maïs. Cependant ces valeurs sont du même ordre de grandeur chez les deux plantes. A un stade précoce de culture, le blé et le maïs ont donc une capacité de concentration de la CLD dans leur partie aérienne équivalente.

Le facteur de concentration du courant de transpiration (TSCF), c'est-à-dire la concentration de la sève xylémienne, a été calculé pour les plantules de blé et de maïs à partir des taux d'évapotranspiration (**Tableau 14**). Pour ces deux plantes, le TSCF reste stable et du même ordre de grandeur. Cependant, les TSCF calculés à T3 sont significativement différents entre le blé et le maïs (test de Student, p-value < 0,05).

Tableau 13. Facteur de translocation (Rocheleau et al., 2008) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3).

Temps de récolte	Blé	Maïs
T1	2,4 10^{-3} ± 0,7 10^{-3} $^{(A)}$	2,0 10^{-3} ± 1,1 10^{-3} $^{(A)}$
T2	2,5 10^{-3} ± 0,4 10^{-3} $^{(A)}$	6,6 10^{-3} ± 0,8 10^{-3} $^{(C)}$
T3	6,5 10^{-3} ± 2,5 10^{-3} $^{(B)}$	3,3 10^{-3} ± 1,2 10^{-3} $^{(B)}$

Les lettres ^{A,B,C} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

Tableau 14. Facteur de concentration du courant de transpiration (TSCF) chez des plantules de blé et de maïs cultivées dans du sable contaminé avec la [^{14}C]-CLD (25,9 MBq mg^{-1}, 80 µg) et récoltées à T1 = 7 j, T2 = 10 j, T3 = 13 j pour le blé et T1 = 8 j, T2 = 11 j, T3 = 14 j pour le maïs. Moyennes de 3 réplicats ± écarts-types (n = 3).

Temps de récolte	Blé (g cm^{-3})	Maïs (g cm^{-3})
T1	$1,0\ 10^{-2} \pm 3,9\ 10^{-3}$ (A)	$2,0\ 10^{-3} \pm 6,9\ 10^{-4}$ (B)
T2	$5,3\ 10^{-3} \pm 1,1\ 10^{-3}$ (A)	$4,1\ 10^{-3} \pm 1,5\ 10^{-3}$ (A,B)
T3	$7,5\ 10^{-3} \pm 2,9\ 10^{-3}$ (A)	$2,2\ 10^{-3} \pm 7,9\ 10^{-4}$ (B)

Les lettres ^{A,B} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

2.2.4. Facteurs de transfert chez deux graminées annuelles cultivées sur sol

Des plants de maïs et de blé ont été cultivés sur un sol contaminé et récoltés à deux temps différents afin de comparer leurs capacités à accumuler la CLD (**Tableau 15**).

Tableau 15. Facteur de translocation de la CLD dans la partie aérienne (TF = [partie aérienne]/[racines]) et de concentration dans les racines (RCF = [racines]/[terre]) calculés chez du maïs et du blé cultivés pendant 2 et 3 mois dans un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (7,48 mg CLD kg^{-1}, 122 672 Bq kg^{-1}). A 2 mois, n=1, à 3 mois : moyennes de 3 valeurs ± écarts-types pour le maïs (n=3), moyennes de 2 valeurs ± écarts-types pour le blé (n=2).

	TF		RCF	
	2 mois	3 mois	2 mois	3 mois
Maïs	$0,8\ 10^{-2}$	$1,1\ 10^{-2} \pm 0,3\ 10^{-2}$ (A)	12,0	$11,7 \pm 0,5$ (C)
Blé	$2,4\ 10^{-2}$	$3,0\ 10^{-2} \pm 0,8\ 10^{-2}$ (B)	8,8	$14,7 \pm 1,5$ (D)

Les lettres ^{A,B,C,D} correspondent à des groupes de valeurs significativement différentes (test de Student, p-value < 0,05).

Comme précédemment, le TF de la CLD dans la partie aérienne des plantes ([partie aérienne] / [racines]) est faible pour les deux plantes, mais celui-ci est plus élevé chez le blé. Entre 2 et 3 mois, le TF augmente de 30% pour le maïs et de 25% pour le blé. La capacité de transfert de la CLD dans la partie aérienne semble donc plus élevée chez le blé que chez le maïs. Le facteur de concentration racinaire (RCF = [racines] / [sol]) est aussi plus élevé chez le blé que chez le maïs à 3 mois de culture, bien que l'inverse soit constaté à 2 mois. Soulignons que cette inversion n'est pas significative au vu du faible nombre de valeurs, et pourrait être due à une croissance au départ plus rapide du maïs comparé au blé. Le RCF du blé a augmenté de 67% tandis que celui du maïs est resté stable. Ce résultat peut être dû au taux de lipides racinaire, qui est plus faible chez le blé au premier stade de culture (*Cf § III.2.2.2*) mais qui pourrait augmenter plus fortement en cours de croissance. Malheureusement nous n'avons pas pu calculer le taux de lipides racinaires sur les cultures sur sol, du fait de difficultés techniques rencontrées lors de cette culture. Le taux de lipides racinaires, plus faible chez le blé, pourrait aussi entraîner une adsorption plus faible de la CLD sur les racines de blé (Schwab et al., 1998; Gao et Ling, 2006), mais favoriser l'absorption de la CLD diluée dans la solution du sol. Ainsi à terme, un taux de lipides racinaires élevé semble diminuer la capacité de transfert d'une molécule relativement lipophile comme la CLD dans une plante. D'autre part, le RCF plus élevé du blé pourrait s'expliquer par le taux d'évapotranspiration. En effet, un courant d'évapotranspiration plus fort drainerait plus fortement la CLD et donc entrainerait une contamination plus forte des racines. Or les plantes en C3, comme le blé, ont une efficacité d'utilisation en eau (WUE) plus faible et donc une évapotranspiration plus importante que les plantes en C4 comme le maïs (Taylor et al., 1983).

La CLD est donc transférée assez difficilement dans la partie aérienne des plantes. D'autre part, c'est un pesticide qui est transporté exclusivement par la sève xylémienne dans la plante et non par la sève phloémienne, puisqu'il n'est pas métabolisé par les plantes. De par ce transfert difficile, il doit s'établir un gradient acropétale de contamination dans la plante. Cette hypothèse a été vérifiée en analysant la concentration en CLD retrouvée dans chaque entrenœud des plants de maïs récoltés après 3 mois de culture sur le sol contaminé (**Fig. 47**). A chaque entrenœud (**Fig. 41**), les mesures ont été faites dans la tige et dans les feuilles.

La concentration en CLD dans les feuilles et dans les tiges diminue à chaque entrenœud, du sol vers le haut de la plante. Il s'établit ainsi un gradient acropétal de contamination, caractéristique d'une systémie exclusivement xylémienne. Les concentrations retrouvées au niveau des derniers entrenœuds sont très faibles. Ce gradient, qui existe aussi dans le pseudo-

tronc de bananier (Cabidoche et Lesueur Jannoyer, 2011), explique en partie le fait que la CLD ne soit pas retrouvée dans les bananes, puisque les régimes se développent en hauteur. D'autant plus que le remplissage des fruits peut se faire en grande partie par apport de la sève élaborée, riche en assimilats photosynthétiques, et que dans ce cas, les contaminants circulants dans le xylème n'atteignent pas les fruits. D'autre part, la **figure 47** montre que la concentration en CLD dans les feuilles est beaucoup plus élevée que dans la tige. Comme nous l'avons vu précédemment pour les radis, l'évapotranspiration joue un rôle important dans la contamination. En effet, le flux d'évapotranspiration de la plante participe au transfert de la CLD contribuant ainsi à une distribution plus importante dans les organes où s'effectue l'évaporation, c'est-à-dire essentiellement au niveau des feuilles. Il y a très peu d'évapotranspiration au niveau de la tige, puisque cet organe n'est qu'un lieu de transit pour la sève xylémienne.

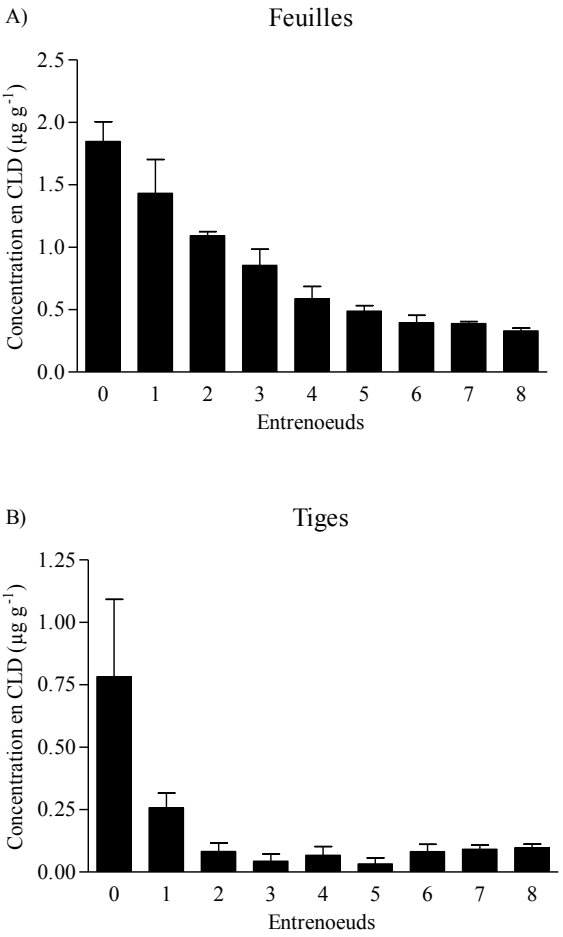


Fig. 47. Concentration en CLD mesurées dans les feuilles et les tiges de maïs cultivé pendant 3 mois dans un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (7,48 mg CLD kg^{-1}, 122 672 Bq kg^{-1}). Les mesures sont réalisées à chaque entrenœud de la tige, le 0 étant celui partant des racines, sectionné à la surface du sol. Trois réplicats pour les entrenœuds 0 à 6, deux réplicats pour les entrenœuds 6 à 8. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard.

2.3. Comparaison de la contamination de la tige du sorgho fourrager en fonction des tissus

Afin de mieux comprendre comment le transfert de la CLD s'effectue au niveau tissulaire dans les tiges de graminées, nous avons comparé la contamination de deux « tissus » constituant la tige de sorgho fourrager, en séparant chaque entrenœud (**Fig. 41**). En effet, la tige a un développement assez important chez cette plante et reste pleine au cours de la croissance, elle s'analyse donc plus facilement. Chez les graminées à tige pleine, la partie centrale de la tige ou la moelle est constituée de parenchyme ponctué d'îlots de faisceaux vasculaires, phloème + xylème. Les cellules du xylème ont une paroi lignifiée et la partie externe de la tige, l'écorce, est constituée de cellules lignifiées, et subérifiées. Or la lignine et la subérine sont des composés lipophiles, et la CLD pourrait avoir une forte affinité pour ces composés. Les tissus riches en lignine et/ou subérine pourraient donc être plus fortement contaminés que les tissus parenchymateux de la moelle bien qu'ils incluent les faisceaux vasculaires. La CLD a été dosée dans la moelle et l'écorce de tige de sorgho fourrager (**Fig. 48**).

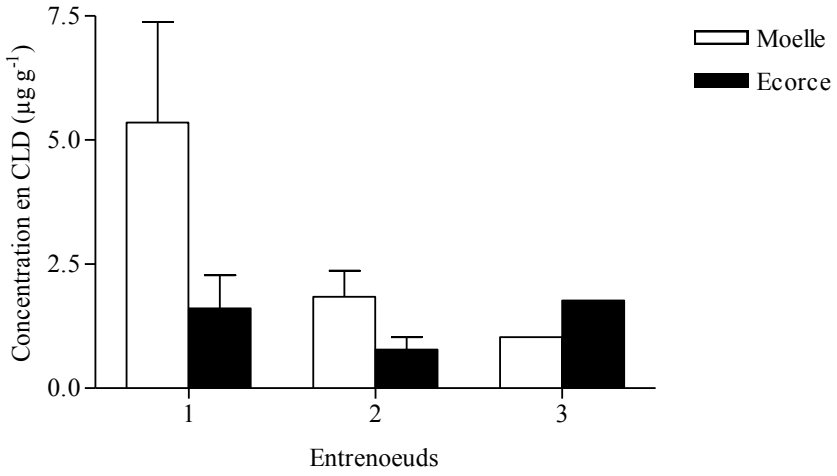


Fig. 48. Concentrations en CLD mesurées dans deux tissus de tiges, séparées en entrenœuds (l'entrenœud 1 est le plus proche du sol), de sorgho fourrager cultivé pendant 4 mois sur un sol contaminé avec la [^{14}C]-CLD (2,14 mg CLD kg^{-1}, 37 000 Bq kg^{-1}). Moyennes de 5 réplicats pour les entrenœuds 1 et 2, un seul échantillon pour le 3. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards.

La moelle des deux premiers entrenœuds est 2 à 3 fois plus contaminée que l'écorce, supposée plus riche en constituants lipophiles. Le résultat au niveau du 3ème entrenœud ne peut être analysé, par manque d'échantillons. Cela est contraire au résultat attendu, qui était que les composés lipophiles, lignine et subérine, piègeraient la CLD. Or les îlots de faisceaux

vasculaires, dont les parois du xylème sont lignifiées, bien que relativement nombreux dans les tiges de monocotylédones, sont inclus dans le parenchyme de réserve de la tige, constituant ainsi un tissu moins dense que l'écorce et probablement moins concentré en lignine. La capacité de contamination ne semblerait donc pas liée au taux de composés lipophiles comme la lignine présent dans un tissu. Une expérimentation similaire sur des plants de maïs (stade 10 feuilles) ne montrait pas de différence entre les deux parties de la tige, moelle et écorce. Cette expérience avait été renouvelée sur sorgho car la moelle est, comme chez la canne à sucre, un tissu de réserve de sucres. Cela pourrait s'expliquer par des transferts hydriques dans ces tissus de réserves qui pourraient y être globalement plus élevés que dans la périphérie de la tige ou une partie du flux diminue ou s'interrompt lorsque la feuille associée à l'entrenœud arrive à maturité et devient sénescente alors que le transfert dans la moelle continue.

3. Discussion : évaluation du risque chez les graminées

Cette étude sur la contamination des graminées montre qu'il existe bien un transfert de la CLD dans la partie aérienne des végétaux. Les végétaux contaminés présentent un gradient acropétal de concentration en CLD, de la base vers le haut de la tige, comme cela avait été montré par (Cabidoche et Lesueur Jannoyer, 2011). D'un point de vu d'évaluation du risque de contamination des chaînes alimentaires terrestres par la CLD, la contamination des graminées présente le risque de contaminer les animaux consommateurs de fourrages. Toutefois, le risque de contamination du bétail réside plus dans l'ingestion, au cours de la pâture, de particules de terre contaminée que de végétaux contaminés (Cabidoche et Lesueur Jannoyer, 2011), puisque la contamination des particules de sol peut atteindre par endroits des valeurs bien supérieures à celles retrouvées dans les végétaux. Ainsi, du fait de l'établissement de ce gradient de contamination dans les graminées, la hauteur de coupe du fourrage, ou l'utilisation de fourrages peu ligneux évitant l'arrachage des touffes lors de la pâture du bétail, peuvent permettre de réduire le risque d'exposition à la CLD. D'autant plus que les fourrages ligneux, donc riches en lignines, présentent un risque plus important de contamination. De plus, toutes les espèces de bétail ne pâturent pas de la même façon. Les bovins utilisent leur langue pour brouter, et donc coupent l'herbe à une certaine hauteur. Par contre, les ovins et les caprins utilisent leurs dents et arrivent donc à couper l'herbe plus ras.

La CLD se retrouvant principalement à la base de la plante, les ovins et les caprins sont donc potentiellement plus exposés à la CLD que les bovins.

D'autre part, les plantes à cycle de vie long (bisannuelles ou pérennes), ont un système racinaire qui reste en place d'une année à l'autre, et dont la concentration en CLD peut augmenter au cours du temps. Le taux de transfert dans la partie aérienne dépend de la physiologie et du métabolisme de la plante. Mais même si ce taux de transfert ne semble pas dépendre de la concentration dans la partie souterraine, il est lié au temps d'exposition de la plante. On peut supposer que plus le cycle de vie d'une plante est court, moins elle est susceptible d'être contaminée dans sa partie aérienne.

Nous avons vu que le taux de transpiration d'une plante pouvait influer sur le transfert de la CLD dans les tiges et feuilles d'une plante. Or le taux de transpiration d'une plante est directement lié à son métabolisme principalement avec la photosynthèse. En effet, cette réaction permettant la fixation du carbone chez les plantes est consommatrice d'eau. Or il existe plusieurs types de photosynthèse en fonction du type de plante : les plantes en C3, Les plantes en C4 et les plantes à Crassulacean Acid Metabolism (CAM) (Raven et al., 1999). La quantité d'eau nécessaire à la photosynthèse varie selon ces différents types de métabolismes.

Les plantes ayant un métabolisme en C3 sont des plantes adaptées aux milieux tempérés alors que les plantes à métabolisme en C4 et les plantes CAM sont des plantes bien adaptées aux milieux chauds et secs. Chez ces deux dernières, la plus grande efficacité de la photosynthèse permet à la plante de réduire l'ouverture de ses stomates, et indirectement d'augmenter son efficacité d'utilisation en eau (WUE), c'est-à-dire de diminuer sa transpiration.

Ainsi, pour 1 g de CO_2 fixé lors de la photosynthèse, les plantes CAM perdent entre 50 et 100 g d'eau, les plantes en C4 perdent de 250 à 300 g d'eau et les plantes en C3 perdent de 650 à 800 g d'eau (Taylor et al., 1983). Les plantes en C3 présentent donc un risque accru de transférer la CLD sous forme diluée dans la sève brute dans leurs parties aériennes, par rapport aux plantes en C4 ou CAM.

Du fait de la systémie xylémienne de la CLD, la contamination des plantes dépend alors aussi du nombre et de l'anatomie des faisceaux vasculaires. Les plantes vasculaires ou trachéophytes se sont différenciées des bryophytes au cours de l'évolution par l'apparition des faisceaux vasculaires. Ces derniers ont permis aux plantes de se développer en taille puisque ces tissus assurent un rôle de soutient, en plus du rôle de nutrition de la plante. Chez les

angiospermes (plantes à fleurs) on distingue les dicotylédones et les monocotylédones. L'organisation des faisceaux vasculaires n'est pas la même chez ces deux types de plantes.

Les graminées sont des plantes monocotylédones. Les faisceaux vasculaires sont nombreux et répartis dans tout le parenchyme de la tige. Ainsi, la CLD qui circule avec la sève brute peut contaminer l'ensemble de la tige par diffusion radiale. D'autre part, nous avons vu que la CLD se liait aux composés lipophiles et certainement plus particulièrement à la lignine (*Cf § II*) épaississant les parois cellulaires des faisceaux vasculaires. Cette répartition des faisceaux vasculaires peut expliquer des concentrations peu différentes entre la moelle et l'écorce des tiges de graminées.

Or, le nombre de faisceaux et leur épaississement dans une tige dépend de plusieurs facteurs. Chez le riz, il a été montré que le nombre de faisceaux vasculaires dépendait du génotype (Sherifi et al., 2012). D'autre part, il a aussi été montré chez le riz que les variétés résistantes à la verse avaient des tissus de soutien plus développés, et donc des faisceaux vasculaires plus larges avec des cellules du xylème plus épaissies que les variétés non résistantes (Yang et al., 2012). Ces variétés ont donc potentiellement une plus grande capacité à transférer la CLD dans leur partie aérienne que des variétés non résistantes à la verse. Cette différence phénotypique pourrait s'appliquer à d'autres plantes fourragères cultivées aux Antilles, comme les genres *Digitaria* ou *Cynodon*, ou l'espèce *Panicum maximum*. Ainsi cela pourrait aider à orienter un choix de culture sur un sol contaminé par la CLD.

Par ailleurs, les conditions de culture des plantes impactent directement leur développement, y compris au niveau histologique. Lorsque la densité de culture est élevée, les plantes sont en compétition pour les apports nutritifs, et le nombre de leurs faisceaux vasculaires dans les tiges est plus grand que pour une culture moins dense (Zhou et al., 2013). La fertilisation améliore le développement de la plante et favorise le développement des faisceaux conducteurs. Boghdady et Ali (2013) ont montré que l'utilisation de fertilisants augmentait le diamètre des tiges et donc du parenchyme incluant les îlots de faisceaux vasculaires et donc le nombre de ces faisceaux. Il a aussi été montré que la fertilisation azotée permettait d'augmenter significativement le rendement en grains et le contenu en protéine des grains, et que cela était directement corrélé au nombre de faisceaux vasculaires (Fang et al., 2012). D'autre part, graminées ont des tiges à chaumes pleins telles que la canne à sucre, le sorgho, le maïs, qui permettent le stockage d'assimilats carbonés, tandis que d'autres comme le blé ont un chaume creux ou fistuleux. Dans ces dernières, les faisceaux vasculaires sont donc

répartis en périphérie de la tige, ce qui diminue certainement leur nombre. Ainsi, la densité de culture et la fertilisation, le type de chaume, sont des paramètres pouvant jouer sur la densité de faisceaux vasculaires dans les plantes, et donc sur la capacité de transfert de la CLD par celles-ci. Tous ces paramètres constituent des éléments importants à prendre en compte lors de la culture de plantes sur des sols contaminés par la CLD, du choix de la variété à l'itinéraire de culture.

A côté du problème sanitaire de la contamination des végétaux de consommation engendré par la pollution des bassins versants antillais par la CLD, un autre problème d'autant plus important et complexe à résoudre est la remédiation de cette pollution. Des recherches sont effectuées depuis quelques années pour étudier la capacité des microorganismes du sol à dégrader la CLD. Bien que certaines pistes est soient apparues dans un premier temps favorables à l'utilisation d'un tel processus de dépollution, cette voie ne semble plus actuellement aussi prometteuse. De ce fait, des technologies qui avaient tout d'abord été laissées en marge des recherches reprennent un peu de vigueur : les phytotechnologies. L'utilisation des plantes dans le cadre de la dépollution est souvent perçue comme ne pouvant répondre à une situation de crise. Les processus impliqués sont en règle générale très longs et ne peuvent pas répondre à des situations où l'agent contaminant est en forte concentration dans le milieu. Dans cette optique d'utilisation des plantes, nos recherches sur les graminées permettent d'apporter quelques informations. Si l'on considère la possibilité d'utiliser des graminées en phytodépollution des sols contaminés par la CLD, nous pouvons orienter quelques pistes de sélection des plantes pour optimiser ce processus. Il faudrait sélectionner des plantes ayant un métabolisme en C3, puisque ces plantes ont un taux de transpiration plus élevé. D'autre part, la fertilisation et les conditions de culture (telles que la densité de tiges sur la parcelle) les plus favorables à la phytoextraction doivent être prises en comptes.

A l'heure actuelle, les plantes les plus utilisées en phytoremédiation sont le bambou et le roseau. Ce sont toutes deux des plantes au métabolisme en C3. De plus certaines espèces de bambou ont un grand diamètre de tige alors que le roseau à un diamètre de tige est moins important. Certains bambous se développent aussi très vite, et donc puisent plus vite les éléments du sol. Bien que la famille des bambous pourrait constituer un bon candidat en phytoremédiation de la CLD, ces plantes ont des tiges à chaumes fistuleux. Peut-être que des plantes possédant les mêmes caractéristiques que le bambou mais avec un chaume plein seraient d'autant plus efficace en phytoremédiation de la CLD.

Partie IV

CONCLUSION GENERALE ET PERSECTIVES

IV. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

A l'instar des organochlorés, la CLD est très persistante dans le sol. Elle présente de plus un risque non négligeable pour la santé humaine de par sa nature de perturbateur endocrinien reconnue et de sa cancérogénicité possible. Aux Antilles, son utilisation a conduit à une situation particulièrement difficile puisque la contamination s'est élargie à plusieurs niveaux de l'environnement (sols, eaux de surface, souterraines et côtières, chaînes alimentaires aquatiques et terrestres via les plantes). Cette contamination globale implique aujourd'hui plusieurs secteurs sociaux-économiques : l'agriculture et la pêche, les cultures vivrières domestiques, la santé humaine, le tourisme. Concernant la santé humaine, la principale source d'exposition aujourd'hui est la consommation de denrées alimentaires contaminées parmi lesquelles les plantes cultivées, en particulier les légumes-racines. D'un point de vue environnemental, les plantes herbacées qui constituent un des premiers maillons de la chaîne alimentaire représentent un point d'intérêt majeur dans le phénomène de bioamplification.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés au risque d'exposition alimentaire humaine par l'étude de la contamination de différents tubercules couramment consommés par la population antillaise et à la comparaison de la contamination de différentes graminées en se basant sur leur métabolisme et leur cycle de vie.

Deux voies d'entrée de la CLD ont été mises en évidence chez les légumes-racines : l'absorption racinaire et l'adsorption péridermique suivie de la diffusion trans-péridermique vers le tissu phloémien (**Fig. 49**). La CLD étant une molécule relativement lipophile, l'occurrence de ces voies est conditionnée par la composition des tissus qu'elles traversent, en particulier la teneur en constituants lipophiles, lipides et lignines. Les vaisseaux du xylème, dont les parois sont lignifiées, représentent la voie de transfert par absorption racinaire. Cette absorption est dépendante du flux d'évapotranspiration foliaire. La voie d'adsorption-diffusion trans-péridermique est dépendante des caractéristiques du périderme considéré (épaisseur, teneur en lipides, tortuosité) et du tissu accepteur, le parenchyme phloémien. Le flux de diffusion de la CLD au travers du périderme est corrélé au taux de lipides du parenchyme phloémien. De ce fait, la prépondérance d'une voie de contamination par rapport à l'autre est définie par la structure histologique du tubercule, mise en place lors de la

tubérisation, et par la structure elle-même de la plante, son architecture. En effet, l'organisation des organes, en particulier du tubercule, par rapport au circuit du xylème emprunté par la sève brute est déterminante dans la capacité de contamination du tubercule.

Ainsi, il a été montré chez le radis que l'adsorption et la diffusion trans-péridermique était la voie majeure de la contamination par la CLD. Le tubercule de radis possède un périderme fin et discontinu, qui ne constitue donc pas une barrière efficace au passage de la CLD. D'autre part, la tubérisation de ce légume se fait principalement par le développement de vaisseaux xylémiens et prolifération du parenchyme associé. Le volume de tissu phloémien est minoritaire.

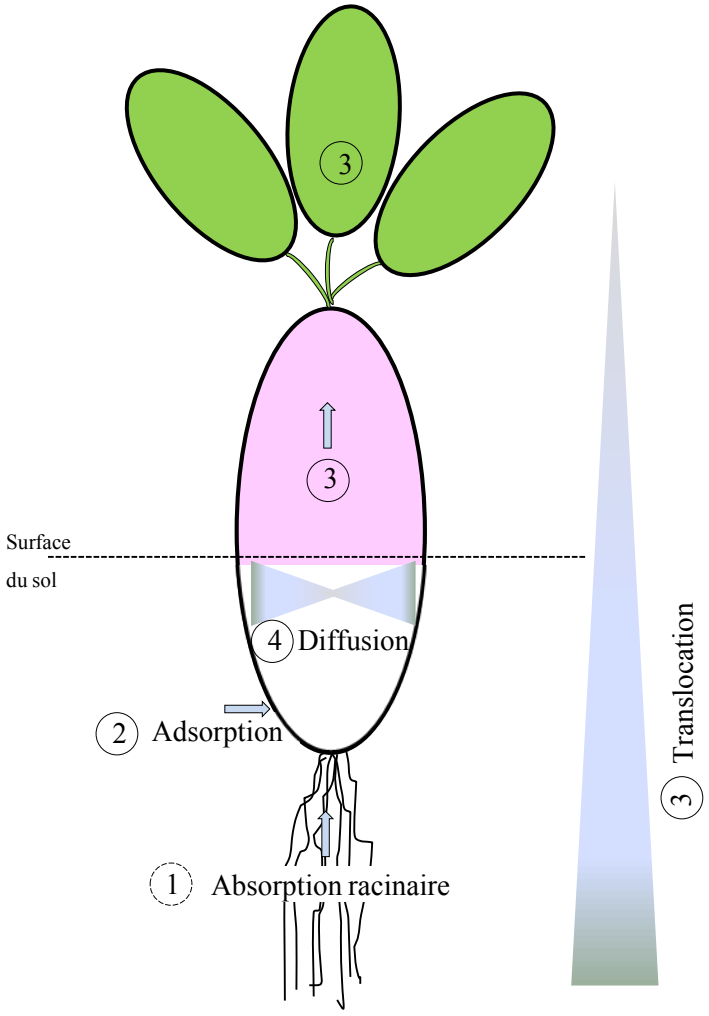


Fig. 49. Schéma général du transfert de la CLD dans les légumes-racines.

L'analyse des légumes-racines tropicaux, couramment consommés aux Antilles, indique des risques de contamination différents. Le cas de l'igname est particulier. Ce légume possède un périderme relativement épais à maturité, mais celui-ci s'épaissit en fait tout au cours de la croissance. Par conséquent, le périderme d'igname pourrait être relativement perméable au passage de la CLD. D'autre part, la position des racines principales dans le sol au-dessus du tubercule laissent à penser que la majorité du flux hydrique de la plante est court-circuitée au niveau du tubercule, et que l'alimentation en eau de celui-ci est probablement principalement fournie par les racines adventices bien développées chez cette plante. En outre, le grossissement du tubercule se fait par le développement à la fois du xylème et du phloème. De par ces deux constats, la proportion des vaisseaux xylémiens conducteurs de la sève brute est assez limitée chez l'igname. Ainsi, il se pourrait que la contamination de ce tubercule soit finalement relativement limitée. Dans le cas de la patate douce, l'importance de l'irrigation phloémienne du tubercule pourrait aussi limiter en partie le transfert de la CLD au sein de celui-ci. La contamination de la pomme de terre quant à elle est nécessairement majoritairement trans-péridermique, au vu du faible taux de vaisseaux xylémiens qui l'irriguent. A l'inverse, le manioc qui possède un périderme très épaissi et une grande proportion de vaisseaux xylémiens est certainement plus susceptible d'être contaminé dans sa chair interne par le courant d'évapotranspiration.

Afin de confirmer ces hypothèses, la culture de toutes ces plantes sur un sol contaminé par la CLD en conditions contrôlées, suivi du dosage de la molécule dans les différents organes des plantes, est nécessaire. Des dosages de lipides dans la chair des tubercules ont été réalisés afin d'avoir une première idée de la capacité de ces légumes à être contaminés par la CLD, en particulier via la diffusion trans-péridermique. Des expérimentations de transfert au travers des péridermes de ces différents tubercules sont nécessaires afin de confirmer ces hypothèses. Cela permettrait de calculer des flux de diffusion de la CLD au travers des différents péridermes, et ainsi de comparer les risques de contamination par adsorption-diffusion de chacun de ces légumes. D'autre part, le dosage des lipides dans la chair d'autres tubercules pourrait permettre un premier criblage du risque de contamination de ceux-ci. De même, le dosage de la lignine dans ces différents tubercules serait intéressant pour mieux évaluer le risque de contamination par la CLD des légumes-racines via la translocation xylémienne.

Aussi, puisque la contamination par la CLD des légumes-racines est dépendante de la proportion de tissus associés au xylème versus la proportion de tissus associés au phloème, l'utilisation de différentes hormones de croissances (auxines, cytokinines) lors de la culture de

légumes-racines sur du sol contaminé par la CLD pourrait faire varier ces proportions tissulaires et ainsi pourrait affecter la capacité de contamination de ces tubercules. Il serait donc intéressant de comparer les facteurs de transfert de la CLD dans un légume dont la croissance de tissus associés au xylème aurait été stimulée par rapport à ce même légume dont c'est le développement du parenchyme phloémien qui aurait été augmenté. Si le transfert est effectivement augmenté lorsque la part de tissus xylémiens est plus grande, le choix variétal, c'est-à-dire d'un phénotype particulier, lors de la culture sur un sol contaminé par la CLD serait primordial.

La contamination des parties aériennes des plantes par la CLD est le résultat de la translocation de la molécule des racines par le courant d'évapotranspiration foliaire. Ce mécanisme a été étudié chez des graminées présentant un métabolisme (C3/C4) et un cycle de vie (pérenne/annuel) différents. Les plantes en C3 ayant une efficacité d'utilisation de l'eau moins bonne (évapotranspiration plus importante) que les plantes en C4, il semblerait que ces plantes aient une meilleure capacité que les plantes en C4 à transférer la CLD dans leurs parties aériennes. En outre, la translocation vers les parties aériennes étant dépendante du taux de contamination du système racinaire, les plantes ayant une durée de vie longue, avec un système racinaire restant en place d'une année sur l'autre, sont plus aptes au transfert de la CLD dans leurs parties aériennes. A ce titre la canne à sucre, dont la culture est souvent réalisée sur d'anciennes bananeraies aux Antilles, est susceptible de transférer relativement efficacement la CLD dans ses parties aériennes. Ces deux caractéristiques, métabolisme et cycle de vie, peuvent constituer des critères de sélection de plantes pour la phytoremédiation. D'autre part, puisque la translocation de la CLD dans la partie aérienne d'une plante emprunte la voie xylémienne, dont les parois des cellules sont épaissies par la lignine, un dosage de ce polymère dans différentes plantes d'intérêt, en associant leur capacité à transférer la CLD, pourrait permettre de faire un criblage des plantes susceptibles d'être plus contaminées que d'autres par la CLD.

Chez les graminées, il serait aussi intéressant de comparer la capacité de contamination en fonction du système racinaire et du port de la plante. Par exemple, les plantes qui forment des touffes sont-elles capables d'extraire plus de CLD du sol que des plantes qui forment peu de talles ? Il serait aussi intéressant de savoir si la CLD peut, lorsqu'elle contamine le système racinaire d'une plante qui forme des stolons (racines aériennes), contaminer les nouvelles poussent par transfert via les stolons. De même chez les plantes à tubercules, il faudrait savoir dans quelle mesure les tubercules formés secondairement sont contaminés par transfert depuis

le système racinaire et/ou le tubercule initial. Ces informations complémentaires sur la capacité de la CLD à être transférée dans un type d'organe particulier chez une même plante nous renseigneraient sur les voies physiologiques et histologiques du transfert de la CLD dans les végétaux et nous permettraient de mieux appréhender le risque / la capacité de contamination d'une plante, ajoutant des critères morphologiques et histologiques dans la modélisation du transfert et donc permettraient d'affiner l'évaluation du risque d'exposition pour les plantes alimentaires et du risque environnemental.

Enfin, d'un point de vue sanitaire, les résultats de cette thèse nous amènent à considérer la question de la biodisponibilité de CLD transférée dans les plantes pour l'Homme et l'animal lors de la consommation de végétaux contaminés. Jusqu'à présent, aucun métabolite de la CLD n'a été trouvé chez les plantes et la lignine constitue le principal site de fixation de ce pesticide dans les plantes. Or la lignine ainsi que les résidus liés sont généralement très peu digestibles par les animaux et l'Homme. L'étude du devenir de la CLD lors du processus de digestion et ainsi du risque de toxicité constitue un enjeu sanitaire important. Il serait intéressant de déterminer si la CLD reste liée ou non ou si elle peut être hydrolysée, et par conséquent devenir biodisponible pour le consommateur. Ce risque de toxicité pour le consommateur dépend, au même titre que le transfert sol-plante, de la matrice plante. Une étude de biodisponibilité de la CLD chez l'animal pourrait permettre de mieux appréhender ce risque, en utilisant par exemple des végétaux contaminés par la CLD radiomarquée puis en mesurant la radioactivité dans les fluides des animaux qui auraient ingérés ces végétaux.

Bibliographie

A

Aislabie, J.M., Richards, N.K., Boul, H.L., 1997. Microbial degradation of DDT and its residues - A review. New Zealand Journal of Agricultural Research 40, 269-282.

Alavanja, M.C.R., Dosemeci, M., Samanic, C., Lubin, J., Lynch, C.F., Knott, C., Barker, J., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Coble, J., Thomas, K., Blair, A., 2004a. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. American Journal of Epidemiology 160, 876-885.

Alavanja, M.C.R., Hoppin, J.A., Kamel, F., 2004b. Health effects of chronic pesticide exposure: Cancer and neurotoxicity. Annual Review of Public Health 25, 155-197.

Alavanja, M.C.R., Samanic, C., Dosemeci, M., Lubin, J., Tarone, R., Lynch, C.F., Knott, C., Thomas, K., Hoppin, J.A., Barker, J., Coble, J., Sandler, D.P., Blair, A., 2003. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the agricultural health study cohort. American Journal of Epidemiology 157, 800-814.

Alsayeda, H., Pascal-Lorber, S., Nallanthigal, C., Debrauwer, L., Laurent, F., 2008. Transfer of the insecticide [C-14] imidacloprid from soil to tomato plants. Environmental Chemistry Letters 6, 229-234.

Arias-Estevez, M., Lopez-Periago, E., Martinez-Carballo, E., Simal-Gandara, J., Mejuto, J.-C., Garcia-Rio, L., 2008. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. Agriculture Ecosystems & Environment 123, 247-260.

Artschwager, E., 1924. Studies on the potato tuber. Journal of Agricultural Research 27, 809-835.

B

Barak, E., Jacoby, B., Dinoor, A., 1983. Adsorption of systemic pesticides on ground stems and in the apoplastic pathway of stems, as related to lignification and lipophilicity of the pesticides. Pesticide Biochemistry and Physiology 20, 194-202.

Barbour, J.P., Smith, J.A., Chiou, C.T., 2005. Sorption of aromatic organic pollutants to grasses from water. Environmental Science & Technology 39, 8369-8373.

Belehu, T., Hammes, P.S., Robbertse, P.J., 2004. The origin and structure of adventitious roots in sweet potato (*Ipomoea batatas*). Australian Journal of Botany 52, 551-558.

Boghdady, M.S., Ali, A.S., 2013. Comparison between effect of Azospirillum brasilense and Anabaena oryzae on growth, yield and anatomical characters of wheat plants. Journal of Applied Sciences Research 9, 627-637.

Bonvallot, N., Dor, F., 2004. Insecticides organochlorés aux Antilles : identidication des dangers et valeurs toxicologiques de références (VTR). Etat des connaissances. Institut de Veille Sanitaire (InVS), p. 52.

Boucher, O., Simard, M.-N., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Chajes, V., Dallaire, R., Monfort, C., Thome, J.-P., Multigner, L., Cordier, S., 2013. Exposure to an

organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. Neurotoxicology 35, 162-168.

BRGM, 2009. Examen des possibilités de traitement de la chlordécone dans les sols notamment sur les aires d'alimentation des captages d'eau potable - Rapport final. BRGM/RP-57708-FR, p. 368.

Briggs, G.G., 1981. Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol-water partition-coefficients, water solubilities, bioconcentration factors, and the parachor. Journal of Agricultural and Food Chemistry 29, 1050-1059.

Briggs, G.G., 1984. Factors affecting the uptake of soil applied chemicals by plants and other organisms. In: Hance, R. (Ed.). Symposium on soils and crop protection chemicals. British Crop Protection Council, Croydon, pp. 35-47.

Briggs, G.G., Bromilow, R.H., Evans, A.A., 1982. Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley. Pesticide Science 13, 495-504.

Burken, J.G., Schnoor, J.L., 1998. Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees. Environmental Science & Technology 32, 3379-3385.

C

Cabidoche, Y.M., Achard, R., Cattan, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J., 2009. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. Environmental Pollution 157, 1697-1705.

Cabidoche, Y.M., Clermont-Dauphin, C., Lafont, A., Sansoulet, J., Cattan, P., Achard, R., Caron, A., Chabrier, C., 2006. Stockage dans les sols à charges variables et dissipation dans les eaux de zoocides organochlorés autrefois appliqués en bananeraies aux Antilles : relation avec les systèmes de culture. Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, p. 100.

Cabidoche, Y.M., Lesueur-Jannoyer, M., 2012. Contamination of Harvested Organs in Root Crops Grown on Chlordecone-Polluted Soils. Pedosphere 22, 562-571.

Cabidoche, Y.M., Lesueur Jannoyer, M., 2011. Pollution durable des sols par la chlordécone aux Antilles : comment la gérer? Innovations Agronomiques 16, 117-133.

Calvelo Pereira, R., Camps-Arbestain, M., Rodriguez Garrido, B., Macias, F., Monterroso, C., 2006. Behaviour of alpha-, beta-, gamma-, and delta-hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site. Environmental Pollution 144, 210-217.

Calvelo Pereira, R., Monterroso, C., Macias, F., Camps-Arbestain, M., 2008. Distribution pathways of hexachlorocyclohexane isomers in a soil-plant-air system. A case study with *Cynara scolymus L.* and *Erica sp* plants grown in a contaminated site. Environmental Pollution 155, 350-358.

Campanella, B., Paul, R., 2000. Presence, in the rhizosphere and leaf extracts of zucchini (*Cucurbita pepo L.*) and melon (*Cucumis melo L.*), of molecules capable of increasing the apparent aqueous solubility of hydrophobic pollutants. International Journal of Phytoremediation 2, 145-158.

Cattan, P., 2012. CHLORDEXCO - Pollution des sols et des eaux par la chlordécone aux Antilles, conséquences sur la contamination des cultures et des organismes dulçaquicoles. In: ANR - Compte-rendu final de projet, P.A.-.-C.-.-. (Ed.). ANR.

Chhikara, S., Paulose, B., White, J.C., Dhankher, O.P., 2010. Understanding the Physiological and Molecular Mechanism of Persistent Organic Pollutant Uptake and Detoxification in Cucurbit Species (*Zucchini* and *Squash*). Environmental Science & Technology 44, 7295-7301.

Chu, W.K., Wong, M.H., Zhang, J., 2006. Accumulation, distribution and transformation of DDT and PCBs by *Phragmites australis* and *Oryza sativa L.*: I. Whole plant study. Environmental Geochemistry and Health 28, 159-168.

Coat, S., Bocquene, G., Godard, E., 2006. Contamination of some aquatic species with the organochlorine pesticide chlordecone in Martinique. Aquatic Living Resources 19, 181-187.

Coat, S., Monti, D., Legendre, P., Bouchon, C., Massat, F., Lepoint, G., 2011. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. Environmental Pollution 159, 1692-1701.

Coic, Y., Lesaint, C., 1973. Problems relating to NO3- and NH4+ nutrition in soilless culture. Proceedings, Third International Congress on Soilless Culture, Sassari 1973, 13-19.

Crepet, A., Tressou, J., Graillot, V., Bechaux, C., Pierlot, S., Heraud, F., Leblanc, J.C., 2013. Identification of the main pesticide residue mixtures to which the French population is exposed. Environmental research 126, 125-133.

D

Dallaire, R., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Guldner, L., Seurin, S., Chajes, V., Monfort, C., Boucher, O., Thome, J.P., Jacobson, S.W., Multigner, L., Cordier, S., 2012. Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. Environmental Research 118, 79-85.

Daniels, J.L., Olshan, A.F., Savitz, D.A., 1997. Pesticides and childhood cancers. Environmental Health Perspectives 105, 1068-1077.

Dawson, G.W., Weimer, W.C., S.J., S., 1979. Kepone - A case study of a persistent material. Water - American Institute of Chemical Engineers (AIChE) 75, 366 - 374.

Danzo, B.J., 1997. Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. Environmental Health Perspectives 105, 294-301.

De la Casa-Resino, I., Valdehita, A., Soler, F., Maria Navas, J., Perez-Lopez, M., 2012. Endocrine disruption caused by oral administration of atrazine in European quail (*Coturnix coturnix coturnix*). Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology 156, 159-165.

De Roos, A.J., Blair, A., Rusiecki, J.A., Hoppin, J.A., Svec, M., Dosemeci, M., Sandler, D.P., Alavanja, M.C., 2005. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the agricultural health study. Environmental Health Perspectives 113, 49-54.

Dettenmaier, E.M., Doucette, W.J., Bugbee, B., 2009. Chemical Hydrophobicity and Uptake by Plant Roots. Environmental Science & Technology 43, 324-329.

E

Engel, L.S., Hill, D.A., Hoppin, J.A., Lubin, J.H., Lynch, C.F., Pierce, J., Samanic, C., Sandler, D.P., Blair, A., Alavanja, M.C., 2005. Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. American Journal of Epidemiology 161, 121-135.

F

Fang, J., Zhang, B., Zhang, G., Chang, X., Wang, D., Yang, Y., 2012. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer application on grain yield and main stem vascular bundle of wheat. Journal of Triticeae Crops 32, 923-925.

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. The Journal of biological chemistry 226, 497-509.

Firon, N., LaBonte, D., Villordon, A., Kfir, Y., Solis, J., Lapis, E., Perlman, T.S., Doron-Faigenboim, A., Hetzroni, A., Althan, L., Nadir, L.A., 2013. Transcriptional profiling of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) roots indicates down-regulation of lignin biosynthesis and up-regulation of starch biosynthesis at an early stage of storage root formation. Bmc Genomics 14.

Freeman, L.E.B., Bonner, M.R., Blair, A., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Lubin, J.H., Dosemeci, M., Lynch, C.F., Knott, C., Alavanja, M.C.R., 2005. Cancer incidence among male pesticide applicators in the agricultural health study cohort exposed to diazinon. American Journal of Epidemiology 162, 1070-1079.

Fujisawa, T., Ichise, K., Fukushima, M., Katagi, T., Takimoto, Y., 2002. Mathematical model of the uptake of non-ionized pesticides by edible root of root crops. Journal of Pesticide Science 27, 242-248.

G

Gao, Y., Ling, W., 2006. Comparison for plant uptake of phenanthrene and pyrene from soil and water. Biology and Fertility of Soils 42, 387-394.

George, S.E., Claxton, L.D., 1988. Biotransformation of chlordecone by pseudomonas species. Xenobiotica 18, 407-416.

Golinska, H., 1928. Einige Beobachtungen über die Morphologie und Anatomie der Radieschenknolle. Die Gartenbauwissenschaf, 488-499.

Gouin, T., Mackay, D., Jones, K.C., Harner, T., Meijer, S.N., 2004. Evidence for the "grasshopper" effect and fractionation during long-range atmospheric transport of organic contaminants. Environmental Pollution 128, 139-148.

Graillot, V., Takakura, N., Le Hegarat, L., Fessard, V., Audebert, M., Cravedi, J.-P., 2012. Genotoxicity of pesticide mixtures present in the diet of the French population. Environmental and Molecular Mutagenesis 53, 173-184.

Grassley, F.E., 1932. The anatomy of the primary body of *Raphanus sativus*, L. *Unpublished M. S. Thesis*. University of Chicago.

Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G., 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. Environment International 26, 483-495.

H

Hantush, M.M., Marino, M.A., Islam, M.R., 2000. Models for leaching of pesticides in soils and groundwater. Journal of Hydrology 227, 66-83.

Hammond, B., Katzenellenbogen, B.S., Krauthammer, N., McConnell, J., 1979. Estrogenic activity of the insecticide chlordecone (kepone) and interaction with uterine estrogen-

receptors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 76, 6641-6645.

Harris, P.J., Ferguson, L.R., Roberton, A.M., McKenzie, R.J., White, J.B., 1992. Cell-wall histochemistry and anatomy of taro (*colocasia-esculenta*). Australian Journal of Botany 40, 207-222.

Hayward, H.E., 1938. The Structure of Economic Plants, New York.

Hong, W., 2012. Characterization of Corydalis (*Papaveraceae s. l.*) and Dioscorea (*Dioscoreaceae*) species: 1. Root anatomical characters. International Journal of Biology 4, 1-9.

Howard, P.H., 1991. Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals. Lewis Publishers, New-York.

Hulster, A., Muller, J.F., Marschner, H., 1994. Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family (*cucurbitaceae*). Environmental Science & Technology 28, 1110-1115.

I

INSERM, 2013. Pesticides - Effets sur la santé. In: INSERM (Ed.). Expertise collective. INSERM, p. 146.

INSERM, INVS, 2009. Impact sanitaire de l'utilisation du chlordécone aux Antilles françaises. p. 97.

INVS, 2011. Numéro thématique - Chlordécone aux Antilles : bilan actualisé des risques sanitaires. Bulletin épidémiologique hebdomadaire, pp 21-47.

J

Jondreville, C., Bouveret, C., Lesueur-Jannoyer, M., Rychen, G., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in laying hens (*Gallus domesticus*). Environmental Science and Pollution Research 20, 292-299.

K

Kenaga, E.E., 1980. Predicted bioconcentration factors and soil sorption coefficients of pesticides and other chemicals. Ecotoxicology and Environmental Safety 4, 26-38.

Koehne, J.M., Koehne, S., Simunek, J., 2009. A review of model applications for structured soils: b) Pesticide transport. Journal of Contaminant Hydrology 104, 36-60.

Kratzke, M.G., Palta, J.P., 1985. Evidence for the existence of functional roots on potato-tubers and stolons - significance in water transport to the tuber. American Potato Journal 62, 227-236.

L

Laini, A., Bartoli, M., Lamastra, L., Capri, E., Balderacchi, M., Trevisan, M., 2012. Herbicide contamination and dispersion pattern in lowland springs. Science of the Total Environment 438, 312-318.

Laurent, F.M., Rathahao, E., 2003. Distribution of [C-14]imidacloprid in sunflowers (*Helianthus annuus L.*) following seed treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 8005-8010.

Laycock, I., Cotterell, K.C., O'Shea-Wheller, T.A., Cresswell, J.E., 2014. Effects of the neonicotinoid pesticide thiamethoxam at field-realistic levels on microcolonies of *Bombus terrestris* worker bumble bees. Ecotoxicology and Environmental Safety 100, 153-158.

Laycock, I., Cresswell, J.E., 2013. Repression and Recuperation of Brood Production in *Bombus terrestris* Bumble Bees Exposed to a Pulse of the Neonicotinoid Pesticide Imidacloprid. Plos One 8.

Le Déaut, J.Y., Procaccia, C., 2009. Les impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides aux Antilles : bilan et perspectives d'évolution. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, p. 223.

Lee, W.J., Hoppin, J.A., Blair, A., Lubin, J.H., Dosemeci, M., Sandler, D.P., Alavanja, M.C.R., 2004. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. American Journal of Epidemiology 159, 373-380.

Lemaire, G., de Sousa, G., Rahmani, R., 2004. A PXR reporter gene assay in a stable cell culture system: CYP3A4 and CYP2B6 induction by pesticides. Biochemical Pharmacology 68, 2347-2358.

Lemaire, G., Mnif, W., Mauvais, P., Balaguer, P., Rahmani, R., 2006. Activation of alpha- and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. Life Sciences 79, 1160-1169.

Lesueur-Janoyer, M., Michel, S., 2009. Evaluation de la pollution par la chlordécone de la canne à sucre cultivée sur des parcelles polluées par la chlordécone. Rapport final projet DIREN. In: DIREN972 (Ed.). PRAM Martinique, Cirad, Martinique, p. 33.

Levillain, J., Cattan, P., Colin, F., Voltz, M., Cabidoche, Y.-M., 2012. Analysis of environmental and farming factors of soil contamination by a persistent organic pollutant, chlordecone, in a banana production area of French West Indies. Agriculture Ecosystems & Environment 159, 123-132.

Li, H., Sheng, G.Y., Chiou, C.T., Xu, O.Y., 2005. Relation of organic contaminant equilibrium sorption and kinetic uptake in plants. Environmental Science & Technology 39, 4864-4870.

Lichtenstein, E.P., 1980. "Bound" residues in soils and transfer of soil residues in crops. Residue reviews 76, 147-153.

Lulai, E.C., 2007. Skin-set, wound healing, and related defects. In: Vreugdenhil, D. (Ed.). Potato biology and biotechnology: advances and perspectives. The Netherlands: Elsevier Limited, Amsterdam, pp. 471-496.

Lulai, E.C., Freeman, T.P., 2001. The importance of phellogen cells and their structural characteristics in susceptibility and resistance to excoriation in immature and mature potato tuber (*Solanum tuberosum L.*) periderm. Annals of Botany 88, 555-561.

Lunney, A.I., Zeeb, B.A., Reimer, K.J., 2004. Uptake of weathered DDT in vascular plants: Potential for phytoremediation. Environmental Science & Technology 38, 6147-6154.

M

Macherius, A., Eggen, T., Lorenz, W.G., Reemtsma, T., Winkler, U., Moeder, M., 2012. Uptake of Galaxolide, Tonalide, and Triclosan by Carrot, Barley, and Meadow Fescue Plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60, 7785-7791.

Mackay, D., Shiu, W.Y., Ma, K.C., 1997. Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Volume 5: pesticide chemicals.

Mahajan, R., Blair, A., Lynch, C.F., Schroeder, P., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Alavanja, M.C.R., 2006. Fonofos exposure and cancer incidence in the Agricultural Health Study. Environmental Health Perspectives 114, 1838-1842.

Martin, F.W., Ortiz, S., 1963. Origin and Anatomy of Tubers of *Dioscorea floribunda* and *D. spiculiflora.* Botanical Gazette 124, 416-421.

Mattina, M.J.I., Iannucci-Berger, W., Dykas, L., 2000. Chlordane uptake and its translocation in food crops. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 1909-1915.

McCoy, K.A., Bortnick, L.J., Campbell, C.M., Hamlin, H.J., Guillette, L.J., Jr., St. Mary, C.M., 2008. Agriculture Alters Gonadal Form and Function in the Toad *Bufo marinus*. Environmental Health Perspectives 116, 1526-1532.

Meijer, S.N., Ockenden, W.A., Sweetman, A., Breivik, K., Grimalt, J.O., Jones, K.C., 2003. Global distribution and budget of PCBs and HCB in background surface soils: Implications or sources and environmental processes. Environmental Science & Technology 37, 667-672.

Miglioranza, K.S.B., de Moreno, J.E.A., Moreno, V.J., 2004. Organochlorine pesticides sequestered in the aquatic macrophyte *Schoenoplectus californicus* (C.A. Meyer) Sojak from a shallow lake in Argentina. Water Research 38, 1765-1772.

Mikes, O., Cupr, P., Trapp, S., Klanova, J., 2009. Uptake of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides from soil and air into radishes (*Raphanus sativus*). Environmental Pollution 157, 488-496.

Moisan, F., Elbaz, A., 2011. Parkinson disease and pesticide exposure. Environnement Risques & Sante 10, 372-384.

Mollot, G., Tixier, P., Lescourret, F., Quilici, S., Duyck, P.-F., 2012. New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem. Agricultural and Forest Entomology 14, 317-323.

Multigner, L., 2007. Endocrinian disruption and anomalies of a masculine genital apparatus. Environnement Risques & Sante 6, 5-7.

Multigner, L., Ndong, J.R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Jegou, B., Thome, J.P., Blanchet, P., 2010. Chlordecone Exposure and Risk of Prostate Cancer. Journal of Clinical Oncology 28, 3457-3462.

N

Nasterlack, M., 2006. Do pesticides cause childhood cancer? International Archives of Occupational and Environmental Health 79, 536-544.

NCI, 1976. Report on the carcinogenesis bioassay of technical grade chlordecone (kepone). In: Carcinogenesis (Ed.). Technical Report Series, p. 30.

O

Orndorff, S.A., Colwell, R.R., 1980. Microbial transformation of Kepone. Applied and Environmental Microbiology 39, 398-406.

ORP, 2010. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France. p. 354.

Ottinger, M.A., Lavoie, E.T., Thompson, N., Bohannon, M., Dean, K., Quinn Jr, M.J., 2009. Is the gonadotropin releasing hormone system vulnerable to endocrine disruption in birds? General and Comparative Endocrinology 163, 104-108.

Ottinger, M.A., Quinn Jr, M.J., Lavoie, E., Abdelnabi, M.A., Thompson, N., Hazelton, J.L., Wu, J.M., Beavers, J., Jaber, M., 2005. Consequences of endocrine disrupting chemicals on reproductive endocrine function in birds: Establishing reliable end points of exposure. Domestic Animal Endocrinology 29, 411-419.

P

Palmiter, R.D., Mulvihill, E.R., 1978. Estrogenic activity of insecticide kepone on chicken oviduct. Science 201, 356-358.

Palta, J.P., 2010. Improving Potato Tuber Quality and Production by Targeted Calcium Nutrition: the Discovery of Tuber Roots Leading to a New Concept in Potato Nutrition. Potato Research 53, 267-275.

PRAM, 2011. Remédiation à la pollution par la chlordécone aux Antilles. Les Cahiers du PRAM, pp 24-30.

R

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 1999. Biologie Végétale. W. H. Freeman and Company/Worth Publishers.

Reeve, R.M., Hautala, E., Weaver, M.L., 1969. Anatomy and compositional variation within potatoes. American Potato Journal 46, 361-373.

Regnault-Roger, C., Ribodeau, M., Hamraoui, A., Bareaua, I., Blanchard, P., Gil-Munoz, M.I., Barberan, F.T., 2004. Polyphenolic compounds of Mediterranean *Lamiaceae* and investigation of orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Alsayeda et al.). Journal of Stored Products Research 40, 395-408.

Ritz, B., Yu, F., 2000. Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California 1984-1994. Int. J. Epidemiol. 29, 323-329.

Rocheleau, S., Lachance, B., Kuperman, R.G., Hawari, J., Thiboutot, S., Ampleman, G., Sunahara, G.I., 2008. Toxicity and uptake of cyclic nitrarnine explosives in ryegrass *Lolium perenne*. Environmental Pollution 156, 199-206.

Rusiecki, J.A., De Roos, A., Lee, W.J., Dosemeci, M., Lubin, J.H., Hoppin, J.A., Blair, A., Alavanja, M.C.R., 2004. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the agricultural health study. Journal of the National Cancer Institute 96, 1375-1382.

S

San Miguel, A., Ravanel, P., Raveton, M., 2013. A comparative study on the uptake and translocation of organochlorines by *Phragmites australis*. Journal of hazardous materials 244, 60-69.

Sandermann, H., 2004. Bound and unextractable pesticidal plant residues: chemical characterization and consumer exposure. Pest Management Science 60, 613-623.

Sandermann, H.J., Scheel, D., Trenck, T.v.d., 1983. Metabolism of environmental chemicals by plants - copolymerization into lignin.

Schafer, W., Sandermann, H., 1988. Metabolism of pentachlorophenol in cell-suspension cultures of wheat (*Triticum-aestivum L*) - tetrachlorocatechol as a primary metabolite. Journal of Agricultural and Food Chemistry 36, 370-377.

Schwab, A.P., Al-Assi, A.A., Banks, M.K., 1998. Adsorption of naphthalene onto plant roots. Journal of Environmental Quality 27, 220-224.

Sheets, T.J., 1961. Uptake and Distribution of Simazine by Oat and Cotton Seedlings. Weeds 9, 1-13.

Sherifi, E., Kraljevic-Balalic, M., Shabani, N., 2012. Some anatomical characters of stem and spike in different wheat genotypes. International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES) 2, 333-336.

Shimizu, K., Murayama, H., Nagai, A., Shimada, A., Hatamachi, T., Kodama, T., Kitayama, Y., 2005. Degradation of hydrophobic organic pollutants by titania pillared fluorine mica as a substrate specific photocatalyst. Applied Catalysis B-Environmental 55, 141-148.

Shone, M.G.T., Bartlett, B.O., Wood, A.V., 1974. A comparison of the uptake and translocation of some organic herbicides and a systemic fungicide by barley. 2. Relationship between uptake by roots and translocation to shoots. Journal of Experimental Botany 25, 401-409.

Shone, M.G.T., Wood, A.V., 1974. A comparison of the uptake and translocation of some organic herbicides and a systemic fungicide by barley. 1. Absorption in relation to pysico-chemical properties. Journal of Experimental Botany 25, 390-400.

Simonich, S.L., Hites, R.A., 1995. Global distribution of persistent organochlorine compounds. Science 269, 1851-1854.

Sweetman, A.J., Dalla Valle, M., Prevedouros, K., Jones, K.C., 2005. The role of soil organic carbon in the global cycling of persistent organic pollutants (POPs): interpreting and modelling field data. Chemosphere 60, 959-972.

T

Takakura, N., Sanders, P., Fessard, V., Le Hegarat, L., 2013. In vitro combined cytotoxic effects of pesticide cocktails simultaneously found in the French diet. Food and Chemical Toxicology 52, 153-162.

Taylor, J.R., 1982. Neurological manifestations in humans exposed to chlordecone and follow-up results. Neurotoxicology 3, 9-15.

Taylor, H.M., Jordan, W.R., Sinclair, T.R., 1983. Limitations to the efficient water use in crop production. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

Togari, Y., 1950. A study of tuberous root formation in sweet potato. Bulletin of the National Agricultural Experiment Station of Tokyo 68, 1-96.

Trapp, S., 2004. Plant uptake and transport models for neutral and ionic chemicals. Environmental Science and Pollution Research 11, 33-39.

Trapp, S., 2007. Fruit Tree model for uptake of organic compounds from soil and air. Sar and Qsar in Environmental Research 18, 367-387.

U

UNEP-Chemicals, 2004. United Nation Environment Programme. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, Stockholm.

UNEP, 2006. Rapport du comité d'étude des polluants organiques persistants sur les travaux de sa deuxième réunion : descriptif des risques liés au chlordécone. Programme des Nations Unies pour l'Environnement, UNEP/POPS/POPRC.2/17/Add.2, Genève, p. 32.

V

Van Maele-Fabry, G., Willems, J.L., 2004. Prostate cancer among pesticide applicators: a meta-analysis. International Archives of Occupational and Environmental Health 77, 559-570.

Villordon, A.Q., La Bonte, D.R., Firon, N., Kfir, Y., Pressman, E., Schwartz, A., 2009. Characterization of Adventitious Root Development in Sweetpotato. Hortscience 44, 651-655.

Vinatier, F., Duyck, P.F., Mollot, G., Tixier, P., 2010. Spatial ecology of *Cosmopolites sordidus* in banana field landscapes. IOBC/WPRS Bulletin 56, 139-142.

W

Weiss, T.F. (Ed.), 1996. Transport. The MIT Press, Cambridge, MA.

White, J.C., 2010. Inheritance of p,p '-DDE Phytoextraction Ability in Hybridized Cucurbita pepo Cultivars. Environmental Science & Technology 44, 5165-5169.

White, J.C., Mattina, M.I., Lee, W.Y., Eitzer, B.D., Iannucci-Berger, W., 2003. Role of organic acids in enhancing the desorption and uptake of weathered p,p '-DDE by Cucurbita pepo. Environmental Pollution 124, 71-80.

Wild, E., Dent, J., Thomas, G.O., Jones, K.C., 2005. Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots. Environmental Science & Technology 39, 3695-3702.

Willett, K.L., Ulrich, E.M., Hites, R.A., 1998. Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. Environmental Science & Technology 32, 2197-2207.

Wilson, L.A., Lowe, S.B., 1973. The anatomy of the root system in West Indian sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) cultivars. Annals of Botany 37, 633-643.

Woignier, T., Morell, M., Morell, O., Duffours, L., Soler, A., 2011. Low water transport in fractal microstructure of tropical soils: application to chlordecone pesticide trapping. Ecohydrology and Hydrobiology 11, 121-128.

Y

Yang, Y., Zhu, Z., Zhang, Y., Zhao, Q., Zhou, L., Wang, C., 2012. Relationship between anatomic structure of the stem and lodging resistance of rice. Guangxi Zhiwu / Guihaia 32, 834-839.

Z

Zahm, S.H., Ward, M.H., 1998. Pesticides and childhood cancer. Environmental Health Perspectives 106, 893-908.

Zhang, R.D., Krzyszowska-Waitkus, A.J., Vance, G.F., Qi, J.G., 2000. Pesticide transport in field soils. Advances in Environmental Research 4, 59-68.

Zhou, Y., Shi, Z., LuDeGui, Wang, Y., Wang, N., 2013. Effects of planting densities on basal stem vascular bundles and root bleeding sap of different density-tolerant maize cultivars. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica 33, 518-526.