

Évaluation de la toxicité de l'antracène sur les végétaux Mise au point de deux tests biologiques visant à mesurer l'absorption de l'antracène par des racines transformées de *Calystegia sepium* (L.) Brown et *Medicago sativa* L.

Bruno Campanella, Dominique Perrin

Unité de Biologie végétale. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2, B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail: perrin@fsagx.ac.be

Reçu le 13 mai 1997, accepté le 3 juillet 1997.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants que l'on peut retrouver dans tous les constituants d'un écosystème aussi bien aquatique que terrestre. Leur accumulation dans les sols, les sédiments et les êtres vivants y cause des perturbations importantes. Dans ce travail, deux tests *in vitro* ont été mis au point, utilisant des racines transformées comme modèle biologique. Ils visent à mesurer le transfert de l'antracène d'un milieu de culture liquide ou gélosé vers la racine transformée. La méthode de dosage utilisée repose sur l'emploi d'antracène marqué au ^{14}C . Les concentrations en antracène testées sont de 0, 5, 10 et 100 ppb vol. en milieu liquide et 0, 10 et 100 ppb vol. en milieu gélosé. En ce qui concerne les essais d'absorption du polluant en milieu liquide, deux résultats principaux doivent être cités. D'une part, les valeurs du facteur de concentration calculées sont très fortes. La racine transformée de *Calystegia sepium* est 50 à 60 fois plus concentrée en antracène marqué que le milieu dans lequel elle croît. D'autre part, aucune phytotoxicité de l'antracène n'est mise en évidence, quelle que soit sa concentration dans le milieu. En ce qui concerne l'absorption et la métabolisation de l'antracène en milieu gélosé, les essais n'ont pas non plus mis en évidence d'effet phytotoxique du produit. Les valeurs du facteur de concentration de l'HAP par la racine sont plus faibles qu'en milieu liquide. On observe une concentration 2 à 3 fois supérieure en antracène dans les racines de *Calystegia sepium* et 10 à 18 fois supérieure dans les racines de *Medicago sativa* par rapport aux milieux dans lesquels elles croissent. Ces valeurs élevées sont discutées par rapport aux essais effectués sur plante entière. La métabolisation du polluant par les racines est mise en évidence, mais en très faible proportion.

Mots-clés. Antracène, hydrocarbure, polluant, écotoxicité, phytotoxicité, racine, culture *in vitro*.

Evaluation of anthracene toxicity on plants. Development of two biotests to measure the absorption of anthracene by transformed roots of *Calystegia sepium* (L.) Brown and *Medicago sativa* L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are pollutants found in all parts of both aquatic and terrestrial ecosystems. Their accumulation in soils, sediments and living organisms causes important troubles. In this work, we developed two *in vitro* tests to measure the transfer of anthracene from liquid or gelled culture media to transformed roots as biological model. Assays are based on the use of radiolabeled ^{14}C -anthracene, at levels of 0, 5, 10 and 100 ppb vol. in liquid media and at 0, 10 and 100 ppb vol. in gelled media. In the case of absorption trials of pollutant from liquid media, there are two major results. First, the root concentration factors (RCF) are much higher than cited in the literature. Transformed roots of *Calystegia sepium* show an anthracene concentration of 50 to 60 times that of their growth medium. Second, no phytotoxicity of anthracene was detectable at all concentration levels tested. In the case of absorption and metabolization of anthracene from gelled media, trials show no phytotoxic effects due to anthracene. Moreover lower root concentration factors are observed than with liquid medium: the RCF is equivalent to 2 to 3 for roots of *Calystegia sepium* and from 10 to 18 for roots of *Medicago sativa*. These high values are discussed in comparison with trials on whole plants. Evidence is given for a very low but detectable metabolization level.

Keywords. Anthracene, pollutant, ecotoxicity, phytotoxicity, roots, *in vitro* culture.

INTRODUCTION

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des molécules formées de noyaux benzéniques accolés. Leurs propriétés physico-chimiques dépendent

principalement de leur masse moléculaire, de la disposition des cycles dans l'espace et du volume moléculaire ainsi défini. La masse moléculaire de l'antracène est de 178,22. Il n'est formé que de trois cycles benzéniques (**Figure 1**), mais est pourtant

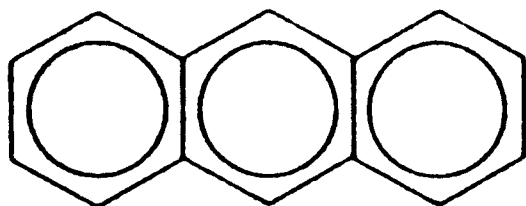


Figure 1. Représentation moléculaire de l'antracène —
Molecular representation of anthracene.

hydrophobe. Le \log_{10} de son coefficient Kow vaut 4,54. La limite de solubilité de l'antracène dans l'eau est de $7,5 \cdot 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Les principales sources d'HAP sont d'origine anthropique. On peut citer par exemple tous les phénomènes de combustion incomplète, la transformation et l'utilisation des produits pétroliers et l'utilisation de la créosote (Menzie *et al.*, 1992). Ces composés peuvent se retrouver dans tous les éléments constitutifs des écosystèmes aussi bien aquatiques que terrestres. Ils s'accumulent dans les chaînes trophiques, perturbant les équilibres naturels. En particulier, certains HAP sont cancérigènes pour l'homme. En conséquence, les législations ont fixé des seuils stricts de contamination des sols et des milieux aquatiques. Le **tableau 1** reprend, à titre d'exemple, les valeurs de ces seuils pour les Pays-Bas. La littérature disponible ne fournit pas de données équivalentes pour la Belgique.

On dispose actuellement de peu d'informations quant à la toxicité des HAP vis-à-vis des végétaux supérieurs ainsi que sur les mécanismes par lesquels ils sont prélevés par les plantes. Ces questions sont pourtant de première importance dans les cas où les techniques d'épuration par lagunage à macrophytes sont utilisées, ou pour la réhabilitation de dépôts de boues de dragage. Les objectifs de cette étude sont d'évaluer les effets de l'antracène sur les végétaux et d'en mesurer l'absorption par les racines.

Les tests d'écotoxicité en milieu aqueux utilisent généralement comme modèle biologique des cultures cellulaires (Langebartels, Harms, 1986) ou des algues (Ntema Kiyayila, 1993). Ils sont bien adaptés aux polluants ayant une solubilité suffisante dans l'eau. L'étude des polluants hydrophobes comme les HAP nécessite des techniques particulières. Ils s'accumulent en effet dans les sols et les sédiments sur lesquels ils s'adsorbent. Il est donc pertinent d'utiliser comme modèle biologique des organismes terrestres. Les deux principales voies d'entrée du polluant dans la plante sont le système racinaire et le feuillage. Les HAP se trouvent, dans l'atmosphère, en partage entre la phase particulaire et la phase gazeuse. Les HAP de faible poids moléculaire, plus volatils, prédominent dans la phase gazeuse. Le transport de particules, sur lesquelles les HAP lourds sont préférentiellement adsorbés, constitue la voie principale de leur dispersion dans l'environnement. Finalement, les HAP les plus volatils arrivent au contact de la plante principalement au niveau cuticulaire tandis que les autres se concentrent dans les sols et les sédiments des cours d'eau (Simonich, Hites, 1995).

Les tests décrits ici utilisent des racines transformées en milieu stérile pour modéliser le système racinaire et sont menés en complémentarité avec des tests sur plante entière.

Les racines transformées de *Calystegia sepium* (L.) Brown et de *Medicago sativa* L. sont cultivées en milieux liquides et gélosés. Le principe de l'obtention de ces racines transformées repose sur l'inoculation d'une bactérie phytopathogène, *Agrobacterium rhizogenes*, aux cellules de la plante (Tepfer, 1989). Le micro-organisme transforme les cellules végétales en y insérant une partie de son génome. Cela provoque une perturbation des équilibres hormonaux, qui entraîne la formation de racines à croissance et ramification intenses. Une fois excisé et remis en culture, chaque apex fournit un clone racinaire génétiquement stable. L'expérimentateur dispose ainsi d'un matériel biolo-

Tableau 1. Normes néerlandaises de concentrations en HAP dans le sol et les eaux souterraines (Wilson, Jones, 1993) —
Dutch standards of PAH concentrations in soil and groundwaters.

	Concentration dans le sol ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ matière sèche)			Concentration dans les eaux souterraines ($\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)		
	A	B	C	A	B	C
Antracène	0,05	10	100	0,02	3	10
Benzo(a)-pyrène	0,025	1	10	0,001	0,2	1
HAP totaux	—	20	200	—	10	40

A = niveau constituant l'objectif à atteindre — *final goal level*;

B = seuil entraînant une étude approfondie du site — *threshold level for a thorough site study*;

C = seuil entraînant une action d'assainissement — *threshold level for remediation*.

gique facilement et rapidement multipliable aussi bien en milieu liquide que sur gel d'agarose, ce qui n'est pas toujours possible dans le cas des racines excisées. *Calystegia sepium* a été utilisée pour sa bonne résistance aux stress, mise en évidence lors d'essais préliminaires. La facilité avec laquelle ses racines transformées croissent dans divers types de milieu en fait un matériel de choix lors des phases de mise au point des tests. *Medicago sativa* a, quant à elle, été utilisée de façon à mettre en parallèle les tests sur racines transformées et ceux réalisés sur plantes entières.

Le transfert de l'anthracène vers la racine est étudié en utilisant la technique du marquage radioactif. Un test simple et rapide en milieu liquide vise à quantifier l'absorption du polluant par la racine. Un second, plus long et complexe, permet de mesurer l'absorption de l'anthracène en milieu gélosé et de mettre en évidence sa métabolisation par la racine. Les objectifs de ces deux tests sont donc complémentaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Utilisation des racines transformées

La culture de la racine se fait en erlenmeyer ou en boîte de Petri. *Calystegia sepium* pousse sur milieu de Monnier (1976), tandis que *Medicago sativa* pousse sur une version modifiée (diminution de l'azote total par 5) du milieu de Murashige et Skoog (1962). Après inoculation, les erlenmeyers sont placés à l'obscurité sur un agitateur (90 translations par minute). Le support gélosé permettant des échanges gazeux plus aisés pour les racines, les boîtes de Petri peuvent être stockées sans agitation ou aération particulière, à l'obscurité. La température est maintenue à 24–25 °C.

En milieu liquide, la croissance est suivie par des observations quotidiennes (suivi plutôt qualitatif de la croissance) et des prélèvements avec pesée (suivi quantitatif en termes de matière fraîche, m.f., et de matière sèche, m.s., produites par erlenmeyer). Lors de ces prélèvements, le pH et la conductivité des milieux sont mesurés. En ce qui concerne la culture sur gel d'agar-agar, les conditions de croissance sont comparables. Son suivi se fait par des observations quotidiennes (description et photo des cultures) et des prélèvements avec pesée (m.f. et m.s.).

Ces cultures fournissent les inoculums utilisés dans les essais. Ils sont constitués de fragments racinaires constants en masse, volume, nombre de ramifications et vigueur apparente. L'inoculation d'un milieu particulier se fait par un fragment racinaire déjà cultivé sur un même type de milieu. Des précautions supplémentaires sont prises dans le cas des milieux liquides.

Il faut en effet permettre aux inoculums de cicatiser les plaies dues à la découpe avant d'être mis en contact avec le polluant.

Utilisation de molécules marquées au ^{14}C

Aux concentrations testées (5 à 100 ppb vol., parts par billion en volume, équivalant ici à des $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$), se pose le problème de la sensibilité des méthodes de dosage. Les méthodes chimiques classiques présentent des seuils de détection supérieurs aux concentrations que l'on peut s'attendre à retrouver dans les végétaux. D'autre part, nous voulons pouvoir suivre l'absorption de l'anthracène par la racine et rechercher si le polluant peut être catabolisé par celle-ci. Toutes ces raisons expliquent le recours à la technique des molécules marquées au ^{14}C . Lors d'essais ultérieurs, elle pourrait permettre d'identifier et de localiser les métabolites intermédiaires de l'anthracène.

L'anthracène marqué ([side ring- ^{14}C] anthracene, $63 \mu\text{Ci} \cdot \text{mg}^{-1}$) a été obtenu auprès d'Amersham Int., Great Britain. La méthode de dosage de la radioactivité utilisée pour les échantillons de racines, de milieu nutritif, ou d'autres solutions, consiste en un comptage en scintillation liquide (LSC, Liquid Scintillation Counting). Le compteur est de marque Beckman, type LS 7500. La solution scintillante utilisée est l'Ecoscint A (National Diagnostics). Le mode opératoire varie en fonction de l'état physique de l'échantillon.

Les liquides (milieux nutritifs, solvants d'extraction, solutions de rinçage des racines, solutions de soude pour la capture du $^{14}\text{CO}_2$) sont directement mélangés à l'Ecoscint A dans les proportions 1:15 (échantillon : liquide scintillant). La solution de NaOH 2N nécessite à cet égard une neutralisation partielle dans le liquide de scintillation. Des précautions sont prises avant les mesures pour éviter le phénomène de phosphorescence. Des essais sont toujours en cours pour améliorer le comptage de la radioactivité de cette solution de soude ou pour la remplacer dans la capture du $^{14}\text{CO}_2$.

Aux solides (milieux gélosés et racines transformées), on ajoute 1 ml de méthanol avant de placer les 10 ml de solution scintillante. Leur masse est d'environ 500 mg et le diamètre racinaire est de l'ordre du millimètre. De plus, ces échantillons sont transparents ou blanchâtres. L'énergie des photons β émis par le ^{14}C contenu dans de tels substrats minces est suffisante pour être mesurée directement dans la solution scintillante. L'étape de calcination, utilisée pour les sols et les plantes entières (Struyve, 1996) n'est donc pas nécessaire dans le cadre de ces deux tests.

Principe de l'essai en milieu liquide

Le but de cet essai est de mesurer la part de l'anthracène que la racine prélève dans le milieu liquide enrichi sur une période de 4 jours.

Le milieu liquide est enrichi lorsqu'il est encore chaud (40–50 °C) par ajout d'une solution d'anthracène dans du dichlorométhane (solution stock à 63,5 g · l⁻¹). Le solvant s'évapore progressivement durant l'agitation. Le milieu est alors réparti dans les flacons de culture. L'activité de départ des milieux est mesurée sur trois échantillons. La concentration effective en anthracène est calculée sur base de l'activité spécifique du produit marqué. Chaque flacon reçoit finalement un inoculum racinaire. Les flacons de culture sont mis à incuber sur agitateur et à l'obscurité. La disposition des objets sur l'agitateur est de type complètement aléatoire, les conditions de température (23–26 °C), agitation et obscurité étant considérées comme parfaitement homogènes.

Après incubation, on retire la racine du milieu liquide et on la rince deux fois par 10 ml d'une solution Tween 80 à 1 g · l⁻¹. Sur le milieu nutritif, on réalise deux extractions liquide-liquide successives par 25 ml de cyclohexane. Le comptage direct du milieu aqueux est, en effet, peu fiable. On prélève enfin des échantillons de racines, de milieu (pour contrôle) et de solutions de rinçage et d'extraction devant passer en LSC.

Principe de l'essai en milieu gélosé

Le but premier de cet essai est de mesurer les quantités d'anthracène absorbées par la racine dans un milieu gélosé enrichi. On peut, de plus, évaluer la phytotoxicité de l'anthracène aux concentrations de 10 et 100 ppb vol. ainsi que la production de ¹⁴CO₂ par les racines transformées. Le mode d'enrichissement est comparable à celui décrit au point précédent. La solution d'anthracène marqué est apportée au milieu avant sa répartition dans les boîtes de Petri.

Les boîtes de Petri correspondant à l'essai d'une même concentration sont réparties dans une enceinte occultée. L'atmosphère de cette enceinte est renouvelée par pompage (6 fois 1 minute toutes les heures au débit de 50 l · h⁻¹). L'air pompé passe dans deux barboteurs successifs où une solution de NaOH 2N capture le CO₂ formé dans les enceintes. Les conditions de température, obscurité et aération y sont homogènes. La solution de soude est renouvelée chaque semaine. Deux à trois fois par semaine, on prélève des aliquotes de cette solution de soude pour suivre la production de ¹⁴CO₂ au cours du temps.

Le prélèvement des racines après les 21 jours d'incubation se fait en deux temps. La première étape

consiste à récolter les parties de racines transformées ne touchant pas la gélose pour éviter une contamination radioactive qui fausserait le comptage. Dans un second temps, on récolte tout le reste de la culture racinaire pour mesurer la matière fraîche totale produite. Le pourcentage en matière sèche est déterminé par séchage de racines cultivées dans les enceintes sur des milieux enrichis en anthracène non marqué. La radioactivité est dosée par LSC sur les échantillons de racine et de gélose.

Résultats et discussion

Nous avons donc mesuré les quantités d'anthracène que des racines transformées absorbent dans deux types de milieux nutritifs, l'un liquide et l'autre gélosé. Le rapport entre les concentrations en anthracène dans la racine et dans le milieu nous donne le facteur de concentration par la racine ou RCF (Root Concentration Factor) :

$$\text{RCF} = \frac{\text{concentration dans la racine (mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ m.f.)}}{\text{concentration dans le milieu (mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ m.f.)}}$$

L'absence de parties vertes assure que le RCF est bien lié à une absorption racinaire.

En milieu liquide, après 4 jours d'incubation, aucune différence de croissance n'est mise en évidence entre les racines de *Calystegia sepium* poussant en

Croissance de *Calystegia sepium* en fonction de la concentration en anthracène dans le milieu liquide

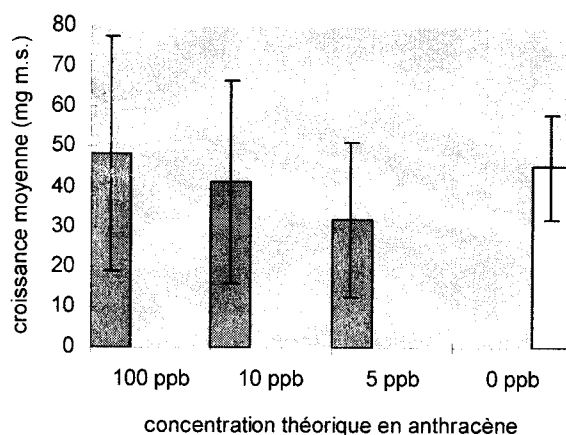


Figure 2. Croissance en matière sèche de *Calystegia sepium* en fonction de la concentration en anthracène, au cours de l'essai préliminaire. (⊥ : coefficient de variation en % de la moyenne, valeur approchée) — *Growth in dry matter of Calystegia sepium as a function of anthracene concentration in the preliminary trial.*

milieu contaminé et les témoins (**Figure 2**). On peut remarquer la forte variabilité des résultats de croissance. Elle est due essentiellement au comportement des inoculums. Deux fragments de racine de taille, masse et aspect identiques peuvent montrer des croissances très différentes, y compris dans les témoins.

Les valeurs du RCF calculées pour cet essai sont reprises dans le **tableau 2**. On y constate qu'en termes relatifs, la racine concentre plus fortement l'antracène lorsqu'il est en plus faible concentration dans le milieu. On connaît une tendance analogue pour de nombreux autres polluants, comme le cadmium, par exemple (Paul *et al.*, 1991). Dans le cas des polluants organiques, on considère généralement que le RCF n'est pas lié à la concentration (Briggs *et al.*, 1982 ; Paterson *et al.*, 1994). Sous la limite de solubilité ($75 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ soit 75 ppb vol.), les valeurs du RCF ne devraient donc pas être significativement différentes, ce qui est pourtant le cas dans nos essais. Dans le cas de la concentration 100 ppb vol., une partie de l'antracène est adsorbée à la surface de la racine et de la verrerie. Il est donc normal que la valeur du RCF calculée soit aussi faible, le polluant étant moins disponible pour la racine.

En milieu gélosé, aucune phytotoxicité n'est mise en évidence chez *Calystegia sepium* ou *Medicago sativa* sur 21 jours de culture. La **figure 3** présente ces

résultats de croissance pour *Calystegia sepium*. Des différences de croissance sont observées, même entre témoins. Cela est dû à la variabilité comportementale des inoculums racinaires, malgré les efforts visant à leur uniformisation.

Les valeurs des RCF reprises dans le **tableau 2** sont inférieures à celles calculées pour les essais en milieu liquide. Cela peut être dû à une plus faible disponibilité de l'antracène en milieu gélosé. En milieu liquide, et aux faibles concentrations (5 et 10 ppb vol.), l'antracène est solubilisé. Il est donc très disponible pour la racine. En milieu gélosé, le polluant est dispersé dans la matrice d'agar et donc moins mobile. De plus, en milieu liquide, l'agitation permanente homogénéise le milieu en continu ; dans l'autre test, l'antracène doit diffuser dans la gélose pour compenser l'absorption racinaire.

Comme le montre le **tableau 2**, les valeurs de RCF sont supérieures pour les racines de *Medicago sativa*. Si nous faisons intervenir dans l'interprétation de ces résultats les croissances respectives des deux espèces, nous remarquons toutefois que les quantités (en % du total retrouvé) d'antracène prélevées par les racines sont du même ordre de grandeur pour les deux espèces (**Tableau 3**). *Calystegia sepium* dilue ces quantités de polluant dans une masse racinaire plus importante, d'où un RCF inférieur.

Tableau 2. Valeurs du RCF en fonction du type d'essai et de la concentration en anthracène dans le milieu nutritif — *RCF as a fonction of anthracene concentration in media and type of trial.*

Essais en milieu liquide		Essais en milieu gélosé	
Concentration en anthracène (ppb)	RCF	Concentration en anthracène (ppb)	RCF
5	103 (1)	21,9 2,0	18,5 (2) 9,6 (2)
10	84 (1)	32,1	2,1 (1)
100	55 (1)	1,0	3,5 (1)

(1) Données relatives à *Calystegia sepium* — *data related to Calystegia sepium*;

(2) Données relatives à *Medicago sativa* — *data related to Medicago sativa*.

Tableau 3. Pourcentage de l'activité finale totale associée à la racine transformée en fonction de l'espèce et de la concentration en polluant — *Percentage of total radioactivity associated to the transformed roots as a function of species and pollutant concentration.*

Espèce	Concentration en anthracène	Pourcentage de l'activité finale associée à la racine
<i>Calystegia sepium</i>	10 ppb	64 %
<i>Calystegia sepium</i>	100 ppb	81 %
<i>Medicago sativa</i>	10 ppb	59 %
<i>Medicago sativa</i>	100 ppb	71 %

Croissance de *Calystegia sepium* en fonction de la concentration en anthracène dans le milieu solide

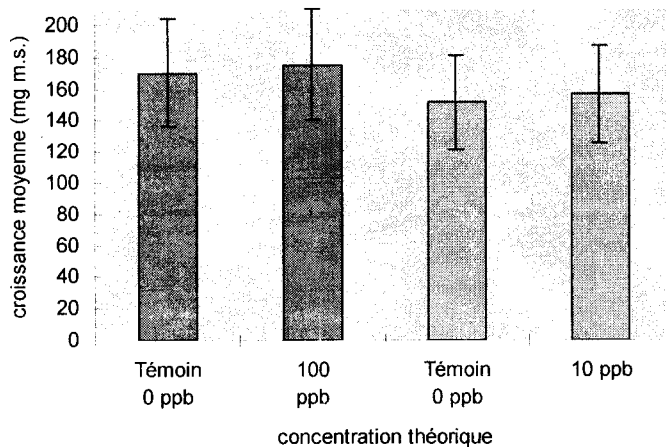


Figure 3. Croissance en matière sèche de *Calystegia sepium* en fonction de la concentration théorique en anthracène ; chaque concentration est comparée à son témoin. (⊥ : coefficient de variation en % de la moyenne, valeur approchée) — Growth in dry matter of *Calystegia sepium* as a function of theoretical anthracene concentration, each concentration is compared to its control.

Le RCF n'est plus étroitement lié à la concentration comme c'était le cas en milieu liquide. Cela peut être dû à la moins bonne homogénéité de la répartition de l'anthracène dans le milieu solide. La racine puise le polluant dans un volume défini et il est difficile de savoir quelle est l'évolution de la concentration en polluant dans ce volume.

Enfin, la catabolisation de l'anthracène par les racines transformées aboutissant à la formation de $^{14}\text{CO}_2$ est mise en évidence mais la part d'anthracène ainsi perdue est négligeable (0,5 à 1,0 % de l'activité totale). Les métabolites intermédiaires ne sont pas identifiés.

CONCLUSIONS

Nous disposons actuellement de deux méthodes permettant de mesurer l'absorption de l'anthracène par des racines transformées. La variabilité des résultats obtenus doit encore être mieux contrôlée, essentiellement par la standardisation de la production des inoculums racinaires. Néanmoins, ces protocoles peuvent aussi être appliqués à l'étude d'autres types de polluants, voire de mélanges.

Des travaux menés parallèlement dans le laboratoire sur des plantes entières montrent des valeurs de RCF plus faibles que celles obtenues sur racines transformées. Ces valeurs varient de 0,13 pour un niveau théorique en anthracène de 5 ppb à 0,63 pour un niveau théorique de 100 ppb (Struyve, 1996). Plusieurs causes peuvent expliquer ces faibles valeurs.

Tout d'abord, nous avons déjà émis l'hypothèse que l'anthracène est moins disponible en milieu gélosé qu'en milieu liquide. Dans le sol contaminé, le polluant est encore moins accessible à la plante. Il est adsorbé sur les particules du sol ou dissous dans sa matière organique. Seule la fraction se désorbant et se solubilisant dans la solution du sol sera sensible à une absorption racinaire. La limite de solubilité de l'anthracène dans l'eau et sa partition entre la phase hydrophile et hydrophobe (Kow) sont donc des facteurs limitant de cette absorption. Un des autres facteurs pouvant expliquer l'importance des quantités de polluant absorbées par les racines transformées est le volume du milieu nutritif qui est effectivement utilisé par la racine. Ce volume est beaucoup plus faible dans le cas de racines normales se développant dans le sol. La surface d'échange est, du même coup, plus faible.

Les mécanismes d'absorption et de métabolisation en eux-mêmes sont encore mal connus. Néanmoins, les premiers tests montrent que les racines transformées peuvent absorber et cataboliser l'anthracène. On recueille, en effet du CO_2 marqué à la sortie des enceintes. Les milieux étant stériles, aucune métabolisation par des micro-organismes ne peut être mise en cause. L'hypothèse actuellement proposée est une absorption passive de la fraction soluble du polluant, suivie par sa catabolisation. Les quantités de polluant impliquées dans ces phénomènes sont très faibles. L'activité liée au $^{14}\text{CO}_2$ produit au cours de l'essai ne représente, en effet, que 0,1 à 1 % de l'activité initiale apportée via le milieu.

Bibliographie

- Briggs *et al.* (1982). Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by Barley. *Pestic. Sci.* **13**, 495-504.
- Langebartels, Harms H (1986). Plant cell suspension cultures as test systems for an ecotoxicologic evaluation of chemicals. Growth inhibition effects and comparison with the metabolic fate in intact plants. *Angew. Bot.* **60** (1-2), 113-123.
- Menzie CA, Potocki BB, Santodonato J (1992). Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.* **26** (7), 1278-1284.
- Monnier M (1976). Culture *in vitro* de l'embryon immature de *Capsella bursa-pastoris* Moench. *Rev. Cyt. Végét.* **39**, 1-120.

- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* **15**, 473-497.
- Ntema Kiyayila P (1993). Mise au point de tests biologiques pour évaluer l'écotoxicité des boues de dragage. Travail de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique. pp. 1-45.
- Paterson S, Mackay D, McFarlane C (1994). A model of organic chemical uptake by plants from soil and the atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 2259-2266.
- Paul R, Rahmoune C, Delcarte E (1991). Bioaccumulation du cadmium par les végétaux. *Ann. Gembloux* **97**, 133-147.
- Simonich SL, Hites RA (1995). Organic pollutant accumulation in vegetation. *Environ. Sci. Technol.* **29** (12), 2905-2912.
- Struyve K (1996). Caractérisation de sol pollué par des composés polyaromatiques par des tests sur végétaux supérieurs. Mémoire de Génie Sanitaire, Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, Belgique. pp. 1-50.
- Tepfer D (1989). Ri T-DNA from *Agrobacterium rhizogenes* : a source of genes having applications in rhizosphere biology and plant development, ecology and evolution, *Plant-Microbe Interactions* **3**, 294-342.
- Wilson S, Jones K (1993). Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ. Pollut.* **81**, 229-249.

(12 réf.)