

Année 2009

UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ
U.F.R. SCIENCES ET TECHNIQUES

Laboratoire de Chrono-environnement (UMR UFC/CNRS 6249 USC INRA)
Laboratoire de Chimie Physique et Rayonnements A. Chambaudet (UMR CEA E4)
Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement (UMR CEA E4)

THESE

Présentée en vue de l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ
Spécialité : Sciences de la vie et de l'environnement
École doctorale : Homme, Environnement, Santé

ÉTUDE DES TRANSFERTS DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE CHEZ LA LAITUE : ÉTUDE CINÉTIQUE, ÉTAT D'ÉQUILIBRE ET INTEGRATION DU TRITIUM SOUS FORME ORGANIQUE LORS D'UNE EXPOSITION ATMOSPHERIQUE CONTINUE

par
Cécile BOYER

Soutenue le 30 novembre 2009 devant le jury composé de :

Dan GALERIU (chercheur, Institut de Physique et Ingénierie Nucléaire "Horia Hulubei", Bucarest, Roumanie)	Rapporteur
Daniel LAFFRAY (professeur, Université de Paris XII)	Rapporteur
Pierre-Marie BADOT (Professeur, Université de Franche-Comté)	Directeur
Michel FROMM (Professeur, Université de Franche-Comté)	Co-directeur
Laurent VICHOT (chercheur, CEA Valduc)	Encadrant
Philippe GUETAT (assistant scientifique, CEA Valduc)	Examinateur
Nicolas BAGLAN (chercheur, CEA de Bruyères-le-Châtel)	Examinateur

*« Ce n'est qu'en essayant continuellement que l'on finit par réussir.
Donc : plus ça rate et plus on a de chances que ça marche... »*

Devise Shadok

REMERCIEMENTS

Au moment de mettre un point final à ce manuscrit, je tiens à exprimer ma reconnaissance envers tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce projet.

Je tiens tout d'abord à témoigner toute ma reconnaissance et ma gratitude aux personnes ayant accepté de faire partie du jury d'évaluation de cette thèse : Dr. Dan GALERIU (chercheur au département « Sciences du vivant et physique environnementale », de l'Institut de Physique et Ingénierie Nucléaire "Horia Hulubei", Bucarest, Roumanie), Pr. Daniel LAFFRAY (Professeur en Ecophysiologie Moléculaire, Université Paris 12 Val de Marne) et Dr. Nicolas BAGLAN (chercheur CEA, centre de Bruyères le Châtel). J'espère que vous serez aussi intéressés à lire ce mémoire que je l'ai été à réaliser cette thèse.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé à la Direction des Applications Militaires (DAM) du Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), au sein du Département de Support Technique et Administratif (DSTA) sur le site de Valduc. Le financement de cette thèse a été assuré par le CEA dans le cadre d'un Contrat de Formation par la Recherche (CFR). Je tiens à exprimer ma gratitude à M. Pierre MARTY et M. Laurent JASKULA, respectivement ancien et actuel chefs du Service de Protection contre les Rayonnements (SPR), et à M. Laurent VICHOT, chef du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement (LMSE) et encadrant scientifique de la thèse, de m'avoir permis d'effectuer cette thèse au sein de leurs unités, et de m'avoir donné les moyens tout au long de ces trois années de réaliser mon travail de recherche dans les meilleures conditions, notamment en m'offrant l'opportunité de valoriser mes travaux dans le cadre de congrès et de groupes de travail internationaux.

J'exprime toute ma reconnaissance au Pr. Pierre-Marie BADOT et au Pr. Michel FROMM de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce travail, et d'avoir veillé au bon déroulement de la thèse. Je les remercie d'avoir toujours su, malgré des emplois du temps surchargés et l'éloignement géographique, trouver le temps de suivre la progression de l'étude et de répondre à mes questions.

Je suis également particulièrement reconnaissante envers M. Philippe GUETAT, assistant scientifique pour l'environnement et la stratégie déchets sur le site de Valduc, qui m'a apporté sans compter son aide et fait partager son expertise en matière de radioécologie du tritium. J'aurais beaucoup appris à son contact et j'espère conserver un peu de sa rigueur et de son recul scientifiques. J'associe à ces remerciements Mme Catherine TREIMANY, assistante scientifique et responsable des thèses sur le site de Valduc, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce sujet de thèse.

Un grand merci à M. Christophe MAVON, ingénieur de recherche à l'Université de Franche-Comté (Laboratoire de Chimie Physique et Rayonnements Alain Chambaudet), sans qui la chambre climatique utilisée tout au long de l'étude n'aurait jamais vu le jour. Un grand merci également à Mme Fabienne TATIN-FROUX, maître de conférence à l'Université de Franche-Comté (Laboratoire Chrono-Environnement) qui s'est toujours rendue disponible pour m'apporter son soutien, tant sur le plan scientifique que moral.

Je remercie spécialement M. Yvan LOSSET, responsable technique du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, pour l'aide technique, scientifique et morale, qu'il m'a apportée sans faillir tout au long de cette thèse, et M. Jean-Marie DUDA, ingénieur du laboratoire, pour ses conseils avisés dans de nombreux domaines, dépassant largement le cadre des statistiques...

Je tiens également à remercier sincèrement toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide pour les expériences sur le terrain, notamment M. Jean-Pierre DACLIN, ancien chef d'installation d'un bâtiment « tritium », qui m'a permis de réaliser des expériences au sein de son installation, ainsi que l'équipe de ce bâtiment qui a veillé à leur bon déroulement. Je remercie également le Service Technique (ST) de Valduc, qui m'a prêté du matériel de mesure.

J'adresse toute mon amitié à l'ensemble du personnel du Service de Protection contre les Rayonnements du centre de Valduc, et tout particulièrement à mes collègues, anciens ou actuels, du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement : M. Damien BAUDRY, Mme Françoise BERGET, Mme Marie-Madeleine BONIN, M. Laurent COUCHOUX, M. Olivier CROISSANT, Melle Isabelle DESCHANEL, Mme Ingrid GARELL, M. Julien GAUTHIER, Mme Florence HILAIRET, M. Gilles MEUNIER, Melle Gladys NOIROT, Mme Antoinette PETIT, M. David PIERRAT, M. Julien ROGER, Mme Annick SCHUMERS, Mme Catherine STEINBRUN, Mme Laetitia TORTELIER et M. Christophe WINKELMANN, qui m'ont pleinement intégré à l'équipe, et qui ont tous contribué, chacun à leur manière, à l'avancement de mes travaux. Merci à vous tous, qui vous êtes dévoués pour arroser mes laitues lors de vos soirées ou week-ends de permanence, qui m'avez aidé à monter des serres de plus en plus élaborées, qui m'avez offert des tapettes pour me débarrasser de souris un peu trop envahissantes, qui m'avez accompagnée prélever de la terre à la Bouzule par des conditions extrêmes... Merci à vous tous pour l'accueil chaleureux, la gentillesse et la disponibilité dont vous avez toujours fait preuve à mon égard. Je garderai un excellent souvenir de ces années passées en votre compagnie.

Une mention spéciale est destinée aux stagiaires qui sont passés au Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, en particulier M. Thomas BOISSIEUX, qui a partagé mon bureau pendant plusieurs mois, et M. Rémi BAUDIN, qui a directement participé aux études cinétiques présentées dans ce mémoire. Je leur souhaite, ainsi qu'aux autres thésards de Valduc, du courage et beaucoup de réussite pour la suite de leur travaux, de leur vie professionnelle et personnelle.

Je salue également l'ensemble des équipes du Laboratoire Chrono-Environnement et du Laboratoire de Chimie Physique et Rayonnements Alain Chambaudet, en particulier les doctorants, qui m'ont toujours très chaleureusement accueillie au cours de mes visites à Besançon.

Ce travail a donné lieu à de fructueuses collaborations, qui je l'espère, continueront après cette thèse. En particulier, je tiens à remercier Mme Catherine SIRGUET, maître de conférence, M. Stéphane COLIN et M. Bernard COLIN, techniciens à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA), ainsi que les exploitants de la ferme expérimentale de la Bouzule, qui m'ont fourni de la terre pour les cultures de laitues et qui m'ont donné des conseils très utiles quant à leur mise en œuvre pratique. Merci également au Pr. Marie-Christine CHAGNON et Mme SEVERIN, maître de conférence, de l'Ecole Nationale Supérieure de Biologie

Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (AgroSup' Dijon) qui ont encadré un stage et un projet bibliographique directement lié à cette thèse.

Merci à Mme Brigitte MAISONNEUVE, chercheur à l'Institut Nationale de la Recherche Agronomique (INRA), et à M. Sylvain LEBLOND, de la SERAIL Lyon, qui m'ont formé aux techniques de culture de la laitue et mise en contact avec des semenciers. Merci à M. Arnaud THABUIS, sélectionneur laitues pour la société Rijk Zwaan France, d'avoir accepté de me fournir des graines sélectionnées pour les expériences.

Je tiens également à remercier, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté pour mes travaux, pour les discussions enrichissantes et pour leur sympathie M. Luc PATRYL, chercheur au CEA Bruyères-le-Châtel, et Mme Anca MELINTESCU, chercheur à l'Institut de Physique et Ingénierie Nucléaire "Horia Hulubei" (Bucarest, Roumanie).

Je remercie mes proches, d'ici ou d'ailleurs, qui m'ont apporté leur amitié et parfois leur réconfort tout au long de cette thèse, pour certains en connaissance de cause.

Un grand merci à mes parents de m'avoir permis de réaliser des études et de m'avoir soutenue toutes ces années.

Et pour finir un immense merci à Benoist, de m'avoir soutenue, et surtout supportée...

Merci à tous...

SOMMAIRE GENERAL

<i>Remerciements</i>	5
<i>Liste des tableaux</i>	10
<i>Liste des figures</i>	15
<i>Liste des annexes</i>	18
<i>Notations</i>	20
<i>Avant-propos</i>	23
<i>Introduction : Problématique et objectifs de l'étude</i>	24
<i>Etude bibliographique</i>	28
<i>Démarche expérimentale</i>	100
<i>Chapitre I : Mise en place du système d'étude et définition des protocoles expérimentaux</i>	101
<i>Chapitre II : Description et qualification des techniques analytiques</i>	131
<i>Résultats</i>	158
<i>Chapitre III : Etude des transferts du tritium atmosphérique chez la laitue : étude cinétique et état d'équilibre</i>	159
<i>Chapitre IV : Etude de l'intégration du tritium sous forme organique chez la laitue lors d'une exposition atmosphérique continue</i>	198
<i>Conclusions et perspectives</i>	230
<i>Références bibliographiques</i>	235
<i>Annexes</i>	248
<i>Glossaire</i>	295
<i>Communications scientifiques</i>	307
<i>Résumé</i>	312

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques radiologiques du tritium.	33
Tableau 2 : Valeurs de rejets de tritium dans l'environnement en France selon le type d'installation.	35
Tableau 3 : Concentrations en tritium dans les eaux naturelles avant les essais nucléaires atmosphériques et actuellement.	37
Tableau 4 : Propriétés des différents sols utilisés par Papke et Förstel pour leurs expériences de détermination du taux de formation de matière organique tritiée dans les sols.	49
Tableau 5 : Valeurs expérimentales des temps d'équilibre, des constantes d'absorption et des ratios $TFWT/HTO_{\text{atmosphérique}}$ obtenues pour différentes espèces végétales et conditions expérimentales.	69
Tableau 6 : Périodes biologiques d'élimination du tritium obtenues en considérant un modèle exponentiel à compartiments, et constante d'élimination correspondant au premier compartiment, pour différents végétaux en conditions diurnes.	71
Tableau 7 : Périodes biologiques d'élimination du tritium obtenues en considérant un modèle exponentiel à compartiments, et constante d'élimination correspondant au premier compartiment, pour différents végétaux en conditions nocturnes.	72
Tableau 8 : Ratios d'activité massique du tritium organique et de la vapeur d'eau atmosphérique ou de l'eau du sol (OBT/HTO) et du tritium organique et de l'eau tissulaire (OBT/TFWT), pour différentes espèces végétales.	80
Tableau 9 : Taux d'incorporation du tritium de l'eau tissulaire en tritium organique pour différentes espèces végétales exposées de façon continue à de la vapeur d'eau tritiée par voie atmosphérique.	81
Tableau 10 : Constituants alimentaires de la laitue.	105
Tableau 11 : Proportion en masse d'atomes de carbone, hydrogène, oxygène et azote (C, H, O, N) dans la masse sèche de laitues des différents lots (jeunes, matures, en prémontaison) utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium en fonction du temps.	106
Tableau 12 : Caractéristiques granulométriques de la terre utilisée pour les cultures de laitues (sol brun lessivé à pseudogley).	107
Tableau 13 : Caractéristiques agronomiques de la terre utilisée pour les cultures de laitues (sol brun lessivé à pseudogley).	107
Tableau 14 : Caractéristiques physico-chimiques du substrat de culture idéales pour la laitue, et du sol brun lessivé à pseudogley choisi pour les cultures.	108
Tableau 15 : Analyse caractéristique de l'eau de Volvic utilisée pour l'arrosage des cultures.	109
Tableau 16 : Période de culture et caractéristiques des différents stades de développement des plants utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium (âge, nombre de feuilles, masse fraîche et sèche, surface foliaire).	119
Tableau 17 : Valeurs moyennes des paramètres climatiques relevés dans la serre de culture juste avant le transfert de chaque lot de plants et dans la chambre climatique lors des expositions en conditions d'éclairement ou d'obscurité.	121

- Tableau 18** : Activités atmosphériques moyennes de la vapeur d'eau tritiée et du tritium gaz mesurées dans la serre de culture durant leur croissance, et après 24 heures d'exposition durant les différentes expériences réalisées en chambre climatique sur des plants jeunes, matures ou en phase de prémontaison, en conditions d'éclairement ou d'obscurité.____ 122
- Tableau 19** : Modalités des paramètres d'étude (arrosage et couverture vinyle) mis en place pour les pots de terre témoins, non cultivés, lors des expériences d'exposition à long terme en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1) ou réelles (EXT-2)._____ 125
- Tableau 20** : Valeurs moyennes des paramètres climatiques relevées en période d'éclairement (16 h / 24) ou d'obscurité (9 h / 24) dans la chambre climatique lors des trois séries d'exposition continue en conditions contrôlées (CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3)._____ 126
- Tableau 21** : Valeurs moyennes des paramètres climatiques relevées en périodes diurne et nocturne dans la serre de culture lors des deux séries d'exposition continue en extérieur (EXT-1 et EXT-2). _____ 127
- Tableau 22** : Activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée et du tritium gaz et écart-type correspondant, pour les mesures réalisées au laboratoire pendant la croissance de plants et durant les différentes expériences d'exposition réalisées en chambre climatique (CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3). _____ 128
- Tableau 23** : Activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée et du tritium gaz et écart-type correspondant , pour les mesures réalisées au laboratoire pendant la croissance de plants et durant les différentes expériences d'exposition réalisées en serre extérieure (EXT-1 et EXT-2)._____ 129
- Tableau 24** : Paramètres de réglage du four utilisés pour la combustion des différents types d'échantillons (plants de laitue et terre de culture)._____ 150
- Tableau 25** : Valeurs des paramètres déterminés pour la distribution statistique du rapport entre les masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites en fonction de la masse brûlée, en appliquant une fonction gaussienne de type loi normale. _____ 152
- Tableau 26** : Activités minimales, maximales et moyennes mesurées dans l'eau de combustion de la fraction organique totale d'échantillons de laitue comparables en termes de développement et d'exposition au tritium ; écarts-types associés et rapports des écarts-types aux activités OBT moyennes. _____ 155
- Tableau 27** : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de jeunes plants de laitue après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées._____ 163
- Tableau 28** : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue matures après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées._____ 164
- Tableau 29** : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue en phase de prémontaison après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées._____ 165

- Tableau 30** : Rapport à l'équilibre des activités HTO dans l'eau tissulaire et dans la vapeur d'eau de l'air ambiant, taux d'absorption horaire du tritium au sein de l'eau tissulaire et temps de demi-équilibre estimés par régression mathématique de données expérimentales établies pour des plants de laitue jeunes, matures et en prémontaison placées en ambiance tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et coefficient de régression associé. 170
- Tableau 31** : Valeurs estimées des taux horaires d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire de plants de laitue, du temps de demi-équilibre et du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ à l'équilibre, obtenues au cours des études cinétiques d'absorption réalisées sur des laitues jeunes, matures ou en phase de prémontaison exposées à une atmosphère tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et comparaison avec les données de la littérature pour diverses espèces végétales et différentes conditions climatiques lors de l'exposition. _ 174
- Tableau 32** : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de jeunes plants de laitue, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées. _____ 177
- Tableau 33** : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue matures, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées. _____ 178
- Tableau 34** : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue en phase de prémontaison, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ; rapports des activités HTO de l'eau tissulaire à celles de l'air ; valeurs des incertitudes relatives associées. _____ 179
- Tableau 35** : Rapport à l'équilibre des activités HTO dans l'eau du sol de culture de plants de laitue et dans la vapeur d'eau de l'air ambiant, taux d'absorption horaire du tritium au sein de l'eau du sol et temps de demi-équilibre estimés par régression mathématique de données expérimentales établies pour les sols de culture de laitues jeunes, matures et en prémontaison placées en ambiance tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et coefficient de régression associé et comparaison avec les données de la littérature. ____ 184
- Tableau 36** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau tissulaire des plants et dans l'eau du sol de culture en surface (5 cm supérieurs) et au fond des pots (5 cm inférieurs) lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et incertitudes associées. _____ 189
- Tableau 37** : Rapports des activités HTO de l'eau tissulaire des plants à celle de l'eau du sol de culture et rapports des activités HTO de ces deux fractions à celle de la vapeur d'eau de l'air, mesurés lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et incertitudes associées. _____ 190
- Tableau 38** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau tissulaire des plants et dans l'eau du sol de culture lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) et incertitudes associées. _____ 191
- Tableau 39** : Rapports des activités HTO de l'eau tissulaire des plants à celle de l'eau du sol de culture et rapports des activités HTO de ces deux fractions à celle de la vapeur d'eau de l'air, mesurés lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) et incertitudes associées. _____ 192

- Tableau 40** : Rapport moyen des activités prédites par les modèles aux activités mesurées dans l'eau tissulaire des plants lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et réelles (EXT-1 et EXT-2) et valeurs des écarts-types associés. _____ 194
- Tableau 41** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau tissulaire de plants de laitue et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale de ces plants lors de différents prélèvements au cours des expériences d'exposition en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ; rapports des activités du tritium organique à celles de la vapeur d'eau de l'air et de l'eau tissulaire. _____ 202
- Tableau 42** : Concentrations en protéines totales mesurées dans des feuilles jeunes, dans des feuilles matures et dans le broyat de plants de laitue entiers au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-1 et CLIM-2. _____ 203
- Tableau 43** : Activité moyenne de la vapeur d'eau de l'air vue par chaque lot de feuilles du même âge lors de l'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-3 ; activités OBT « total » dans l'eau de combustion de la matière organique, concentration en protéines totales et mesure des échanges gazeux photosynthétiques associées à chaque lot de feuilles. _____ 204
- Tableau 44** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau tissulaire de plants de laitue et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale de ces plants lors de différents prélèvements au cours des expériences d'exposition en conditions climatiques contrôlées (EXT-1 et EXT-2) ; rapports des activités du tritium organique à celles de la vapeur d'eau de l'air et de l'eau tissulaire. _____ 205
- Tableau 45** : Concentrations en protéines totales mesurées dans le broyat de plants de laitue entiers au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques réelles EXT-2. _____ 206
- Tableau 46** : Taux d'incorporation moyens du tritium organique « total » calculé par rapport à l'activité de l'eau tissulaire et à l'activité présente dans la vapeur d'eau de l'air intégrées au cours du temps d'exposition pour les expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2). _____ 211
- Tableau 47** : Taux d'incorporation moyens du tritium organique pour différentes espèces végétales exposées de façon continue à de la vapeur d'eau tritiée par voie atmosphérique. _____ 217
- Tableau 48** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau du sol de culture de plants de laitue et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale ou non-échangeable d'échantillons de sol secs (5 cm supérieurs et 5 cm inférieurs), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-1. _____ 221
- Tableau 49** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau du sol de culture de plants de laitue et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale ou non-échangeable d'échantillons de sol secs (5 cm supérieurs et 5 cm inférieurs), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-2. _____ 222
- Tableau 50** : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air, dans l'eau du sol de culture de plants de laitue et dans l'eau de combustion de la fraction organique non-échangeable d'échantillons de sol secs (échantillons représentatifs des différentes couches du sol), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques réelles EXT-1 et EXT-2. _____ 223
- Tableau 51** : Taux d'incorporation moyen du tritium de l'eau du sol en tritium organique non échangeable au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques

contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2), pour des échantillons représentatifs du sol de surface (5 cm supérieurs) ou du fond du pot (5 cm inférieurs). _____ 224

Tableau 52 : Taux d'incorporation moyen du tritium de l'eau du sol en tritium organique non échangeable au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) pour des échantillons représentatifs de l'ensemble des différentes couches du sol. _____ 225

Tableau 53 : Coefficients statistiques associés à la détermination du rendement de four par régression linéaire des masses d'eau récupérées suite aux brûlages de quantités connues d'eau de référence. _____ 269

Tableau 54 : Coefficients statistiques associés à la régression linéaire établie entre les quantités de matière brûlées et les masses d'eau recueillies à l'issue de la combustion pour 102 échantillons de laitue secs. _____ 269

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma global du cycle de l'eau en milieu tempéré océanique.	45
Figure 2 : Schéma d'une cellule végétale.	53
Figure 3 : Schéma en coupe d'une feuille de dicotylédone.	54
Figure 4 : Schéma des réactions photochimiques et non-photochimiques de la photosynthèse.	57
Figure 5 : Principales étapes du cycle de réduction du carbone (cycle de Calvin).	58
Figure 6 : Schéma général des transferts du tritium de l'environnement à la végétation.	61
Figure 7 : Variation de l'incorporation du tritium organique dans des plants de soja en fonction de l'organe et du stade de développement.	82
Figure 8 : Schéma de principe de la chambre climatique de culture.	111
Figure 9 : Clichés de la chambre climatique de culture.	112
Figure 10 : Régulation de la température et de l'hygrométrie dans la chambre climatique sur une période de 15 h pour une consigne unique de 25°C.	114
Figure 11 : Eclairage dans la chambre climatique sur une période de 15 h pour un fonctionnement continu des lampes.	114
Figure 12 : Régulation de la température et de l'hygrométrie dans la chambre climatique sur une période de 4 jours alternant les phases de jour et de nuit artificiels.	116
Figure 13 : Régulation de la température et de l'éclairage dans la chambre climatique sur une période de 4 jours alternant les phases de jour et de nuit artificiels.	116
Figure 14 : Correspondance des mesures d'intensité lumineuse en lx et en μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PAR).	117
Figure 15 : Variations de la masse fraîche des différents lots de laitues (jeunes, matures, en prémontaison) utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium en fonction du temps.	120
Figure 16 : Carte schématique de l'emplacement des cultures de laitues mises en place pour les expériences d'exposition au tritium atmosphérique à long terme en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2).	124
Figure 17 : Courbes de croissance représentant la masse sèche moyenne d'un plant en fonction du temps après germination et en fonction de l'énergie disponible pour quatre lots de laitues différents, correspondant aux expériences d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou réelles (EXT-1, EXT-2).	136
Figure 18 : Nombre de feuilles apparues en fonction du temps écoulé depuis la germination des plants pour trois lots de laitues différents, correspondant aux expériences d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou réelles (EXT-2), et relation mathématique associée.	137
Figure 19 : Cliché de la LI-6400 avec chambre ouverte pour la mesure d'une surface foliaire de 4cm^2 .	138
Figure 20 : Principe d'un système ouvert de mesure des échanges gazeux.	139

- Figure 21** : Représentation schématique des flux de gaz au sein de la LI 6400. _____ 140
- Figure 22** : Réponse photosynthétique d'une feuille de laitue en fonction de l'intensité lumineuse imposée. _____ 141
- Figure 23** : Principales étapes du protocole opératoire suivi pour la mesure du tritium dans les échantillons biologiques. _____ 145
- Figure 24** : Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet. _____ 147
- Figure 25** : Représentation schématique du dispositif d'extraction du tritium organiquement lié non échangeable. _____ 149
- Figure 26** : Clichés du four de combustion et d'oxydation catalytique des échantillons permettant l'extraction du tritium organiquement lié non échangeable. _____ 149
- Figure 27** : Rapport entre la masse d'eau de combustion réellement mesurée et la masse d'eau de combustion théoriquement produite en fonction de la masse brûlée obtenue pour 102 échantillons de laitue secs. _____ 153
- Figure 28** : Tableau des classes de valeurs et présentation graphique de la répartition statistique du rapport entre la masse d'eau de combustion réellement mesurée et la masse d'eau de combustion théoriquement produite à partir de la teneur en hydrogène moyenne de 102 échantillons de laitue secs. _____ 154
- Figure 29** : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue jeunes, matures et en phase de prémontaison et des activités HTO dans l'eau de l'air « instantanées », après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre. _____ 168
- Figure 30** : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue jeunes, matures et en phase de prémontaison et des activités HTO dans l'eau de l'air « cumulées » depuis le début de l'exposition, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre. _____ 169
- Figure 31** : Rapport des activités HTO dans l'eau tissulaire et dans la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre mesurés au cours des études cinétiques d'absorption réalisées sur des laitues jeunes, matures ou en phase de prémontaison exposées à une atmosphère tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, en fonction du temps nécessaire pour atteindre la moitié de l'activité à l'équilibre dans les végétaux exposés, et comparaison avec les données de la littérature pour diverses espèces végétales et différentes conditions climatiques lors de l'exposition. _____ 175
- Figure 32** : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue jeunes, matures et en phase de prémontaison et des activités HTO dans l'eau de l'air « cumulées » depuis le début de l'exposition, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre. _____ 181
- Figure 33** : Représentation graphique (échelle logarithmique) des activités HTO moyennes mesurées dans la vapeur d'eau de l'air et dans l'eau tissulaire de plants de laitue sur la période d'exposition ainsi que des activités OBT dans l'eau de combustion de la matière organique mesurées au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et réelles (EXT-1 et EXT-2). _____ 208
- Figure 34** : Evolution en fonction du temps (a) et de l'énergie disponible (b) des taux d'incorporation instantanés du tritium de l'eau tissulaire vers la fraction organique « totale » pour les expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles EXT-1 et EXT-2. _____ 212

- Figure 35** : Mesures de la concentration en protéines totales et des échanges de CO₂, représentatifs de la photosynthèse, sur toutes les feuilles d'un même plant âgé de 51 jours lors de l'expérience CLIM-2. _____ 219
- Figure 36** : Principe de la mesure de radioactivité du tritium par scintillation liquide. _____ 254
- Figure 37** : Schéma de principe d'un système de piégeage du tritium atmosphérique par barbotage. _____ 258
- Figure 38** : Photographie d'un barboteur utilisé pour le piégeage du tritium atmosphérique. 258
- Figure 39** : Exemple de détermination du rendement de four établi à partir des masses d'eau récupérées suite aux brûlages de quantités connues d'eau de référence. _____ 268
- Figure 40** : Exemple de régression linéaire établie entre les quantités de matière brûlées et les masses d'eau recueillies à l'issue de la combustion pour 102 échantillons de laitue secs. 269

LISTE DES ANNEXES

A	Equations associées aux mesures de l'activité photosynthétique par la LiCor 6400	249
A.1	Transpiration	249
A.2	Conductance totale de la feuille pour la vapeur d'eau	250
A.3	Conductance stomatique de la vapeur d'eau	250
A.4	Taux de photosynthèse net	251
A.5	CO ₂ intercellulaire	252
B	Echantillonnage et mesure du tritium	253
B.1	Mesure du tritium par scintillation liquide	253
B.1.1	Principe de la mesure d'activité par scintillation liquide	253
B.1.2	Mode opératoire	254
B.1.2.1	Appareillage utilisé	254
B.1.2.2	Processus opératoire	254
B.1.2.3	Paramètres de comptage	255
B.1.2.4	Limites de détection	255
B.1.2.5	Calcul des activités et des incertitudes	256
B.1.2.6	Limites de la méthode	257
B.2	Prélèvement et détermination des activités du tritium atmosphérique	257
B.2.1	Principe du piégeage du tritium atmosphérique par barbotage	257
B.2.2	Calcul des activités du tritium atmosphérique	259
B.2.2.1	Calcul de l'activité de la vapeur d'eau tritiée de l'air et de l'incertitude associée	259
B.2.2.1.1	Calcul de l'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée	259
	➤ Calcul de l'activité HTO en Bq m ⁻³	259
	➤ Calcul de l'activité HTO en Bq L ⁻¹	259
B.2.2.1.2	Calcul des incertitudes associées à l'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée	260
B.2.2.2	Calcul de l'activité du tritium HT de l'air et de l'incertitude associée	261
B.2.2.2.1	Calcul de l'activité volumique du tritium HT	261
B.2.2.2.2	Calcul des incertitudes associées à l'activité volumique du tritium HT	261
B.3	Calcul des activités en tritium organiquement lié	262
B.3.1	Détermination du rendement de combustion du four	262
B.3.2	Calcul des activités en tritium organiquement lié	262
B.3.2.1	Echantillons de terre	262
B.3.2.2	Echantillons de laitue	263
B.3.3	Calcul des incertitudes associées aux activités en tritium organiquement lié	266
B.3.3.1	Calcul théorique	266
B.3.3.2	Exemple	268
B.4	Calcul du taux d'incorporation du tritium organique instantané	270

C Données expérimentales **273**

- C.1 Paramètres climatiques enregistrés lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques réelles EXT-1* 273
- C.1.1 Relevés des valeurs moyennes en périodes diurne et nocturne en extérieur sur le site d'exposition (fin avril à début juillet), et observations de la station météorologique du centre. 273
- C.1.2 Représentation graphique des relevés de température réalisés durant l'exposition en extérieur (fin avril à début juillet). 276
- C.1.3 Représentation graphique des relevés d'hygrométrie réalisés durant l'exposition en extérieur (fin avril à début juillet). 277
- C.1.4 Représentation graphique des relevés d'éclairement réalisés durant l'exposition en extérieur (fin avril à début juillet). 278
- C.1.5 Roses des vents établies sur la base de mesures effectuées à 10 m (a), 30 m (b) et 55 m (c) d'altitude, sur le centre de Valduc, pour la période correspondant à l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques réelles EXT-1. 279
- C.2 Paramètres climatiques enregistrés lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques réelles EXT-2* 281
- C.2.1 Relevés des valeurs moyennes en périodes diurne et nocturne en extérieur sur le site d'exposition (début septembre à fin octobre), et observations de la station météorologique du centre. 281
- C.2.2 Représentation graphique des relevés de température réalisés durant l'exposition en extérieur (début septembre à fin octobre). 284
- C.2.3 Représentation graphique des relevés d'hygrométrie réalisés durant l'exposition en extérieur (début septembre à fin octobre). 285
- C.2.4 Représentation graphique des relevés d'éclairement réalisés durant l'exposition en extérieur (début septembre à fin octobre). 286
- C.2.5 Roses des vents établies sur la base de mesures effectuées à 10 m (a) et 30 m (b) d'altitude, sur le centre de Valduc, pour la période correspondant à l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques réelles EXT-2. 287
- C.3 Activités du tritium atmosphérique (HT et HTO) mesurées lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques réelles EXT-1 et EXT-2. Le début de l'exposition a lieu 11 et 31 jours après la germination des graines respectivement.* 288
- C.4 Activités du tritium atmosphérique (HT et HTO) mesurées dans la chambre climatique en conditions artificielles diurnes (a) et nocturnes (b) lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées CLIM-1.* 289
- C.5 Activités du tritium atmosphérique (HT et HTO) mesurées dans la chambre climatique en conditions artificielles diurnes (a) et de nocturnes (b) lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées CLIM-2.* 291
- C.6 Activités du tritium atmosphérique (HT et HTO) mesurées dans la chambre climatique en conditions artificielles diurnes (a) et de nocturnes (b) lors de l'expérience d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées CLIM-3.* 293

NOTATIONS

Abréviations : termes français

3-PGA : 3-phosphoglycérate

ADN : Acide DesoxyriboNucléique

ADP : Adénosine DiPhosphate

ARN : Acide RiboNucléique

ATP : Adénosine TriPhosphate

DPUI : Dose efficace engagée par unité d'incorporation

EBR : Efficacité Biologique Relative

G3P : Glycéraldéhyde-3-Phosphate

HEPES : acide N-(hydroxyéthyl)pipérazine-N'-(2-éthanesulfonique)

NADPH : Nicotinamide Adénine Ninucléotide Phosphate réduit

PSI : photosystème I

PSII : photosystème II

RuBisCO : Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase-Oxygénase

RuBP : Ribulose-1,5- Biphosphate

TOL : Tritium Organiquement Lié

Abréviations : termes anglais

BSA : Bovin Serum Albumine (albumine de sérum bovin)

BWR : Boiling Water Reactor (réacteur à eau bouillante)

CANDU : filière canadienne de réacteur à uranium naturel, modérée par de l'eau lourde

EPR : European Pressurized Reactor

IRGA : Infra-Red Gas Analyzer

ITER : International Thermonuclear Experimental Reactor

LHC : Light Harvesting Complex

OBT : Organically-Bound Tritium (Tritium Organiquement Lié)

PAR : Photosynthetically Active Radiation (Rayonnement Photosynthétiquement Actif)

PWR : Pressurized Water Reactor (réacteur à eau pressurisée)

SAR : Specific Activity Ratio (Ratio d'Activité Spécifique)

TFWT : Tissue Free Water Tritium (Tritium de l'eau tissulaire)

Etablissements, organismes

AIEA : Agence Internationale de l'Energie Atomique

ANDRA : Agence Nationale pour la gestion des Déchets Radioactifs

BRGM : Bureau de Recherches Géologiques et Minières

CEA : Commissariat à l'Energie Atomique

CIPR (ICRP): Commission Internationale de Protection Radiologique

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

EDF : Electricité de France

EMRAS : Environmental Modeling for Radiation Safety

ENSAIA : Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

ICRU : International Commission on Radiation Units and Measurements

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

UNSCEAR : United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation

Unités

°C : degré Celsius

°C.j : degré.jour

a : an

Bq : Becquerel

Ci : Curie (1 Ci = $3,7 \cdot 10^{10}$ Bq)

cpm : coups par minute

g : gramme

Gy : Gray (1 Gy = 1 J kg⁻¹)

j : jour

J: Joule

keV : kilo electron-Volt

L : litre

lx : lux

m : mètre

min : minute

mol : moles

M (mol L⁻¹) : moles par litre

MWe : mégawatts

Pa : pascal

ppmv : parties par million en volume (μmol par mol)

rpm : tours par minute

s : seconde

Sv : Sievert

TU : Unité Tritium

Notations

Dans tout le document, les incertitudes seront notées U.

Les végétaux sont nommés par leur nom usuel (ex. laitue) et par leur nom latin selon la classification de Linné (ex. *Lactuca sativa* L.).

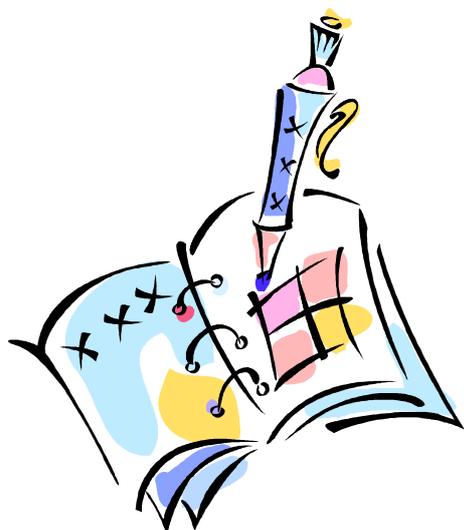
AVANT-PROPOS

Avant de rentrer dans le vif du sujet, nous souhaiterions vous donner quelques indications quant aux choix adoptés pour la rédaction de ce mémoire.

En raison du caractère très pluridisciplinaire du sujet traité dans ce mémoire, nous avons choisi de développer de façon détaillée à la fois les aspects radiologiques et biologiques, afin d'apporter le plus d'éléments possibles à la compréhension de chacun. Dans cette optique, un glossaire est disponible en fin du document. Chacun des mots y figurant est écrit en caractères gras dans le texte du mémoire.

D'autre part, afin de ne pas surcharger les différents chapitres traitant de la démarche expérimentale mise en place et des résultats obtenus, un grand nombre de données expérimentales figurent en annexes. Il nous a paru intéressant de les mentionner afin que le lecteur intéressé puisse s'y reporter, voire les utiliser.

INTRODUCTION : PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE



INTRODUCTION :

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

Élément naturel et produit de l'industrie nucléaire, le tritium est le seul **isotope radioactif** de l'hydrogène. Il présente des activités très faibles à l'échelle mondiale mais qui peuvent être relativement importantes au niveau local. En raison de ses propriétés physico-chimiques similaires à celle de l'hydrogène, élément majeur de la biosphère notamment comme constituant de la molécule d'eau, le risque radiologique associé au tritium ne peut être écarté malgré sa faible radiotoxicité (Rohwer and Wilcox, 1976; Straume, 1993). L'évaluation de l'impact sur l'environnement et les populations vivant à proximité des installations rejetant du tritium est de ce fait nécessaire (Okada and Momoshima, 1993; Gulden and Raskob, 2005). Dans ce but, il est indispensable de connaître le comportement de ce **radionucléide** dans les **écosystèmes**. La connaissance des voies de transfert et des mécanismes d'insertion du tritium dans les végétaux **chlorophylliens**, à la base de la production carbonée dans toutes les chaînes trophiques, y compris humaine, revêt une importance particulière (Elwood, 1971).

Depuis quelques décennies, de nombreuses études ont porté sur les transferts du tritium aux végétaux (McFarlane, 1978; Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1997; Atarashi-Andoh et al., 2002; Choi et al., 2002). Ces études ont notamment montré l'importance d'un point de vue radiologique du tritium incorporé à la fraction organique des plantes via les mécanismes photosynthétiques. Elles ont de plus permis d'estimer l'intégration globale du tritium organique en réponse à une exposition, et de construire des modèles dosimétriques. Cependant, de par la difficulté à maintenir une ambiance tritiée sur le long terme, très peu d'expérimentations ont été menées à ce jour sur des végétaux cultivés en conditions naturelles et exposés à des rejets de tritium continus. De ce fait, les données concernant l'impact d'une exposition chronique au tritium sur les végétaux, tout au long de leur croissance, sont très peu nombreuses. Cette information paraît pourtant primordiale si l'on cherche à déterminer l'impact dosimétrique de produits agroalimentaires. En particulier, les bilans de matière associés aux mécanismes biologiques et les coefficients de transfert du tritium, qui servent de base aux modèles prédictifs de dose, demeurent difficiles à quantifier.

Dans ce contexte, notre étude vise à développer, à partir d'un végétal de consommation courante : la laitue (*Lactuca sativa* L.), un outil fiable de mesure du tritium en réponse à une exposition de courte ou longue durée, avec pour objectifs :

- d'acquérir une maîtrise optimale des mécanismes de transfert du tritium des différents compartiments environnementaux (atmosphère, sol) vers la plante, en particulier par :
 - l'étude des voies de transfert, en particulier de la prépondérance de l'absorption par voie foliaire ou racinaire,
 - l'étude biocinétique des transferts en fonction de paramètres d'influence tels que les variations climatiques et le stade de développement du végétal.
- de comprendre et de quantifier les mécanismes biologiques impliqués dans l'intégration sous forme organique du tritium, à travers notamment :

- l'influence de paramètres physiologiques ou environnementaux tels que les variations climatiques, le niveau d'exposition, le stade de développement et l'activité biologique du végétal,
- la détermination des coefficients de transfert du tritium de l'eau tissulaire vers la fraction organique.
 - de modéliser les résultats obtenus dans le but de caractériser un matériel biologique de référence pour les modèles dosimétriques prédictifs.

Afin de présenter l'étude menée en ce sens, ce mémoire s'articule en deux parties : la première est une synthèse bibliographique, la seconde expose la démarche expérimentale mise en œuvre.

Dans la partie bibliographique, un « état de l'art » concernant le tritium et les mécanismes de son transfert dans les compartiments environnementaux est dressé. Les origines, les propriétés physico-chimiques et radiologiques, les différentes formes et les voies de transfert dans l'environnement du tritium sont ainsi successivement abordées avant de traiter plus spécifiquement des processus d'absorption et d'intégration du **radionucléide** dans les végétaux, et des modèles associés.

La partie expérimentale débute au Chapitre I avec la présentation de la démarche entreprise. Le centre de Valduc, disposant d'installations dédiées au travail sur des matériaux tritiés et d'une autorisation de rejet de tritium gazeux, nous a permis d'exposer des végétaux à différents niveaux d'activité atmosphérique afin de mener à bien cette étude. Néanmoins, les transferts du tritium entre les différents compartiments environnementaux, notamment les végétaux, sont le résultat d'un grand nombre de mécanismes physiques, chimiques ou biologiques qu'il est difficile d'appréhender dans des conditions climatiques réelles, par nature très variables. La démarche expérimentale a donc consisté dans un premier temps, à étudier les transferts du tritium vers le végétal cible dans des conditions climatiques stables et contrôlées, afin de limiter les facteurs d'influence et d'obtenir des résultats simples et transposables par la suite à d'autres situations plus réalistes. Pour cela, un système d'étude, associant un matériel biologique fixé, un milieu de culture caractérisé et des conditions climatiques régulées grâce à une chambre de culture a été conçu et mis en place. La description de ce système d'étude et des protocoles expérimentaux, associés à ce système ou à des conditions réelles fait l'objet du Chapitre I. La description et la qualification des techniques analytiques utilisées sont détaillées dans le Chapitre II.

L'exposition chronique au tritium peut être modélisée comme une succession d'échanges entre la concentration en tritium dans le végétal et les teneurs présentes dans l'environnement à chaque instant. Comprendre les phénomènes de transfert du tritium dans les végétaux au cours des premières heures d'exposition et la mise en place de l'équilibre au sein du compartiment aqueux constitue un pré-requis indispensable à l'étude des mécanismes d'intégration du tritium sous forme organique sur le long terme. De façon à étudier l'absorption et l'intégration du tritium dans le végétal-cible en cas d'exposition à court et long terme, deux protocoles mettant en jeu des échelles de temps différentes ont donc été considérés. Ceci a permis la double approche dynamique et statique des transferts du tritium de l'air vers l'eau tissulaire du végétal présentée dans le Chapitre III. Le premier objectif de ce chapitre a été d'établir les cinétiques d'absorption du tritium sous forme d'eau tissulaire au sein des plantes, en réponse à une exposition atmosphérique de courte durée, en conditions contrôlées, pour différentes modalités des conditions d'éclairement et du stade de développement du végétal. Le deuxième objectif a été de caractériser l'état d'équilibre atteint lors d'une exposition assez longue, en conditions climatiques contrôlées ou réelles.

L'incorporation du tritium à la matière organique des plants correspond à une intégration progressive dans le temps d'une faible fraction du tritium de l'eau tissulaire. En cas d'exposition à long terme, la croissance et le développement du végétal entraînent des modifications de la physiologie et du métabolisme qui peuvent influencer sur les mécanismes biologiques associés à la formation de matière organique, et de ce fait à l'intégration du tritium dans cette fraction. Dans le Chapitre IV, l'objectif a précisément été de caractériser l'intégration biologique du tritium sous forme organique à l'échelle de la plante et de la feuille, et d'étudier l'évolution de cette intégration à différents stades de développement des plants, en réponse à une exposition continue, en conditions climatiques contrôlées ou réelles.

A l'issue de ces chapitres de résultats (III et IV), un bilan des travaux est dressé au travers d'une conclusion générale, avant d'aborder les perspectives qui pourraient être envisagées à la suite de cette étude.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE



ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction	32
1 Caractéristiques du tritium	33
1.1 <i>Propriétés physico-chimiques et caractéristiques radiologiques du tritium</i>	33
1.1.1 Propriétés physico-chimiques du tritium	33
1.1.2 Caractéristiques radiologiques du tritium	33
1.2 <i>Origines du tritium</i>	34
1.2.1 Sources naturelles de tritium	34
1.2.2 Le tritium libéré lors des essais nucléaires atmosphériques	34
1.2.3 Le tritium relâché par les installations nucléaires	34
1.2.3.1 Réacteurs de puissance et retraitement du combustible	35
1.2.3.2 Réacteurs dédiés à la production de tritium	35
1.2.3.3 Autres installations	36
1.2.4 Utilisations et émissions futures du tritium	36
1.2.5 Importance relative des sources naturelles et anthropiques	36
1.3 <i>Radiotoxicité et dosimétrie du tritium</i>	37
1.3.1 Contamination par le tritium	37
1.3.1.1 Incorporation du tritium	38
1.3.1.1.1 Incorporation du tritium par inhalation	38
1.3.1.1.2 Incorporation du tritium par ingestion	38
1.3.1.1.3 Incorporation du tritium par absorption cutanée	38
1.3.1.2 Cinétique des composés tritiés dans l'organisme	39
1.3.2 Effets biologiques du tritium	39
1.3.3 Dosimétrie du tritium	40
1.3.3.1 Dose efficace engagée par unité d'incorporation (DPUI)	40
1.3.3.2 Impact du tritium autour des centrales nucléaires françaises	41
1.3.4 Modèles et recommandations	41
2 Le tritium dans l'environnement	42
2.1 <i>Les différentes formes du tritium dans l'environnement</i>	42
2.1.1 Les formes chimiques non-organiques du tritium	42
2.1.2 Le tritium dans les organismes biologiques	42
2.1.2.1 Le tritium dans l'eau tissulaire des organismes	42
2.1.2.2 Le tritium dans la matière organique	42
2.1.2.2.1 Le Tritium Organiquement Lié échangeable	42
2.1.2.2.2 Le Tritium Organiquement Lié non échangeable	43
2.1.2.2.3 Discussion	43
2.2 <i>Transport et transferts du tritium dans l'environnement</i>	44
2.2.1 Le cycle géochimique de l'eau	44
2.2.2 Circulation et rétention du tritium dans L'environnement	45
2.2.2.1 Le tritium dans l'atmosphère	45
2.2.2.2 Le tritium dans les sols	46
2.2.2.2.1 Absorption de l'hydrogène tritié par le sol	46

>	Vitesse de dépôt de l'hydrogène tritié _____	46
>	Oxydation biochimique de l'hydrogène tritié _____	46
2.2.2.2.2	Absorption de la vapeur d'eau tritiée par le sol _____	47
>	Échange superficiel de vapeur d'eau tritiée à la surface du sol _____	47
>	Vitesse apparente de dépôt de la vapeur d'eau tritiée _____	47
2.2.2.2.3	Dépôt humide de l'eau tritiée au sol _____	47
2.2.2.2.4	Evaporation et migration de l'eau tritiée du sol _____	48
2.2.2.2.5	Le tritium organique dans le sol _____	49
2.2.2.3	Transfert du tritium aux êtres vivants _____	50
2.2.2.3.1	Transfert du tritium aux animaux _____	50
2.2.2.3.2	Rôle des végétaux dans l'intégration du tritium au sein des écosystèmes _____	50
2.2.2.4	Le tritium dans les eaux de surface _____	51
2.2.2.5	Le tritium dans les océans _____	51
2.2.3	Le tritium dans l'alimentation humaine _____	51
3	Le tritium dans la végétation _____	52
3.1	<i>Rappels concernant le fonctionnement des plantes vasculaires _____</i>	<i>52</i>
3.1.1	L'organisation des plantes et des cellules végétales _____	52
3.1.1.1	La cellule végétale _____	52
3.1.1.2	Les organes de la plante _____	53
3.1.1.2.1	Les organes végétatifs _____	54
3.1.1.2.2	Les organes reproducteurs _____	54
3.1.2	Les relations hydriques chez les plantes vasculaires _____	55
3.1.2.1	Les tissus conducteurs _____	55
3.1.2.2	Le mouvement de l'eau dans les cellules et les tissus _____	55
3.1.3	La photosynthèse _____	56
3.1.3.1	Les mécanismes photosynthétiques _____	56
3.1.3.1.1	Les structures photosynthétiques _____	56
3.1.3.1.2	Les réactions photosynthétiques _____	56
>	Bilan global de la photosynthèse _____	56
>	Réactions photochimiques (phase « claire ») _____	57
>	Le cycle de Calvin (phase « sombre ») _____	58
3.1.3.1.3	Le devenir des photoassimilats _____	59
3.1.3.2	Les types métaboliques du point de vue photosynthétique _____	59
3.1.3.2.1	Bilan photosynthétique en C3 _____	59
3.1.3.2.2	Bilan photosynthétique en C4 _____	60
3.1.3.2.3	Le métabolisme crassulacéen _____	60
3.1.3.3	Les facteurs limitants de la photosynthèse _____	60
3.2	<i>Transferts du tritium à la végétation _____</i>	<i>61</i>
3.2.1	Absorption des différentes espèces chimiques par la végétation _____	62
3.2.1.1	HTO _____	62
3.2.1.2	HT _____	62
3.2.1.3	Autres espèces chimiques transférées _____	62
3.2.2	Voies et mécanismes d'absorption du tritium par la végétation _____	62
3.2.2.1	Voie racinaire : transfert du tritium par flux en masse _____	63
3.2.2.2	Voie foliaire : transfert du tritium par diffusion _____	63
3.2.2.3	Importance relative des phénomènes évaporatifs et diffusifs _____	64
3.2.2.4	Transfert cuticulaire du tritium _____	64
3.2.2.5	Cas particuliers _____	65
3.2.2.5.1	Plantes en C4 _____	65
3.2.2.5.2	Plantes non vasculaires et champignons _____	65
3.2.2.5.3	Autres cas _____	65

3.2.3	Elimination de l'eau tritiée par transpiration des végétaux	66
3.2.3.1	Cas d'une contamination par voie atmosphérique	66
3.2.3.2	Cas d'une contamination par voie racinaire	66
3.2.4	Cinétiques d'absorption et d'élimination du tritium dans les végétaux	66
3.2.4.1	Cinétiques d'absorption	66
3.2.4.1.1	Cinétiques d'absorption du tritium par voie atmosphérique	67
3.2.4.1.2	Cinétiques d'absorption du tritium par voie racinaire	68
3.2.4.2	Cinétique d'élimination	70
3.3	<i>Intégration du tritium organique dans les végétaux</i>	72
3.3.1	Mécanismes de production du tritium organique chez les végétaux	73
3.3.1.1	Production d'OBT à partir d'eau tritiée (HTO)	73
3.3.1.1.1	Mécanismes photosynthétiques	73
3.3.1.1.2	Mécanismes non photosynthétiques	73
3.3.1.2	Production d'OBT à partir d'hydrogène tritié (HT)	74
3.3.1.3	Production d'OBT à partir d'autres composés tritiés	74
3.3.2	Facteurs d'influence sur la production du tritium organique	74
3.3.2.1	Espèce végétale et organe concernés	75
3.3.2.2	Molécule concernée	75
3.3.2.3	Stade de développement de la plante	75
3.3.2.4	Paramètres environnementaux	76
3.3.3	Cinétique de production du tritium organique chez les végétaux	76
3.3.4	Translocation du tritium organique chez les végétaux	76
3.3.5	Fractionnement isotopique du tritium organique chez les végétaux	77
3.3.6	Facteurs de transfert du tritium vers la fraction organique des végétaux	80
3.3.6.1	Définitions des facteurs de transfert	80
3.3.6.2	Mesures des facteurs de transfert du tritium vers la fraction organique	81
3.3.6.3	Limites	82
3.4	<i>Impact dosimétrique du tritium du à la consommation humaine de végétaux</i>	83
4	Modèles du transfert et de l'intégration du tritium dans les végétaux	84
4.1	<i>Introduction</i>	84
4.1.1	Objectifs des modèles	84
4.1.2	Hypothèses et paramètres usuels	84
4.2	<i>Modèles dynamiques (exposition de courte durée)</i>	85
4.2.1	Modélisation de l'absorption et de la désorption du tritium	85
4.2.2	Modélisation de la formation du tritium organique	89
4.3	<i>Modèles statiques (conditions de pseudo-équilibre)</i>	91
4.3.1	Modélisation de l'activité dans l'eau tissulaire à l'état d'équilibre	92
4.3.2	Modélisation de la formation du tritium organique	94
4.3.3	Modélisation de l'activité tritium globale dans les plantes	95
4.4	<i>Bilan sur les modèles</i>	95
5	Investigations futures	97
5.1	<i>Intégration du tritium organique</i>	97
5.1.1	Cas des expositions chroniques	97
5.1.2	Mécanismes biologiques liés à l'intégration du tritium organique	97
5.2	<i>Impact radiologique des faibles doses</i>	98
5.3	<i>Standards en matière de mesure et matériel biologique de référence</i>	98
5.3.1	Nécessité d'uniformiser les techniques	98
5.3.2	Absence de matériel biologique de référence	99

INTRODUCTION

L'hydrogène a trois **isotopes** naturels : l'hydrogène léger (ou protium) qui est le plus abondant (99,98% en conditions naturelles), le deutérium (0,015%) et le tritium, présent en quantité infime (un atome de tritium pour 10^{18} atomes d'hydrogène). Globalement, les trois **isotopes** possèdent les mêmes propriétés chimiques et physiques. De ce fait, le tritium participe aux cycles biogéochimiques de l'hydrogène, notamment celui de l'eau, et peut prendre sa place dans toutes les molécules, y compris les molécules hydrogénées de la matière vivante. L'hydrogène étant un élément essentiel de la vie, et l'un des plus abondants dans le milieu naturel, le tritium est présent dans tous les compartiments environnementaux des **écosystèmes** (atmosphère, sol, eaux, microflore, végétation, faune...).

Ce chapitre de synthèse bibliographique a pour objectif d'aborder de manière large les différents aspects relatifs aux transferts du tritium vers les végétaux. Tout d'abord, les caractéristiques physico-chimiques et radiologiques, les sources et la dosimétrie du tritium sont rappelées. Les différentes formes du tritium dans l'environnement, notamment dans la matière organique, et les mécanismes de son transfert au sein des **écosystèmes** sont également exposés. Quelques données de base de physiologie végétale permettent ensuite de détailler les mécanismes de transfert du tritium vers les plantes, jusqu'à son incorporation dans la matière organique. Une attention particulière est portée sur les végétaux consommés par l'Homme. Les principaux modèles prédictifs développés sur la base de données expérimentales sont décrits. Enfin les lacunes majeures dans les connaissances relatives au tritium chez les végétaux sont listées.

1 CARACTERISTIQUES DU TRITIUM

1.1 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET CARACTERISTIQUES RADIOLOGIQUES DU TRITIUM

1.1.1 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU TRITIUM

Le tritium, découvert par Rutherford en 1934 puis identifié par Alvarez en 1939 (Alvarez and Cornog, 1939), est un **isotope radioactif** naturel de l'hydrogène. Son numéro atomique est 1 et sa masse atomique 3. Représenté indifféremment par ^3H ou T, son noyau est constitué d'un proton et de deux neutrons.

La forme la plus abondante du tritium dans le milieu naturel et les espèces vivantes est l'eau tritiée (HTO), qui est légèrement plus lourde que l'eau légère H_2O . La différence de masse entre les deux composés entraîne une faible discrimination isotopique. Celle-ci se manifeste par de légères différences de comportement physico-chimique entre les **isotopes**, notamment dans les processus naturels de changement de phase (Belot et al., 1996). En théorie, les réactions chimiques sont plus lentes avec les **isotopes** les plus lourds. Cependant, la concentration naturelle du tritium étant très faible (à titre d'exemple : $0,6 \text{ Bq L}^{-1}$ dans les eaux de pluie), son influence sur les propriétés physiques et chimiques des eaux naturelles est négligeable à l'échelle macroscopique (Eisenbud, 1978; McFarlane et al., 1979a). La discrimination isotopique induit en outre un léger appauvrissement en tritium des molécules organiques formées par les réactions enzymatiques par rapport à l'eau environnante.

En conditions naturelles, la discrimination isotopique ne semble pas entraîner d'accumulation significative de tritium dans les compartiments biologiques (Elwood, 1971; Eisenbud, 1978; Murphy, 1993; Belot et al., 1996). Le comportement du tritium dans l'environnement peut donc être globalement assimilé à celui de l'hydrogène (Eisenbud, 1978) et par voie de conséquence, il est essentiellement gouverné par le cycle de l'eau (Elwood, 1971; McFarlane et al., 1979a; Momoshima et al., 1991; Murphy, 1993; Okada and Momoshima, 1993).

1.1.2 CARACTERISTIQUES RADIOLOGIQUES DU TRITIUM

Période radioactive	12,35 ans
Activité massique	$3,6 \cdot 10^{14} \text{ Bq g}^{-1}$
Energie moyenne du rayonnement β^- émis	5,685 keV
Energie maximale	18,6 keV
Parcours maximal dans l'eau	6 μm
Parcours maximal dans l'air	5 mm
Dose pour 1 PBq HTO kg^{-1} eau	3,28 Gy h^{-1}

Tableau 1 : Caractéristiques radiologiques du tritium (ICRP, 1983; Browne and Firestone, 1986).

Le tritium est un **émetteur β^-** pur. Sa **période radioactive** est de 12,35 ans, ce qui correspond à une constante de décroissance de $5,6 \cdot 10^{-2} \text{ a}^{-1}$. Sa **désintégration** conduit à la formation d'hélium 3 et à l'émission d'un électron dont l'énergie moyenne est de 5,685 keV et l'énergie maximale de 18,6 keV. La pénétration de ce rayonnement n'est que de 5 mm dans l'air et de 6 μm dans l'eau ou les tissus biologiques (Belot et al., 1996).

L'activité d'un gramme de tritium (T_2) s'élève à 360 TBq (9,7 kCi). Les principales caractéristiques radiologiques du tritium sont récapitulées dans le Tableau 1 (ICRP, 1983; Browne and Firestone, 1986; Belot et al., 1996).

1.2 ORIGINES DU TRITIUM

En préambule, il convient de rappeler que les quantités de tritium sont exprimées soit en quantité de matière (en grammes) soit en activité (en **Becquerel**). Un gramme de tritium (T_2) a une activité de $3,6 \cdot 10^{14} \text{ Bq}$ (soit 0,36 PBq ou 360 TBq).

1.2.1 SOURCES NATURELLES DE TRITIUM

Le tritium est naturellement produit par action des rayonnements cosmiques sur certains composés de la haute atmosphère, principalement par réaction de neutrons sur des noyaux d'azote. Une très faible fraction du tritium naturel est produite dans la croûte terrestre suite à la capture des neutrons par le lithium (^6Li) contenu dans les roches (Kaufman, 1954; Okada and Momoshima, 1993). L'inventaire global du tritium naturel a été estimé par l'United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) à environ 3,5 kg (1300 PBq), ce qui correspond, compte tenu des niveaux de décroissance, à une production naturelle de 150 à 200 g an^{-1} (50 à 70 PBq) (Belot et al., 1996; UNSCEAR, 2000).

1.2.2 LE TRITIUM LIBERE LORS DES ESSAIS NUCLEAIRES ATMOSPHERIQUES

Le tritium libéré dans l'environnement du fait des activités humaines a plusieurs origines. Les essais nucléaires atmosphériques réalisés à partir de 1945, particulièrement entre 1952 et 1963, sont à l'origine de la part la plus importante de ce tritium anthropique. La quantité totale de tritium injectée dans l'atmosphère durant cette période a été estimée à environ 560 kg (soit $2,4 \cdot 10^{20} \text{ Bq}$), dont 80% dans l'hémisphère Nord. Compte tenu de la décroissance **radioactive**, il n'en resterait à présent (2009) qu'environ 30 kg, répartis entre les océans (90%) et les eaux continentales (10%) (Belot et al., 1996; Guétat et al., 2008b).

1.2.3 LE TRITIUM RELACHE PAR LES INSTALLATIONS NUCLEAIRES

Les sources principales de production du tritium anthropogénique sont par ordre d'importance les usines de retraitement du combustible, les installations de production de tritium et les centrales nucléaires (Okada and Momoshima, 1993; Tort et al., 1997; Guétat et al., 2008b), auxquelles s'ajoutent quelques petits producteurs. Quelques valeurs de rejets pour différents types d'installations en France sont données dans le Tableau 2.

Source de tritium	Liquide	Gazeux
Centrales nucléaires		
Réacteur PWR de 900 MWe	10.10 ¹²	0,2.10 ¹²
Réacteur PWR de 1300 MWe	30.10 ¹²	1,3.10 ¹²
Usine de retraitement	10.10 ¹⁵	70.10 ¹²
Autres installations		
Atelier de préparation de ³ H		330.10 ¹²
Centre de recherche	0,2.10 ¹²	90.10 ¹²
Activités militaires		1,2.10 ¹⁵

Tableau 2: Valeurs de rejets de tritium dans l'environnement en France selon le type d'installation (en Bq a⁻¹) (CARMIN, 2008a; Le Guen, 2008).

1.2.3.1 Réacteurs de puissance et retraitement du combustible

Dans les réacteurs nucléaires, le tritium est un produit de fission ternaire de certains **isotopes** de l'uranium et du plutonium. Dans les réacteurs à eau légère, le tritium de fission reste en grande partie dans le combustible ou dans les gaines des crayons d'éléments combustibles. De ce fait, le dégagement du tritium dans le liquide de refroidissement du circuit primaire est minime (Belot et al., 1996). La majeure partie du tritium de fission est libérée lors du retraitement du combustible. Les rejets tritium des usines de retraitement se font principalement sous forme liquide. A titre d'exemple, l'usine de la Hague rejette 10 PBq a⁻¹ de tritium sous forme liquide en milieu marin et 0,07 PBq a⁻¹ sous forme gazeuse (Guétat et al., 2008b).

Par ailleurs, du tritium est formé par activation neutronique d'éléments légers présents dans certains réacteurs, notamment le deutérium ou le Bore-10 utilisés comme modérateurs ou le Lithium-6 utilisé pour contrôler le pH (Le Guen, 2008). Ce tritium constitue la majeure partie des rejets en provenance directe des réacteurs. Dans les réacteurs à eau lourde (essentiellement ceux de la filière canadienne CANDU), la production de tritium par activation neutronique du deutérium de l'eau lourde dépasse de très loin la production du tritium dans le combustible lui-même (Belot et al., 1996). Malgré les mesures de confinement prises pour limiter les rejets, les taux de relâchement de ce type de réacteurs sont supérieurs de plusieurs ordres de grandeur à ceux des réacteurs à eau légère.

Au total, les centrales nucléaires à eau légère présentent des rejets relativement faibles, de l'ordre de 2 TBq a⁻¹ pour un réacteur à eau bouillante (type BWR) et d'environ 30 TBq a⁻¹ pour un réacteur à eau pressurisée PWR (essentiellement sous forme liquide), tandis que les rejets de tritium d'un réacteur à eau lourde s'élèvent à environ 100 à 1000 TBq a⁻¹ (Guétat et al., 2008b; Le Guen, 2008).

1.2.3.2 Réacteurs dédiés à la production de tritium

La production en quantités significatives de tritium s'effectue dans des réacteurs nucléaires spécifiques par irradiation neutronique d'éléments fertiles tels que le Lithium-6. Les

installations dédiées à la production de tritium conduisent au rejet d'environ 5 g de tritium par an en France (environ 2 PBq), 2 g au Canada et 30 g aux Etats-Unis (Belot et al., 1996).

1.2.3.3 Autres installations

D'autres installations tels que les centres de recherche, les hôpitaux ou certaines industries utilisent du tritium et génèrent des déchets tritiés à une moindre échelle. Ainsi, la production de composés organiques tritiés destinés à la recherche médicale conduit à des rejets de molécules organiques marquées, comme à Amersham en Grande Bretagne (0,1 PBq de composés tritiés rejetés par an). La production industrielle de dispositifs luminescents utilisant du tritium pour ses propriétés de fluorescence entraîne également des rejets annuels non négligeables de tritium sous forme gazeuse, de l'ordre de quelques PBq par installation (Guétat et al., 2008b). En France, les stocks de déchets provenant de ces « petits utilisateurs » sont évalués 0,5 PBq, dont la majeure partie peut être incinérée ou éliminée en centre de stockage de surface (Guétat et al., 2008b).

1.2.4 UTILISATIONS ET EMISSIONS FUTURES DU TRITIUM

Dans les centrales nucléaires françaises, la production de tritium est essentiellement liée à l'énergie produite par le réacteur et au mode de gestion du combustible. En effet, plus le taux d'enrichissement en Uranium-235 est élevé, plus la concentration en Bore-10 utilisée pour compenser l'excès de réactivité du combustible est importante, et plus la quantité de tritium formé par activation du bore est importante. De ce fait, les gestions futures dites à haut taux de combustion (HTC), utilisant un combustible à fort taux d'enrichissement (supérieur à 4,5 %) entraîneront, à énergie produite égale, la formation de quantités de tritium plus importantes (Le Guen, 2008).

Dans le futur, les technologies de fusion rejeteront également du tritium dans l'atmosphère. En effet, une couverture tritigène est utilisée dans les réacteurs de fusion ; elle absorbe ou ralentit les neutrons émis par le plasma et de ce fait, remplit les fonctions de source de chaleur, de protecteur neutronique et de générateur du tritium brûlé par le réacteur (Weisse, 2000). En fonctionnement nominal, le réacteur expérimental ITER (International Thermonuclear Experimental Reactor) devrait utiliser 1,0 à 1,2 kg de tritium par an (Glugla et al., 2007). Les rejets associés à ce type d'installations sont encore difficiles à évaluer (Guétat et al., 2008b).

A titre d'exhaustivité, les lasers de puissance, comme le laser MegaJoule en France, devraient utiliser et rejeter dans les années à venir quelques mg a⁻¹ de tritium.

1.2.5 IMPORTANCE RELATIVE DES SOURCES NATURELLES ET ANTHROPIQUES

A l'échelle mondiale, la production industrielle de tritium est estimée à environ quelques dizaines de PBq par an. De ce fait le tritium est l'un des **radionucléides** rejetés par l'homme dans l'environnement dont l'activité est la plus importante. L'activité rejetée est en augmentation, mais demeure inférieure à la production naturelle de tritium d'environ 0,15 à 0,20 kg par an, soit environ 50 à 70 TBq (Belot et al., 1996).

Les activités en tritium des eaux « naturelles » sont assimilées aux activités mesurées dans les eaux de surface dans la période pré-nucléaire (avant 1950) et sont de l'ordre de 0,1 à 0,8 Bq L⁻¹ (Grosse et al., 1951; Momoshima et al., 1991). L'activité du tritium dans les eaux de pluie de l'hémisphère Nord a atteint 150 Bq L⁻¹ en 1963 suite aux essais nucléaires atmosphériques. Aujourd'hui, l'activité tritium enregistrée à la surface du globe est proche de la concentration d'équilibre du tritium naturel, de l'ordre de 1 à 10 Bq L⁻¹ selon le compartiment considéré (Guétat et al., 2008b) (Tableau 3). L'activité moyenne des eaux d'alimentation souterraines en France et en Grande-Bretagne ne dépasse pas 10 Bq L⁻¹. L'eau des fleuves français présente une activité moyenne inférieure à 20 Bq L⁻¹, à l'exception du Doubs, du fait des quelques industries horlogères encore basées sur son cours. Ainsi, dans les années 1990, des activités supérieures à 100 Bq L⁻¹ ont été mesurées dans ce cours d'eau (Belot et al., 1996; Tort et al., 1997).

	Période pré-nucléaire (1950)	Période d'essais nucléaires (années 1960)	Période actuelle (2009)
Eaux de pluie	0,6	150 (hémisphère Nord) 10 (hémisphère Sud)	1 - 2
Fleuves et rivières	0,3 - 0,8		< 10
Eaux souterraines			1 - 10
Mers et océans	< 0,1		< 0,3
Glaces et pôles	0,5 - 6	9 - 500	2 - 4

Tableau 3: Concentrations en tritium dans les eaux naturelles (Bq L⁻¹), avant les essais nucléaires atmosphériques et actuellement (Grosse et al., 1951; Momoshima et al., 1991; Belot et al., 1996; Tort et al., 1997; Guétat et al., 2008b).

Les quantités de tritium actuellement présentes dans l'environnement du fait des productions naturelles ou anthropiques sont largement insuffisantes pour présenter un risque radiologique majeur à l'échelle mondiale. Néanmoins, les rejets de tritium augmentent et devraient continuer à augmenter, notamment compte tenu des modes de gestion du combustible dans les réacteurs (Le Guen, 2008). L'évaluation de l'impact radiologique lié au tritium à proximité des sites nucléaires fait l'objet d'une attention croissante, dans le cadre du fonctionnement de routine mais aussi en prévention de potentiels relargages accidentels des installations (Okada and Momoshima, 1993; Gulden and Raskob, 2005).

1.3 RADIOTOXICITE ET DOSIMETRIE DU TRITIUM

1.3.1 CONTAMINATION PAR LE TRITIUM

Le parcours maximal du rayonnement émis par le tritium est de 6 µm dans l'eau et les tissus biologiques, tandis que les épaisseurs du derme et de l'**épiderme** des tissus humains sont de 20 à 100 µm et de 1 à 3 mm respectivement. A moins d'une exposition cutanée à de très fortes

doses, le tritium ne présente un risque radiologique que s'il est absorbé par l'organisme (Okada and Momoshima, 1993; Belot et al., 1996).

1.3.1.1 Incorporation du tritium

La contamination par le tritium peut résulter d'une exposition interne (inhalation ou ingestion) ou externe (absorption cutanée). La pénétration dans les tissus, les organes ou les fluides biologiques est plus ou moins rapide selon la forme chimique initiale. Tout comme son **isotope** stable (l'hydrogène), le tritium suit les voies d'accès normales de l'eau et des substances organiques non **radioactives** (Belot et al., 1996).

1.3.1.1.1 Incorporation du tritium par inhalation

Le transfert du tritium dans le sang dépend de la forme chimique inhalée (ICRP, 1989, 1993, 1995; Belot et al., 1996).

- La vapeur d'eau tritiée est presque complètement (à plus de 99%) transférée sous forme d'eau tritiée vers le sang à travers les **épithéliums** respiratoires.
- Le tritium gazeux étant peu soluble, seul 0,01% de l'activité inhalée est transféré dans le sang sous forme d'HTO.
- De la même façon, le méthane tritié inhalé n'est guère transférable au sang (environ 1%).
- L'absorption du tritium organique (sous forme gazeuse ou d'aérosols) dépend des propriétés chimiques de la molécule dans laquelle il est inséré. Si la molécule est soluble dans l'eau, l'absorption de vapeurs organiques tritiées est rapide et complète.
- D'autres composés peuvent également être inhalés : tritiures métalliques, peintures radioluminescentes... Leur comportement est mal connu ; il semble néanmoins que la libération du tritium dans l'organisme suite à ce type de contamination soit relativement lente (plusieurs dizaines de jours) (Belot et al., 1996).

1.3.1.1.2 Incorporation du tritium par ingestion

L'absorption digestive du tritium est complète et rapide, quelle que soit sa forme (eau tritiée ou tritium organique). Le tritium est ainsi rapidement transféré au sang, puis il suit le devenir biologique de l'hydrogène. La majeure partie des molécules tritiées absorbée sous forme organique est dégradée par la digestion en eau tritiée. Une faible fraction peut toutefois être transférée au sang sous sa forme initiale (Belot et al., 1996).

1.3.1.1.3 Incorporation du tritium par absorption cutanée

L'eau tritiée qui pénètre l'organisme à travers la peau est très facilement transférée vers le sang. Dans une atmosphère contenant de la vapeur d'eau tritiée, on estime qu'un tiers de la contamination se fait par voie percutanée, et deux tiers par inhalation (ICRP, 1989, 1993, 1995; Belot et al., 1996; ICRP, 1996).

L'hydrogène tritié pénètre en revanche difficilement la peau.

Les composés organiques (huiles), les tritiums métalliques ou encore les peintures radioluminescentes peuvent également être absorbés à travers la peau (Belot et al., 1996).

1.3.1.2 Cinétique des composés tritiés dans l'organisme

Après leur incorporation dans l'organisme, les molécules tritiées se répartissent dans l'ensemble du corps en fonction de leur métabolisme. Les mécanismes de transfert du tritium au sein de l'organisme peuvent être caractérisés par des constantes de transfert entre les différents compartiments que constituent les organes et tissus biologiques. On considère en général une cinétique du premier ordre pour calculer à chaque instant la rétention du tritium dans les différents organes et l'impact dosimétrique qui en découle (Belot et al., 1996).

Les biocinétiques d'élimination du tritium dépendent de la forme chimique considérée. L'eau tritiée suit les voies de transfert normales de l'eau dans l'organisme : elle est éliminée normalement par les urines, la transpiration et l'air expiré. Le renouvellement de l'eau libre corporelle et l'élimination consécutive du tritium suite à une exposition s'effectuent avec une période biologique d'une dizaine de jours chez l'adulte (Belot et al., 1996; Trivedi et al., 1997). Le tritium absorbé est transféré au sang sous forme d'eau tritiée. De là, 3% sont intégrés dans des molécules organiques et 97% restent sous forme d'HTO (ICRP, 1989).

La plupart des composés organiques absorbés sont utilisés et dégradés pour produire de l'énergie et de l'eau tritiée qui retourne au pool de l'eau cellulaire. Une fraction mineure des composés organiques ingérés est cependant directement incorporée aux tissus sous forme organique. En moyenne, le tritium organique se maintient au sein du corps environ 30 à 40 jours (Belot et al., 1996), mais certaines molécules organiques tritiées (notamment les matières adipeuses ou le collagène) peuvent demeurer dans l'organisme jusqu'à 450 jours (Okada and Momoshima, 1993).

1.3.2 EFFETS BIOLOGIQUES DU TRITIUM

Les facteurs de risques liés au tritium sur le plan biologique tiennent notamment à sa très grande mobilité et à ses capacités d'échange avec les hydrogènes labiles des molécules organiques telles que les **acides nucléiques (ADN, ARN)** ou les **protéines**. D'une manière générale, les dommages potentiels à l'**ADN** sont considérés comme un point critique vis-à-vis des effets des **rayonnements ionisants**, qu'il s'agisse de la mort cellulaire ou de l'induction de mutations, potentiellement transmissibles aux descendants de la **cellule** touchée après division cellulaire de **cellules** lésées.

Les effets biologiques et les risques radiologiques associés au tritium ont fait l'objet de nombreuses études épidémiologiques sur différents types de population : travailleurs du nucléaire, populations vivant à proximité d'installations nucléaires, adultes ou jeunes enfants (Little and Wakeford, 2008). Les seuls effets sanitaires significatifs dus au tritium ont été observés chez des utilisateurs professionnels de peintures luminescentes, dont le nombre de **cellules** sanguines a chuté (CARMIN, 2008a). En dehors de ces quelques cas d'exposition chronique et massive (plusieurs TBq), aucun effet n'a été observé chez l'Homme. En particulier, les études épidémiologiques ne mettent pas en évidence d'excès de cancers attribuables au tritium. Cependant, la plupart de ces études se basent sur des données statistiques collectées auprès de travailleurs du nucléaire exposés à différentes sources de radiations, et il est souvent impossible de tirer des conclusions quant à l'impact spécifique d'une exposition au tritium (Little and Wakeford, 2008). D'autre part, les données expérimentales actuelles concernant les

expositions chroniques à faible dose et à faible débit de dose ne sont pas suffisamment étayées pour le tritium.

De fait, les connaissances actuelles sur les effets radiologiques du tritium se basent essentiellement sur des observations faites en laboratoire sur des cultures cellulaires ou sur des animaux. Ces expériences ont démontré que des excès de tumeurs, leucémies, malformations fœtales, et mutations génétiques peuvent être induits chez des rongeurs suite à une exposition au tritium à fortes doses, au-delà de 0,1-0,2 Gy (correspondant à 100-200 mSv) (Okada and Momoshima, 1993; Straume, 1993; Belot et al., 1996). Bien que les concentrations pour lesquelles des effets biologiques ou cancérogènes apparaissent expérimentalement soient très supérieures aux concentrations mesurées dans l'environnement, le risque de développement d'un cancer chez l'Homme suite à une exposition plus ou moins chronique au tritium ne peut être exclu. La probabilité théorique de mort par cancer du à une incorporation de tritium a été estimée à $65 \cdot 10^{-6}$ par mSv (Straume, 1993).

De façon à pouvoir transposer les résultats obtenus sur les animaux au cas humain, l'Efficacité Biologique Relative (EBR) a été définie comme le rapport de la **dose absorbée** d'un rayonnement de référence (X ou gamma) à la **dose absorbée** du rayonnement étudié produisant le même effet biologique. En outre, la probabilité des **effets stochastiques** ne dépend pas seulement de la **dose absorbée** mais également du type et de l'énergie du rayonnement. Pour appréhender cet aspect, un facteur de pondération w_R a été défini, qui vise à convertir la **dose absorbée** en **dose équivalente**. Sur la base de considérations biophysiques, la Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) considère des valeurs de l'EBR et du facteur w_R de 1 pour le tritium (ICRP, 2007). Néanmoins, la valeur de ces paramètres est actuellement discutée. Certains biologistes utilisent ou demandent un réajustement de l'EBR à une valeur de 2 ou 3 (Straume, 1993; Melintescu et al., 2007; Galeriu et al., 2008; Little and Wakeford, 2008).

1.3.3 DOSIMETRIE DU TRITIUM

1.3.3.1 Dose efficace engagée par unité d'incorporation (DPUI)

La **dose efficace engagée par unité d'incorporation (DPUI)** pour une personne adulte a été évaluée à $1,8 \cdot 10^{-15}$ Sv Bq⁻¹ pour le tritium gaz HT (inhalation), $1,8 \cdot 10^{-11}$ Sv Bq⁻¹ pour l'eau tritiée HTO (ingestion ou inhalation) et $4,2 \cdot 10^{-11}$ Sv Bq⁻¹ pour le tritium organique (ingestion) (ICRP, 1989, 1993, 1995; Belot et al., 1996; ICRP, 1996). Pour les enfants, ces coefficients ont des valeurs plus élevées d'un facteur 1,3 (enfant âgé de 10 ans) à 3,5 (nourrisson de 3 mois) (ICRP, 1993, 1995; Belot et al., 1996). Le coefficient de dose plus élevé du tritium organique, et son temps de séjour biologique 3 à 6 fois plus long que celui de l'eau tritiée (Galeriu, 1994) font de l'ingestion de cette forme une importante voie d'incorporation du tritium par l'homme (Garland and Ameen, 1979; Diabaté and Strack, 1993).

Cependant, les voies d'exposition sont souvent multiples. Par exemple, en cas d'exposition aiguë au tritium par inhalation d'eau tritiée, le tritium intègre très rapidement et majoritairement l'eau tissulaire de l'organisme mais une petite fraction est incorporée à la matière organique. La dose reçue provient alors à la fois de l'eau tritiée (en grande quantité mais éliminée rapidement) et du tritium organique formé (en faible quantité mais au temps de séjour biologique plus long). On estime que le tritium organique ainsi produit dans le corps humain est responsable d'environ 10% de la dose totale reçue (Trivedi et al., 1997).

1.3.3.2 Impact du tritium autour des centrales nucléaires françaises

Les conséquences sanitaires des rejets **radioactifs** liquides autour de la centrale de Flamanville (Manche, France) ont été évaluées au moyen de codes de calcul par la société exploitante, Electricité de France (EDF) (Le Guen, 2008). La dose annuelle reçue par les personnes du public vivant au voisinage du site a été déterminée en tenant compte des activités rejetées annuellement et des différentes voies d'exposition (en particulier l'ingestion et l'exposition externe). Ces personnes forment le « groupe de référence », pour lequel les calculs de dose ont été réalisés pour un adulte consommant des produits marins pêchés dans un rayon de 500 m autour de la centrale. Le modèle utilisé pour cette étude d'impact inclut des expositions externes due à 100 h d'exposition sur la plage et 20 h de baignade (avec ingestion potentielle d'eau de mer) par an. Il considère l'ingestion de tritium sous forme d'eau tritiée et sous forme organique. En outre, pour un site marin, les quantités de produits de la mer ingérées peuvent être plus élevées pour certains groupes socioprofessionnels comme les pêcheurs. Un deuxième groupe considérant une exposition par ingestion plus importante a donc été considéré (« groupe pêcheur »). A partir de ces hypothèses, l'étude d'impact réalisée pour le site de Flamanville estime que les doses maximales dues au tritium liquide pourraient atteindre environ 0,014 mSv an⁻¹ pour le «groupe de référence » et 0,037 mSv an⁻¹ pour le «groupe pêcheur » avec la mise en service de l'EPR (European Pressurized Reactor) (Le Guen, 2008).

1.3.4 MODELES ET RECOMMANDATIONS

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère une dose effective annuelle inférieure à 0,1 mSv pour le public pour la définition de la potabilité des eaux. Cette dose correspondrait environ à la consommation quotidienne par un adulte de 2 L d'eau tritiée à la concentration de 10000 Bq L⁻¹ pendant une année complète. D'autre part, une directive du Conseil de l'Union Européenne adoptée en 1998 (98/83) fixe un seuil d'investigation de 100 Bq L⁻¹ pour les eaux de boisson (1998).

Cependant, de plus en plus de chercheurs considèrent que les effets du tritium sur la santé humaine sont insuffisamment connus et que les normes et recommandations en matière de radioprotection devraient être réévaluées (Melintescu et al., 2007; Galeriu et al., 2008, HPA, 2007, Radiation protection no 152, 2007).

2 LE TRITIUM DANS L'ENVIRONNEMENT

2.1 LES DIFFERENTES FORMES DU TRITIUM DANS L'ENVIRONNEMENT

2.1.1 LES FORMES CHIMIQUES NON-ORGANIQUES DU TRITIUM

La forme la plus abondante du tritium dans le milieu naturel (ainsi que dans les espèces vivantes) est l'eau tritiée HTO (Belot et al., 1996). D'autres espèces chimiques du tritium sont néanmoins naturellement présentes, principalement le tritium gazeux (HT) et le méthane tritié (CH₃T). Le transfert de ces différentes molécules tritiées dans l'environnement est lié à des processus physiques (transport en masse, diffusion), chimiques (réactions, changements d'état) et biologiques (Murphy, 1993).

2.1.2 LE TRITIUM DANS LES ORGANISMES BIOLOGIQUES

Deux fractions distinctes du tritium sont considérées dans les organismes biologiques, animaux ou végétaux: le tritium présent dans l'eau tissulaire et le tritium incorporé à la matière organique. On distingue en outre deux formes de tritium organique selon la nature des liaisons chimiques dans lesquelles le tritium est impliqué. On parle habituellement de tritium incorporé à la matière organique de façon échangeable ou non-échangeable.

2.1.2.1 Le tritium dans l'eau tissulaire des organismes

Le tritium de l'eau tissulaire (souvent noté TFWT dans la littérature pour « Tissue Free Water Tritium ») correspond à la fraction de tritium sous forme d'eau tritiée (HTO) dans tous les compartiments aqueux des organismes biologiques. Cette fraction aussi appelée « tritium libre » est la plus facile à éliminer de l'organisme du fait du renouvellement de l'eau très rapide chez la plupart des êtres vivants (Belot et al., 1996).

2.1.2.2 Le tritium dans la matière organique

Le tritium organique correspond à la fraction du tritium intégré dans la matière organique des êtres vivants soit par échange isotopique avec des molécules (organiques) existantes, soit lors de la fabrication de nouvelles molécules via les processus métaboliques.

2.1.2.2.1 Le Tritium Organiquement Lié échangeable

Certains atomes de tritium sont liés à des atomes d'oxygène, d'azote, de soufre, d'halogènes... Dans ce type de liaisons covalentes faibles (alcool, acide, amine...), le tritium présente un caractère labile important. De ce fait il est facilement échangé avec les atomes

d'hydrogène (^1H) de l'eau ou des alcools non tritiés (Thompson and Nelson, 1971): c'est pourquoi on parle de **tritium organiquement lié échangeable** (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1993; Baglan et al., 2005).

Les travaux de Guénot (Guenot, 1984) sur des vignes et des plants de pommes de terre soumis à une exposition atmosphérique d'eau tritiée durant quelques heures ont montré que le compartiment hydrogène/tritium échangeable est à tout moment en équilibre avec l'eau tissulaire des plantes. Ces deux compartiments ont donc la même dynamique; les molécules contenant de l'hydrogène échangeable sont accessibles au marquage par le tritium avec la même rapidité que l'eau libre et se décontaminent de même.

2.1.2.2.2 *Le Tritium Organiquement Lié non échangeable*

Certains atomes de tritium sont intégrés à la matière organique par des liaisons covalentes à des atomes de carbone (C-H). Ces liaisons sont stables sauf en présence d'acides forts, de bases fortes ou de catalyseurs. Cette fraction du tritium n'est pas susceptible d'échange isotopique avec le sol et l'atmosphère, on parle pour cette raison de **tritium organiquement lié non échangeable** (Diabaté and Strack, 1993; Ware and Allott, 1999; Pointurier et al., 2004). Du fait de son temps de résidence plus long, la fraction non échangeable représente l'intégration du tritium environnemental pendant la croissance des organismes et plus généralement tout au long de leur vie. De ce fait, c'est un bon indicateur de la contamination au tritium en cas de rejet accidentel ou chronique (Guenot, 1984).

En pratique, si le terme de « **tritium organiquement lié** » ou « organically-bound tritium » (généralement noté TOL ou OBT) correspond en théorie à toute molécule organique à laquelle le tritium est lié, de manière échangeable ou non, on considère souvent dans la littérature que l'OBT renvoie seulement à la fraction non échangeable.

2.1.2.2.3 *Discussion*

Depuis quelques années, la définition du tritium organique non-échangeable comme tritium lié aux atomes de carbone de manière covalente au contraire du tritium organique échangeable (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1993; Baglan et al., 2005) est remise en question. En effet, les atomes de tritium prisonniers de macromolécules ou de sphères d'hydratation du fait de liaisons Hydrogène s'échangent très lentement en raison de leur inaccessibilité à l'eau cellulaire, et non de la nature de leur liaison chimique (Diabaté and Strack, 1993; Baumgartner and Donhaerl, 2004). Par conséquent, cette fraction du tritium dite « piégée » (« *buried tritium* ») peut se comporter, lors de la préparation analytique d'échantillons, de la même manière que le tritium organique non-échangeable sans impliquer de liaisons carbone-tritium (Baumgartner and Donhaerl, 2004).

Le groupe de travail du programme EMRAS (Environmental Modeling for Radiation Safety) de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) en charge des questions relatives au Tritium et au ^{14}C a proposé en 2007 la définition suivante (IAEA, 2007b): « *OBT is carbon-bound and buried tritium that was originally formed in living systems through natural environmental or biological processes from HTO (or HT via HTO). It is the activity in dry biomatter that has been washed repeatedly with tritium free water. Other types of organic tritium (e.g. tritiated methane, tritiated pump oil or radiochemicals) should be called tritiated organics, which can be in any chemical or physical form.* » (« Le terme OBT recouvre le tritium lié aux atomes de carbone et le tritium dit "caché" au sein des molécules qui a été formé dans des systèmes vivants via des processus naturels ou biologiques à partir de HTO (ou HT via HTO). Il est responsable de

l'activité de la matière biologique sèche qui a été lavée plusieurs fois à l'eau non tritiée. Les autres formes du tritium organique (méthane tritié, huiles ou produits radiochimiques tritiés) doivent être appelés produits organiques tritiés, sous quelque forme chimique ou physique qu'ils soient. ». Face à ce problème de définition, il convient donc d'être précis sur le protocole opératoire utilisé en pratique pour la mesure du tritium organique, notamment en ce qui concerne la méthode et le temps mis pour l'échange visant à éliminer la fraction échangeable (Belot et al., 1996; Ware and Allott, 1999). L'approche la plus pragmatique consiste en effet à considérer simplement comme OBT non échangeable la fraction qui n'a pas pu être échangée selon le mode opératoire utilisé.

De plus, il faut garder à l'esprit que ces définitions du tritium organique échangeable ou non-échangeable n'ont pas de sens d'un point de vue biologique (König, 1990). En effet, le tritium sous forme d'eau tritiée est intégré à la fraction organique au cours des réactions métaboliques, en position échangeable ou non selon la réaction considérée. Au cours des processus biologiques, des transformations de molécules surviennent et conduisent au transfert d'atomes de tritium échangeables en position non échangeable. Par conséquent, les molécules organiques, qui jouent un rôle clé dans les processus biologiques, peuvent présenter des atomes de tritium à la fois en position échangeable et en position non échangeable.

2.2 TRANSPORT ET TRANSFERTS DU TRITIUM DANS L'ENVIRONNEMENT

Le tritium est un **isotope** de l'hydrogène et se comporte globalement de la même façon que cet élément dans l'environnement naturel. Il intègre les cycles biogéochimiques, notamment celui de l'eau et est associé à toutes les molécules hydrogénées de la matière vivante.

2.2.1 LE CYCLE GEOCHIMIQUE DE L'EAU

La majeure partie du tritium dans l'environnement est présente sous forme d'eau tritiée et de ce fait liée au cycle géochimique de l'eau (Momoshima et al., 1991). Le schéma global de ce cycle en milieu tempéré océanique est présenté Figure 1 (Keller, 1980). Environ la moitié (51%) des précipitations et des condensations conduisant au dépôt du tritium à la surface du globe est réémise dans l'atmosphère par **évapotranspiration** (Belot et al., 1996). Plus d'un tiers (37%) des précipitations est incorporé à l'eau du sol avant d'être absorbé puis transpiré par la végétation, qui joue un rôle crucial dans le cycle de l'eau au sein des **écosystèmes** terrestres. De ce fait, les plantes représentent un facteur clé pour l'échange du tritium sous forme d'eau tritiée dans ces **écosystèmes**.

Une part importante des précipitations (environ 40%) vient alimenter les cours d'eau. D'autre part, environ 10% des pluies pénètrent le sol en profondeur et infiltrent les nappes phréatiques sous l'influence des phénomènes de gravité, de diffusion ou de capillarité (Murphy, 1993). Le tritium suit dans ce cas le mouvement des eaux souterraines ; son temps de résidence est plus ou moins long selon les caractéristiques géologiques du sol. Les résurgences des eaux souterraines et des eaux de surface alimentent les cours d'eau qui grossissent ainsi jusqu'à leur embouchure dans une étendue marine. L'eau des océans s'évapore en permanence, renouvelant le cycle de l'eau. Les océans sont le principal réservoir d'hydrogène de la planète ; ils représentent une capacité de dilution énorme pour le tritium (Murphy, 1993; Belot et al., 1996). Le tritium se mélange rapidement dans la couche d'eau supérieure des étendues marines (environ 100 m), puis plus lentement dans les eaux profondes (Belot et al., 1996).

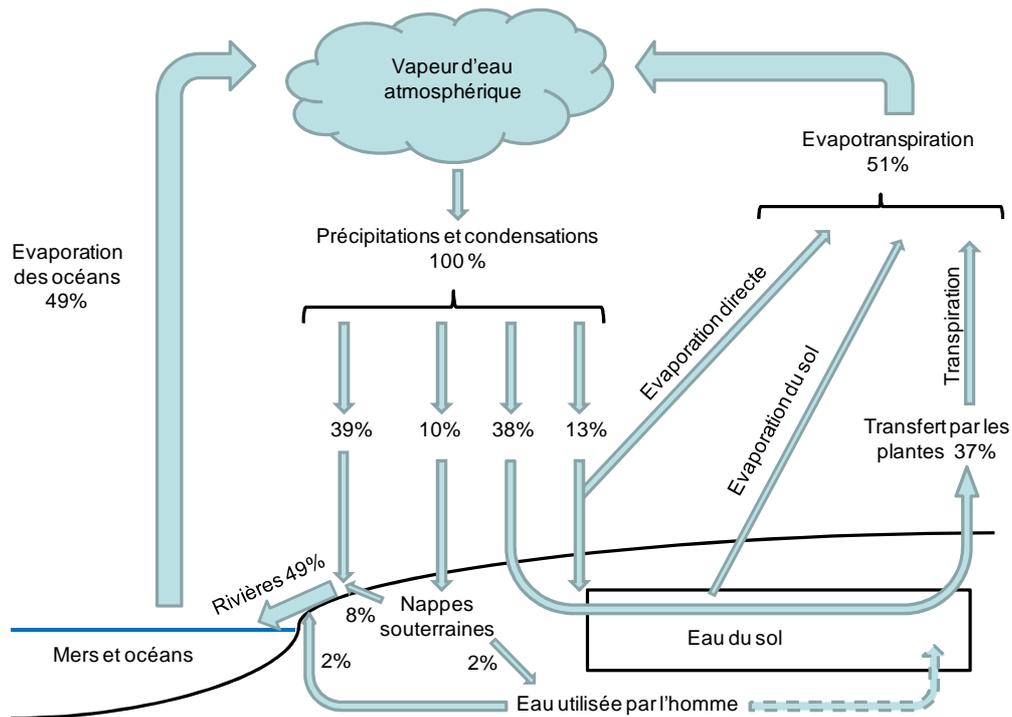


Figure 1: Schéma global du cycle de l'eau en milieu tempéré océanique (d'après Keller, (Keller, 1980)). Ce schéma correspond à une zone modérément boisée, mais fortement cultivée et urbanisée.

2.2.2 CIRCULATION ET RETENTION DU TRITIUM DANS L'ENVIRONNEMENT

2.2.2.1 Le tritium dans l'atmosphère

Les principales formes chimiques du tritium dans l'atmosphère sont par ordre d'importance la vapeur d'eau tritiée (HTO), le tritium gaz (HT) et le méthane tritié (CH_3T). La concentration des espèces tritiées dans l'atmosphère n'est pas assez importante pour que des effets de densité puissent apparaître. De ce fait, le tritium atmosphérique suit les écoulements de l'air ; il est dilué du fait de la dispersion de la même façon que n'importe quel élément trace (Pasquill and Smith, 1988; Belot et al., 1996). Les principaux mécanismes de dispersion du tritium rejeté dans l'atmosphère par les installations nucléaires sont le transport, la diffusion puis le dépôt au sol.

Le transport du tritium est fonction de la vitesse et de la direction des vents, ainsi que du gradient vertical de température observé dans l'atmosphère. Ce dernier joue sur la stabilité des couches atmosphériques et influence ainsi le comportement des panaches.

Les turbulences constituent le mode principal de diffusion. En champ proche, les seules turbulences à agir de façon efficace sur la diffusion sont celles dont la dimension est comparable à celle du nuage.

Les processus atmosphériques de dépôt du tritium au sol sont appelés dépôt humide ou dépôt sec selon que les précipitations (pluie, neige ou brouillard) sont à l'origine des retombées ou non (Belot et al., 1996). Le dépôt sec se produit au contact de l'air contaminé via des

processus de captation à travers les **épidermes** foliaires ou le sol. Le dépôt humide résulte du lessivage du panache par la pluie. Le type d'entraînement du tritium diffère selon l'espèce chimique considérée : du fait de leur faible solubilité, l'hydrogène tritié (HT) et le méthane tritié (CH₃T) sont essentiellement entraînés par dépôt sec. La vapeur d'eau tritiée (HTO) est au contraire facilement échangée avec les gouttes de pluie. De ce fait, la vapeur d'eau tritiée atmosphérique est entraînée au sol à la fois par dépôt humide et par dépôt sec.

Localement, à proximité d'installations rejetant du tritium sous forme gazeuse, des concentrations d'eau tritiée atmosphérique supérieures à celles de l'état naturel peuvent être rencontrées. Les concentrations en tritium dans l'air à proximité d'une source de rejet sont fonction notamment de la direction du vent, de sa vitesse, de la température, de l'hygrométrie, et du facteur de dilution associé (Kotzer and Workman, 1999).

2.2.2.2 Le tritium dans les sols

2.2.2.2.1 Absorption de l'hydrogène tritié par le sol

➤ Vitesse de dépôt de l'hydrogène tritié

La vitesse de dépôt au sol est définie comme le flux de tritium délivré au sol, divisé par la concentration volumique de l'hydrogène tritié dans l'atmosphère au-dessus de ce sol (Belot et al., 1996). Les vitesses de dépôt de l'hydrogène tritié sur la plupart des types de sol sont indépendantes du temps de contact entre le gaz tritié et la surface du sol tant que les conditions météorologiques et les caractéristiques du sol restent constantes pendant la période d'exposition. En revanche, elles sont liées au type de sol et à ses propriétés (structure, contenu en micro-organismes, en eau, en air...) (Belot et al., 1996; Galeriu et al., 2008). Les vitesses de dépôt de l'hydrogène tritié citées dans la littérature pour la plupart des sols sont comprises entre 10⁻⁵ et 10⁻³ m s⁻¹ (Foerstel, 1986, 1988; Paillard et al., 1988; Täschner et al., 1988; Murphy, 1993; Belot et al., 1996; Koarashi et al., 2001).

➤ Oxydation biochimique de l'hydrogène tritié

L'oxydation des molécules d'hydrogène (tritiées ou non) se produit très rapidement à la surface et dans les premiers centimètres du sol du fait de la présence de microorganismes (bactéries, protozoaires, champignons...) produisant une enzyme oxydante appelée hydrogénase (McFarlane et al., 1978, 1979b; Garland and Cox, 1980; Sweet and Murphy, 1981; Belot et al., 1996; Atarashi-Andoh et al., 2002). L'hydrogène tritié (HT) qui pénètre dans les premiers centimètres du sol est ainsi oxydé rapidement en eau tritiée qui se mélange à l'eau du sol.

Des expériences ont montré la formation d'un profil vertical stationnaire dans les sols exposés de façon continue à une atmosphère tritiée (HT) constante (Belot et al., 1996). Bien que la profondeur de pénétration de l'hydrogène tritié varie avec le coefficient de diffusion dans le sol considéré et avec la rapidité de sa conversion en eau tritiée, certains auteurs ont pu déterminer expérimentalement une profondeur de pénétration caractéristique sur plusieurs types de sols différents (Dunstall and Ogram, 1990). En moyenne, cette profondeur est de quelques centimètres seulement en raison de l'oxydation rapide de HT en HTO.

2.2.2.2.2 Absorption de la vapeur d'eau tritiée par le sol

➤ Échange superficiel de vapeur d'eau tritiée à la surface du sol

Le dépôt de la vapeur d'eau atmosphérique au sol, qu'elle soit tritiée ou non, se produit par diffusion entre l'air et la surface du sol (dépôt sec) (Garland, 1980). Le transport de la vapeur jusqu'à la surface peut être décrit par la loi de Fick; le flux net de tritium est proportionnel à la différence des concentrations volumiques de vapeur d'eau tritiée dans l'air et au niveau du sol (Belot et al., 1996).

➤ Vitesse apparente de dépôt de la vapeur d'eau tritiée

Selon Belot (Belot et al., 1996), la vitesse apparente de dépôt de HTO est égale au rapport du flux à la concentration volumique dans l'air selon les relations (1) et (2). Les vitesses de dépôt sur la plupart des types de sols sont comprises entre 10^{-3} et 10^{-1} m s⁻¹ pour la vapeur d'eau tritiée (Eisenbud et al., 1978; Garland, 1980; Belot et al., 1996; Galeriu et al., 2008) selon les conditions météorologiques et les propriétés de la surface considérée.

$$v_d = \frac{J}{\rho_a C_{HTO}^{air}} \quad (1)$$

$$J = v_e (\rho_a C_{HTO}^{air} - \beta \rho_v C_{HTO}^{sol}) \quad (2)$$

Avec :

v_d	vitesse apparente de dépôt de HTO (m s ⁻¹)
J	flux net de tritium (Bq m ⁻² s ⁻¹)
ρ_a	masse de vapeur d'eau par unité de volume d'air (kg m ⁻³)
C_{HTO}^{air}	concentration de tritium dans l'eau atmosphérique (Bq kg ⁻¹)
v_e	vitesse d'échange de la vapeur d'eau tritiée entre l'air et la surface du sol (m s ⁻¹)
β	inverse du facteur de séparation isotopique, $\beta = 0,91$
ρ_v	masse de vapeur saturante par unité de volume d'air à la température du sol (kg m ⁻³)
C_{HTO}^{sol}	concentration HTO dans l'eau de la couche superficielle du sol (Bq kg ⁻¹)

2.2.2.2.3 Dépôt humide de l'eau tritiée au sol

En cas de pluie, le dépôt au sol est calculé à partir de l'activité massique d'une goutte de pluie selon la relation (3) :

$$D_{pluie} = C_{HTO}^{pluie} \times \rho_{eau} \times I_{pluie} \times t \quad (3)$$

Avec :

D_{pluie}	dépôt du tritium au sol (Bq m^{-2})
C_{HTO}^{pluie}	activité massique moyenne d'une goutte de pluie (Bq kg^{-1})
ρ_{eau}	masse volumique de l'eau (kg d'eau m^{-3})
I_{pluie}	intensité de la pluie (m h^{-1})
t	durée de la pluie (h)

2.2.2.2.4 Evaporation et migration de l'eau tritiée du sol

Quelle que soit la forme initiale de son dépôt au sol (HT ou HTO, liquide ou vapeur), le tritium est intégré à plus ou moins long terme à la solution du sol. L'eau tritiée du sol suit alors le même comportement que l'eau non tritiée, et participe notamment aux phénomènes d'évaporation, de transport vers les nappes profondes, d'absorption et de transpiration par les plantes (Eisenbud et al., 1978; Papke and Foerstel, 1991; Murphy, 1993).

La majeure partie du tritium présent dans le sol est ainsi réémise dans l'atmosphère par **évapotranspiration**. Au cours des premières heures suivant le dépôt de tritium gaz (HT), le taux de réémission sous forme de HTO est élevé. Täschner and Bunnenberg (Täschner and Bunnenberg, 1997) ont évalué ce taux à $28\% \text{ h}^{-1}$ pour la première heure. Suite à une exposition unique, l'activité du tritium dans le sol décroît exponentiellement avec une période de quelques jours. Kirchmann et al. ont évalué la demi-vie du tritium dans le sol à environ 1 à 2 jours en été et 5 jours en hiver (Kirchmann et al., 1971; Belot, 1986); Koranda et Martin ont mesuré une moyenne de 4 jours (Koranda and Martin, 1971).

La fraction d'eau tritiée liquide restante dans le sol peut être entraînée, comme l'eau légère, par flux en masse (« bulk flow ») du fait des forces de gravité et de capillarité. Cependant, dans la zone non saturée du sol, la diffusion de l'eau tritiée en phase liquide et en phase gazeuse est le phénomène prépondérant conduisant à la migration de l'eau tritiée dans le sol. Elle répond aux gradients de concentrations de l'eau tritiée au sein des porosités du sol, de sorte qu'un mouvement de HTO peut survenir même en l'absence de mouvement apparent de l'eau ordinaire du sol (Murphy, 1993). Lorsque les mouvements convectifs sont relativement faibles et que l'eau tritiée n'atteint pas une couche imperméable, la vitesse apparente d'enfoncement du tritium v_D imputable à la diffusion peut s'exprimer par la relation (4) (Belot et al., 1996). En l'absence de forte pluie, la vitesse de diffusion est supérieure à la vitesse d'infiltration. Cependant, cette vitesse de diffusion diminue rapidement en fonction du temps. En considérant un coefficient de diffusion de l'ordre de $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, la relation (4) est appropriée pour décrire le mouvement du tritium dans le sol pendant une dizaine de jours, à condition de ne pas rencontrer de vitesse d'infiltration importantes dues à de fortes précipitations.

L'infiltration de l'eau tritiée dans le sol dépend de nombreux facteurs tels que le type de sol (argileux, limoneux, sableux), son occupation (cultivé ou non), sa teneur en eau et en matière organique. La majeure partie de l'eau tritiée pénétrant dans les couches les plus profondes du sol (en deçà de la partie arable contenant les racines des végétaux) est transportée sous forme liquide du fait des phénomènes convectifs et diffusifs liés à la porosité du sol, à une vitesse allant de 1 m a^{-1} à 2 m j^{-1} selon le sol (Eisenbud et al., 1978; Murphy, 1993; Belot et al., 1996). L'eau tritiée suit ensuite le mouvement des eaux souterraines, qui peut varier considérablement en fonction des caractéristiques de chaque système aquifère.

$$v_D = 2 \times \left(\frac{D}{t} \right)^{1/2} \quad (4)$$

Avec :

v_d	vitesse apparente d'enfoncement du tritium du à la diffusion (m s ⁻¹)
D	coefficient de diffusion du tritium dans le sol (m ² s ⁻¹)
t	temps (s)

2.2.2.2.5 Le tritium organique dans le sol

Dans la fraction humique du sol, une partie de l'eau est utilisée pour la synthèse de biomasse par les microorganismes. Ceci conduit à l'intégration partielle de l'eau tritiée présente au sein de matière organique. Papke and Förstel (Papke and Foerstel, 1991) ont mené une expérience sur cinq sols différents afin de déterminer le taux de formation de matière organique tritiée (OBT) au regard de l'activité HTO de l'eau du sol. Les propriétés de ces différents sols sont récapitulées dans le Tableau 4.

	Sol brun lessivé (1)	Sol brun lessivé (2)	Sol forestier (hêtraie)	Rendzine	Sol brun
pH	6,9	7,1	3,9	7,6	7,3
Humus (%)	2,0	3,7	5,0	4,1	4,1
Azote total (%)	0,09	0,13	0,13	0,11	0,22
Argiles (%)	11,5	10,8	12,7	14,5	14,6
Limons (%)	81,9	67,7	67,9	56,4	55,0
Sables fins (%)	6,6	21,5	19,4	29,1	30,4
Capacité au champ (%)	53,8	56,7	-	59,1	84,4
Matière organique (mg / 100 g de sol sec)	41,2	54,1	92,1	90,1	79,6

Tableau 4 : Propriétés des différents sols utilisés par Papke et Förstel pour leurs expériences de détermination du taux de formation de matière organique tritiée dans les sols (Papke and Foerstel, 1991).

Selon le type de sol, les auteurs ont mesuré un taux moyen de 0,03% (**sols bruns** lessivés et sol forestier) à 0,05% (**rendzine et sol brun**) par semaine. A l'exception du sol forestier, le taux de formation du tritium organique dans le sol mesuré est proportionnel à la quantité de matière organique carbonée présente. Une augmentation forte du taux de formation de l'OBT dans le sol a été observée en cas d'addition d'un substrat organique. Ainsi, des taux moyen de

formation d'OBT de 0,35% par semaine ont été enregistrés par ajout de glucose dans les **sols bruns** et bruns lessivés.

Le tritium organique formé dans le sol par les microorganismes n'est pas absorbable sous cette forme par les végétaux. L'OBT du sol présente un temps de résidence de 5 ans en moyenne avant d'être métabolisé en HTO, forme sous laquelle il peut être absorbé au niveau des racines (Diabaté and Strack, 1993). De ce fait, il ne joue pas un rôle majeur dans le transfert du tritium aux plantes.

2.2.2.3 Transfert du tritium aux êtres vivants

2.2.2.3.1 *Transfert du tritium aux animaux*

Le transfert du tritium aux animaux dépend largement de la forme chimique sous laquelle il se trouve. L'hydrogène tritié (HT), peu soluble dans l'eau et les fluides corporels, est très peu absorbé et assimilé. En revanche, l'absorption d'eau tritiée (par inhalation, ingestion ou transfert cutané) est très efficace (> 99%). Dans les organismes, l'eau tritiée diffuse librement et rapidement à travers les membranes cellulaires. Un équilibre s'établit rapidement (quelques minutes) avec les fluides corporels, notamment le sang. La majeure partie de l'eau tritiée est éliminée avec le renouvellement de l'eau corporelle (transpiration, diurèse), néanmoins, une faible fraction du tritium initialement absorbée est incorporée dans les molécules organiques (Belot et al., 1996).

2.2.2.3.2 *Rôle des végétaux dans l'intégration du tritium au sein des écosystèmes*

L'absorption et l'intégration du tritium sous forme organique par les végétaux jouent un rôle primordial dans le transfert du tritium au sein des **écosystèmes** pour deux raisons principales. D'une part, plus du tiers de l'eau ayant intégré la solution du sol par suite des précipitations ou des phénomènes de condensation est réémis dans l'atmosphère via la transpiration des plantes (cf. 2.2.1). De ce fait, la végétation joue un rôle primordial dans le cycle biogéochimique de l'eau, et par conséquent, dans le transport du tritium au sein des différents compartiments environnementaux. En outre, les plantes **chlorophylliennes** sont à la base de toutes les chaînes alimentaires terrestres. Suite à une contamination des végétaux, le tritium peut ainsi être transféré, sous forme organique, aux espèces animales et à l'homme.

La plupart des études semblent indiquer qu'en tant qu'élément majeur sur terre, l'hydrogène, et de ce fait le tritium, ne s'accumulent pas de façon significative au sein des êtres vivants (Elwood, 1971; Eisenbud, 1978; Murphy, 1993; Belot et al., 1996). Néanmoins, certains compartiments biologiques peuvent garder l'empreinte du tritium ambiant durant une période relativement longue, allant de quelques jours à plusieurs années. C'est notamment le cas de la matière organique des végétaux, qui reste marquée par le tritium présent dans l'air ou le sol au moment de sa synthèse (Belot et al., 1996). Ainsi, l'analyse de chacune des fractions du tritium au sein des végétaux apporte des informations complémentaires : le tritium libre de l'eau tissulaire donne une estimation de sa teneur dans l'atmosphère et dans le sol au moment du prélèvement, tandis que l'étude du **tritium organiquement lié** dans les plantes pérennes permet de suivre son intégration dans l'**écosystème** à plus long terme. En particulier, la mesure du tritium organique dans les cernes d'arbres donne une information rétrospective des teneurs environnementales en tritium sur plusieurs dizaines d'années (Kigoshi and Tomikura, 1961; Yamada et al., 1989a; Yamada et al., 1989b; Kozak et al., 1993; Fuma and Inoue, 1995; Kalin et

al., 1995; Yamada et al., 2004a; Yamada et al., 2004b; Stark et al., 2005). Les mécanismes de transfert et d'intégration du tritium dans les végétaux seront détaillés dans le paragraphe 3.

2.2.2.4 Le tritium dans les eaux de surface

La concentration en tritium dans les eaux d'un lac ou d'un étang dépend des taux d'entrée et de sortie du tritium dans ce milieu confiné. Ces taux sont très variables car ils sont liés au renouvellement naturel de l'eau et à la vitesse des échanges de tritium à l'interface eau/atmosphère. En outre, des phénomènes biologiques peuvent intervenir ; la sédimentation de débris organiques peut ainsi conduire à une concentration de l'activité du tritium plus élevée dans les sédiments que dans l'eau (Belot et al., 1996).

2.2.2.5 Le tritium dans les océans

La majeure partie du tritium relâché dans l'environnement du fait des activités humaines réside finalement dans les eaux marines. Les océans ont collecté une grande partie du tritium relâché dans l'atmosphère suite aux essais nucléaires. Cependant, la concentration en tritium dans les eaux océaniques est restée très faible ($< 0,3 \text{ Bq L}^{-1}$) comparée celle des eaux continentales du fait du volume du réservoir marin et de l'effet de dilution énorme qui en résulte (Murphy, 1993; Belot et al., 1996).

2.2.3 LE TRITIUM DANS L'ALIMENTATION HUMAINE

Les atomes d'hydrogène représentent 10% de la masse totale du corps humain, et plus de 60% du nombre total d'atomes présents dans l'organisme. Chaque jour, 5% de la quantité totale des atomes d'hydrogène présents dans le corps sont utilisés par le métabolisme. Chez un homme adulte, ceci représente $2,1 \cdot 10^{26}$ atomes d'hydrogène, soit environ 350 g (König, 1990). L'utilisation de l'hydrogène est compensée par un apport alimentaire quotidien équivalent, essentiellement par l'eau. Cet apport varie en fonction du sexe et de l'âge ; dans les pays développés, il est de 230 g j^{-1} , 245 g j^{-1} et 350 g j^{-1} chez l'enfant, la femme adulte et l'homme adulte.

En raison de l'importance biologique de l'hydrogène, la possibilité de substitution des atomes d'hydrogène par des atomes de tritium est d'un intérêt majeur du point de vue de la radioprotection. L'insertion du tritium au sein de la chaîne alimentaire humaine est de ce fait particulièrement importante. On considère en général que le comportement du tritium au sein de la chaîne alimentaire est similaire à celui de son **isotope** stable, l'hydrogène.

Données expérimentales et modèles permettent d'estimer les quantités de tritium absorbées et l'impact dosimétrique associé lors de l'ingestion de produits alimentaires tritiés. Pour cela, la composition chimique des aliments, les mécanismes digestifs et les différentes formes du tritium (eau tissulaire et tritium organique) sont pris en compte. Cependant, compte tenu de la multitude des échanges et des réactions mis en jeu, les estimations présentent encore de grandes incertitudes.

3 LE TRITIUM DANS LA VEGETATION

Dans le but de déterminer un impact dosimétrique, les études des transferts du tritium aux végétaux ont porté essentiellement sur les plantes jouant un rôle dans la chaîne alimentaire humaine, c'est-à-dire les végétaux **vasculaires**. Pour comprendre les processus associés à l'absorption et à l'incorporation sous forme organique du tritium par les végétaux, il est nécessaire de connaître les mécanismes physiologiques qui régissent le métabolisme des plantes, notamment les relations hydriques et la photosynthèse.

3.1 RAPPELS CONCERNANT LE FONCTIONNEMENT DES PLANTES VASCULAIRES

Les plantes sont des organismes autotrophes. Elles vivent et créent leur matière organique à partir d'un environnement essentiellement inorganique, en prélevant de l'oxygène et du dioxyde de carbone dans l'atmosphère, et de l'eau et des sels minéraux dans le sol.

3.1.1 L'ORGANISATION DES PLANTES ET DES CELLULES VEGETALES

3.1.1.1 La cellule végétale

Comme chez tous les êtres vivants, l'unité fonctionnelle de base des plantes est la **cellule**. Le schéma des différents **organites** constitutifs d'une **cellule** végétale est représenté en Figure 2.

Une **cellule** végétale comprend un **noyau cellulaire** entouré d'un **protoplasme**, divers **organites** ou **plastés**, le tout étant protégé par une **membrane plasmique** et une **paroi cellulaire**. De part sa perméabilité sélective, cette membrane contrôle les échanges de matériaux entre la **cellule** et son environnement. Le **noyau** mis à part, la partie de **protoplasme** contenant les **organites** est nommée **cytoplasme**. La partie liquide du **cytoplasme**, qui à la différence des **organites** n'est pas entourée d'une membrane est appelé **cytosol** (Hopkins, 1995).

Le **cytosquelette** est un réseau tridimensionnel de **protéines** fibrillaires qui confère à la **cellule** l'essentiel de ses propriétés mécaniques. Il joue en outre un rôle vital dans le déterminisme de l'organisation et de la morphologie cellulaire, ainsi que dans sa division, sa croissance ou encore sa différenciation (Hopkins, 1995).

Les **organites** cellulaires ont pour rôle de compartimenter les principales activités métaboliques (Hopkins, 1995):

- Une grande **vacuole** centrale renferme une grande quantité d'ions inorganiques, d'acides organiques, de **glucides**, d'enzymes et des métabolites secondaires tels que les **pigments**. La forte teneur en solutés de la **vacuole** permet l'absorption d'eau nécessaire à l'accroissement cellulaire. Les **cellules** jeunes qui présentent une activité de division intense possèdent de nombreuses petites **vacuoles**. Lors de la maturation des **cellules**, ces petites **vacuoles** fusionnent pour former une **vacuole** unique.
- Les plantes sont des organismes **eucaryotes**, caractérisés par la présence d'un **noyau** limité par une enveloppe. Le **noyau** contient l'information génétique sous forme d'**acide**

désoxyribonucléique (ADN). L'ADN contient les gènes qui codent pour l'information nécessaire à la synthèse d'**acide ribonucléique (ARN)**. L'ARN est exporté vers le **cytoplasme** où il dirige la synthèse de **protéines** spécifiques.

- Le **réticulum endoplasmique** et l'**appareil de Golgi** forment un système membranaire complexe impliqué dans la biosynthèse des **lipides** et des **protéines**. La plus grande partie du **réticulum endoplasmique** est associée à des **ribosomes** chargés de décoder l'information contenue dans l'ARN pour la synthèse des **protéines**. L'**appareil de Golgi** a pour fonction d'assembler et de transformer les chaînes glucidiques des glycoprotéines formées dans le **réticulum endoplasmique**.
- Les **mitochondries** sont le siège de la respiration cellulaire, processus par lequel l'oxydation des **glucides** permet d'obtenir de l'énergie utilisable sous forme d'**adénosine triphosphate (ATP)**.
- Les **chloroplastes** sont le siège de la photosynthèse. Leur structure et leur fonction seront présentées en détails dans le paragraphe 3.1.3.1.

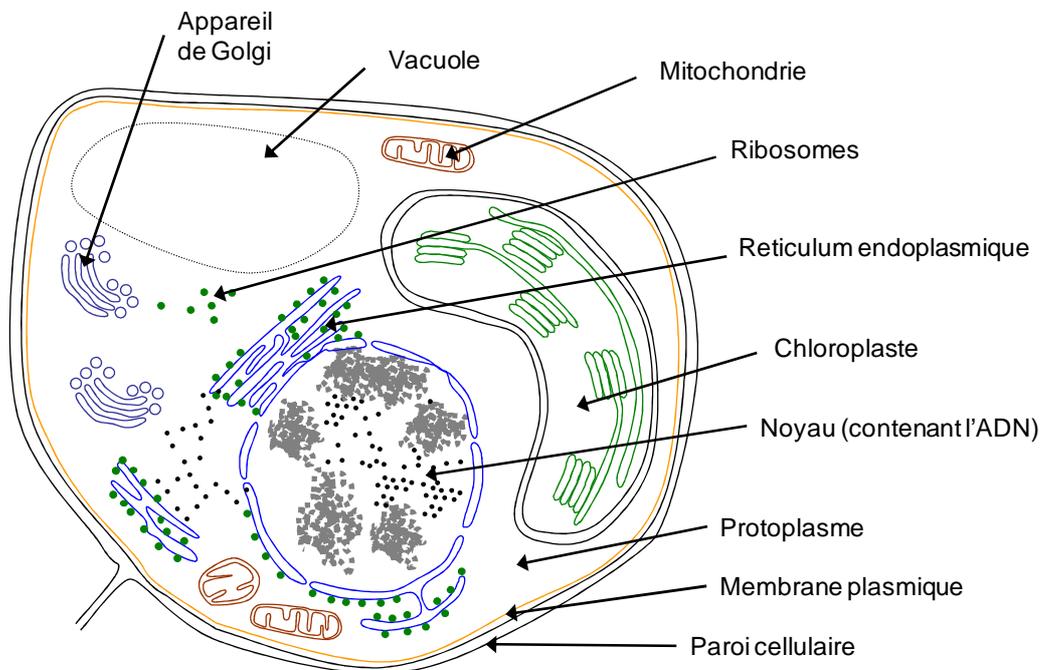


Figure 2 : Schéma d'une cellule végétale (d'après Hopkins (Hopkins, 1995) et Gallien (Gallien, 2005)).

3.1.1.2 Les organes de la plante

Les **cellules** sont organisées en groupes dont la structure et/ou la fonction diffèrent. Les **cellules** de même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes. Les principaux organes végétatifs (assurant le développement de la plante) sont les racines, les tiges et les feuilles, par opposition aux fleurs et aux fruits qui sont des organes reproducteurs.

3.1.1.2.1 Les organes végétatifs

Les fonctions principales d'une racine sont l'ancrage dans le sol, la mise en réserve et l'absorption d'eau et de sels minéraux.

Les tiges de jeunes **dicotylédones** ont une structure régulière, présentant des tissus conducteurs (**xylème** et **phloème**) disposés en cercles concentriques autour d'une moelle centrale de nature **parenchymateuse**.

Les feuilles possèdent une structure typique en lame, formant le **limbe**, qui est rattaché à la tige par le **pétiole**. Les surfaces du **limbe** foliaire sont recouvertes d'un **épiderme** supérieur et inférieur qui entoure un **tissu parenchymateux** photosynthétique appelé **mésophylle**. Les feuilles de **dicotylédones** possèdent en général deux types de **mésophylle** : le **mésophylle** palissadique et le **mésophylle** spongieux. Le **mésophylle** palissadique forme dans la partie supérieure de la feuille une couche de **cellules** allongées fortement jointives tandis que dans le **mésophylle** spongieux, des **cellules** irrégulières sont disposées de façon plus lâche, délimitant tout un réseau de lacunes remplies d'air (Figure 3). Les feuilles contiennent également un réseau de faisceaux conducteurs reliés aux tissus conducteurs de la tige par l'intermédiaire du **pétiole** (Hopkins, 1995).

3.1.1.2.2 Les organes reproducteurs

En période de floraison puis de fructification, certaines **cellules** se différencient pour créer les organes reproducteurs : fleurs et fruits. La plus grande partie des molécules organiques synthétisées sont alors exportées vers les fruits, constituant les organes de réserve pour les graines.

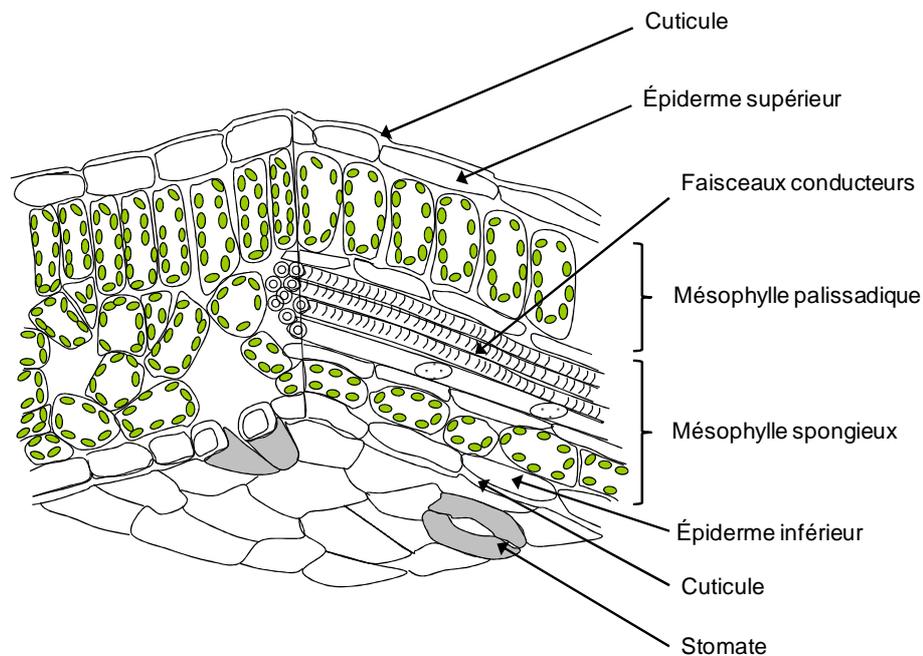


Figure 3 : Schéma en coupe d'une feuille de dicotylédone (d'après Hopkins (Hopkins, 1995) et Gallien (Gallien, 2005)).

3.1.2 LES RELATIONS HYDRIQUES CHEZ LES PLANTES VASCULAIRES

L'eau est le constituant le plus abondant au sein des organismes vivants. Bien que le contenu en eau des plantes soit variable selon l'espèce végétale, l'organe, les conditions physiologiques et environnementales considérées, il représente en moyenne plus de 70% de la masse des parties non lignifiées des plantes (Hopkins, 1995). De part ses propriétés physico-chimiques exceptionnelles, l'eau joue un rôle prépondérant dans la physiologie des plantes.

3.1.2.1 Les tissus conducteurs

Les tissus conducteurs sont impliqués dans la distribution de l'eau, des nutriments et des produits issus de la photosynthèse. Il existe deux types de tissus conducteurs : le **xylème** et le **phloème**.

Le **xylème** intervient dans la conduction de l'eau, la mise en réserve et le soutien. Les **cellules** caractéristiques du **xylème** sont les éléments de conduction de l'eau : trachéides et vaisseaux.

Le **phloème** est essentiellement dévolu à la distribution des molécules organiques entre les tissus photosynthétiques ou de réserve (« sources ») et les régions de forte croissance et de métabolisme actif (« puits »). Les éléments conducteurs principaux du **phloème** sont les tubes criblés (file allongée présentant des cribles dans les **parois** de deux **cellules** adjacentes).

3.1.2.2 Le mouvement de l'eau dans les cellules et les tissus

Au niveau cellulaire, l'eau se déplace essentiellement par osmose en réponse à un gradient de potentiel chimique établi de part et d'autre de membranes dont la perméabilité est sélective.

A l'échelle de la plante entière, les relations hydriques sont gouvernées par la différence de pression de vapeur d'eau qui existe entre les espaces foliaires internes et l'air ambiant. L'équilibre hydrique de la plante implique une perte d'eau très importante : c'est le phénomène de transpiration. Plus de 90% de l'eau absorbée par les plantes s'échappent ainsi par les feuilles au niveau des **stomates**.

Les **stomates** sont des pores microscopiques présents sur l'**épiderme** des feuilles des végétaux. Ils sont constitués de deux **cellules** réniformes, dites **cellules** de garde, qui laissent entre elles une ouverture (l'**ostiole**) et qui possèdent des **parois** plus épaisses que celles des **cellules** épidermiques (surtout sur les faces délimitant l'**ostiole**). Sous l'**ostiole** se trouve généralement dans le **parenchyme** sous-jacent un espace vide appelé chambre sous-stomatique. Les **stomates** régulent les échanges gazeux entre cette chambre et l'atmosphère, notamment l'entrée de dioxyde de carbone (CO₂) nécessaire à la photosynthèse dans la plante, et la diffusion de la vapeur d'eau. La régulation du mécanisme d'ouverture/fermeture des **stomates** est un phénomène osmotique provoqué par des échanges d'ions potassium entre les **cellules** de garde et les **cellules** de l'**épiderme** voisines. L'absorption d'ions potassium entraîne une absorption d'eau par osmose, ce qui provoque le gonflement des **cellules** de garde et l'ouverture de l'**ostiole**. Ce mécanisme d'ouverture/fermeture est contrôlé par un certain nombre de facteurs tels que la lumière, la concentration en dioxyde de carbone dans la feuille, l'état hydrique de la feuille et la température (Hopkins, 1995).

De nombreux facteurs climatiques (température et hygrométrie de l'air, vent) ou physiologiques (structure de la feuille) affectent le taux de transpiration. La transpiration et la

tension qu'elle induit dans la colonne d'eau sont à l'origine de l'ascension de l'eau dans le **xylème**. L'eau perdue par la transpiration au niveau des feuilles est ainsi remplacée par l'eau puisée dans le sol par les racines (Hopkins, 1995).

3.1.3 LA PHOTOSYNTHESE

3.1.3.1 Les mécanismes photosynthétiques

Le flux d'énergie du monde vivant trouve son origine dans les plantes **chlorophylliennes**, qui transforment l'énergie solaire en composés chimiques assimilables. Ce processus est appelé photosynthèse et se déroule dans des **organites** subcellulaires au niveau des feuilles : les **chloroplastes**.

3.1.3.1.1 Les structures photosynthétiques

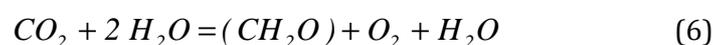
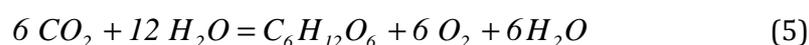
Les feuilles des végétaux **vasculaires** lient étroitement structure et fonction. Afin d'accomplir sa fonction principale, la photosynthèse, une feuille a besoin d'un apport adéquat en lumière, dioxyde de carbone et eau. Le développement d'une surface foliaire importante et la présence de **chlorophylle** et de **pigments** accessoires permettent notamment d'optimiser la capture de la lumière solaire. Un système conducteur très développé permet d'apporter eau et nutriments aux **cellules** photosynthétiques et d'exporter les molécules photosynthétisées aux tissus et organes non photosynthétiques de la plante (Hopkins, 1995).

Toute la photosynthèse se déroule dans un **organite** spécifique : le **chloroplaste**, présent dans le **cytoplasme** des **cellules** végétales **chlorophylliennes**. Les **chloroplastes** comportent quatre compartiments structurels : une enveloppe externe, une matrice fondamentale non structurée (le **stroma**), un système de membranes internes très structurées (les **thylacoïdes**), et un espace compris à l'intérieur de ces membranes (le **lumen**). Les membranes constituant les **thylacoïdes** sont le siège des réactions de conversion de l'énergie alors que les réactions de réduction du carbone se déroulent dans le **stroma** (Hopkins, 1995).

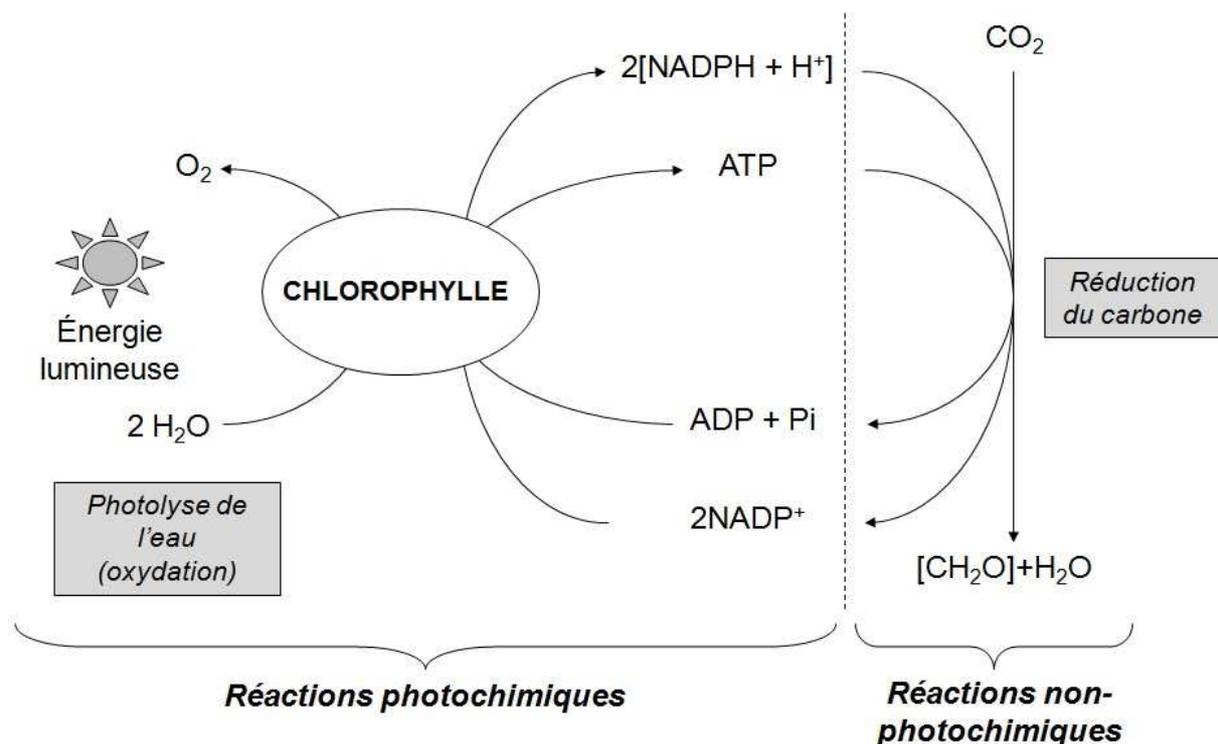
3.1.3.1.2 Les réactions photosynthétiques

➤ Bilan global de la photosynthèse

La photosynthèse correspond globalement à une réaction d'oxydoréduction, dont l'équation-bilan peut s'écrire selon les équations (5) ou (6). Dans ces réactions, le dioxyde de carbone est réduit en **glucides** ; l'eau tient le rôle du réducteur et le dioxyde de carbone celui de l'oxydant. Dans l'équation (6), le terme (CH_2O) représente une structure de base d'un **glucide**.



Le processus de photosynthèse se déroule en réalité en deux phases bien distinctes (Figure 4). Les réactions qui accomplissent les transformations énergétiques constituent les réactions photochimiques (réactions qui dépendent de la lumière), communément appelées « phase claire ». Ces réactions photochimiques correspondent globalement à une photolyse de l'eau. L'énergie qu'elles produisent est ensuite utilisée pour réduire le dioxyde de carbone en carbone organique sous la forme de **glucides**. Cette phase de fixation du carbone, également appelée **cycle de Calvin**, met en jeu des réactions non-photochimiques (réactions indépendantes de la lumière), qui ont conduit à la nommer improprement « phase sombre ».



Légende: CH₂O : carbohydate,
 Pi : phosphate inorganique,
 NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit,
 ATP : adénosine triphosphate,
 ADP : adénosine diphosphate.

Figure 4 : Schéma des réactions photochimiques et non-photochimiques de la photosynthèse (d'après Mazliak (Mazliak, 1974)).

➤ Réactions photochimiques (phase « claire »)

La principale fonction des réactions photochimiques est de produire de l'énergie sous la forme d'**ATP (Adénosine TriPhosphate)** et du potentiel réducteur sous la forme de NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit), tous deux nécessaires à la réduction du carbone (Hopkins, 1995) (cf. Figure 4).

Une série de réactions appelées chaîne photosynthétique de transport des électrons assure cette fonction. Cette chaîne est constituée d'une série de molécules de **chlorophylle** et de transporteurs d'électrons disposés en agrégats plurimoléculaires dans les membranes des

thylacoïdes des chloroplastes. Globalement, l'effet de cette chaîne est d'extraire les électrons de faible énergie de l'eau, et grâce à l'énergie lumineuse capturée par la **chlorophylle**, d'augmenter le niveau énergétique de ces électrons afin de produire un réducteur fort : le NADPH (Hopkins, 1995).

La chaîne photosynthétique de transport des électrons repose sur la présence de deux **photosystèmes** (PSI et PSII) et d'un complexe de cytochromes. Chaque **photosystème** comprend un centre réactionnel auquel sont associés une antenne et un complexe collecteur de lumière (*Light Harvesting Complex* ou LHC). L'énergie lumineuse collectée par les antennes et les complexes LHC est dirigée vers le centre réactionnel où le flux d'électrons est initié par une séparation de charges (photooxydation). Les électrons libérés par l'oxydation de l'eau passent alors dans le PSII, le complexe cytochrome, et le PSI pour aboutir sur les molécules de NADP⁺. Les protons qui sont pompés à travers la membrane au niveau des PSI et PSII au cours du processus de transfert d'électrons sont les moteurs de la photophosphorylation conduisant à la synthèse d'ATP (Hopkins, 1995).

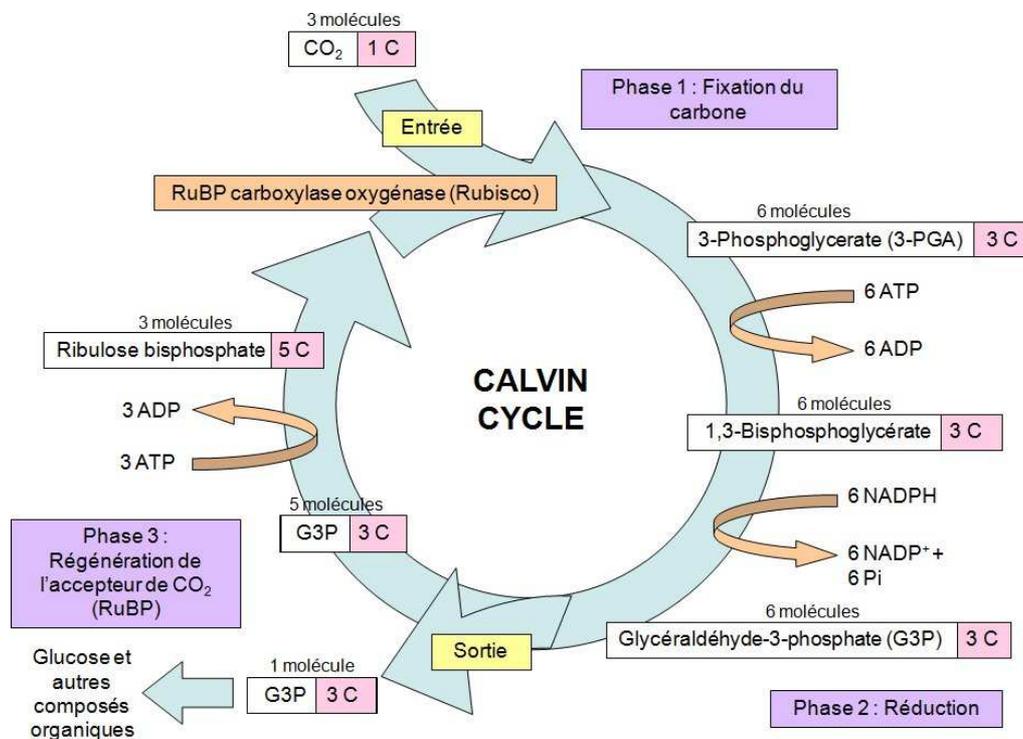


Figure 5 : Principales étapes du cycle de réduction du carbone (cycle de Calvin, d'après Mazliak (Mazliak, 1974)).

➤ Le cycle de Calvin (phase « sombre »)

La réduction photosynthétique du dioxyde de carbone en carbone organique se déroule dans le **stroma** des **chloroplastes**. L'enzyme clé est la ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygénase (ou RuBisCO) qui catalyse l'addition d'une molécule de dioxyde de carbone à une molécule d'un accepteur, le ribulose-1,5- biphosphate (RuBP), conduisant à la production de deux molécules de 3-phosphoglycérate (3-PGA). L'énergie produite par les réactions photochimiques sert à la réduction de 3-PGA en un triose phosphate (le glycéraldéhyde-3-

phosphate ou G3P) et à la régénération de l'accepteur, le RuBP. L'ensemble du cycle implique une série de réarrangements des **glucides** qui permettent en outre l'accumulation d'un excès de carbone sous la forme de **glucides** à 3 atomes de carbone. Cet excès de carbone peut être temporairement stocké dans le **chloroplaste** sous forme d'**amidon** ou exporté vers le **cytosol** où ils sont convertis en saccharose (Moses and Calvin, 1959; Hopkins, 1995) (Figure 5).

3.1.3.1.3 *Le devenir des photoassimilats*

Les mécanismes de répartition des photoassimilats entre les différentes voies et les différents organes sont nommés allocation et distribution du carbone. L'allocation carbonée représente le devenir métabolique immédiat des produits de la photosynthèse. Ainsi, les assimilats peuvent être utilisés pour les besoins liés au métabolisme de base et au maintien de la biomasse de la feuille où ils ont été produits. Ils peuvent également être mis en réserve soit sous forme d'**amidon** dans le **chloroplaste**, soit exportés vers le **cytosol** où ils sont convertis en saccharose. Une fois exportés, les assimilats sont distribués entre les différents organes de la plante selon les besoins (Hopkins, 1995).

Le transport des photoassimilats se fait dans les tissus du **phloème**, constitués de tubes criblés ; ce flux peut être ascendant ou descendant (Delrot). La direction du transport sur de longues distances est déterminée par les relations sources-puits. Un organe ou un tissu qui produit plus d'assimilats que nécessaires à son propre métabolisme est une source, tandis qu'un importateur d'assimilats est un puits. Les **glucides** sont ainsi transportés dans le **phloème** par un transfert de masse selon un gradient de pression hydrostatique de la source au puits. Les **méristèmes**, les **feuilles apicales** en développement, les **tissus caulinaires** non photosynthétiques, les racines et les organes de mise en réserve sont les principaux puits. Le comportement de certains organes comme source ou puits évolue avec le stade de développement du végétal. Par exemple, les feuilles jeunes se comportent comme des organes puits en retenant une partie importante du carbone nouvellement fixé pour subvenir à leur croissance, mais elles deviennent des sources à maturité (Hopkins, 1995).

3.1.3.2 Les types métaboliques du point de vue photosynthétique

On dénombre trois types métaboliques chez les végétaux **vasculaires** : la photosynthèse en **C3**, en **C4** et le **métabolisme crassulacéen (CAM)**. Ils sont définis par la première réaction de fixation du dioxyde de carbone qu'ils mettent en jeu.

3.1.3.2.1 *Bilan photosynthétique en C3*

Les plantes en **C3** sont les plantes qui incorporent le carbone uniquement par l'intermédiaire du **cycle de Calvin**. Le premier produit dans lequel le dioxyde de carbone est incorporé est dans ce cas le 3-phosphoglycérate (3-PGA), acide à 3 atomes de carbone, d'où la dénomination « **C3** ». Les végétaux des régions tempérées ou froides, notamment la plupart des plantes de culture occidentales et de leurs ancêtres appartiennent à ce groupe.

Les plantes qui utilisent le **cycle de Calvin** pour fixer le carbone sont également soumises à un processus inverse qui libère du dioxyde de carbone : la **photorespiration**. La source du CO₂ est le cycle photosynthétique d'oxydation du carbone (PCO), dont la première étape, également catalysée par la RuBisCO, conduit à l'oxydation et à la carboxylation du RuBP en présence d'oxygène. In fine, ce cycle provoque la libération de CO₂ et le retour du carbone restant dans le

cycle de Calvin (Hopkins, 1995). Chez les plantes en **C3**, la **photorespiration** des feuilles est toujours beaucoup plus importante que leur respiration à l'obscurité (environ 5 fois plus) (Jolivet and Moyse, 1982). Le minimum de concentration en dioxyde de carbone à partir duquel la photosynthèse l'emporte (point de compensation du CO₂) est d'environ 50 µL L⁻¹ d'air.

De nombreux végétaux de type **C3** sont adaptés aux éclaircements faibles ; même les plantes héliophiles de ce groupe ont un plateau de saturation lumineuse généralement peu élevée, inférieur à 150 ou 200 W m⁻².

3.1.3.2.2 Bilan photosynthétique en C4

Chez les plantes en **C4**, le premier produit carboné est un acide à 4 atomes de carbone (l'oxaloacétate). Excepté dans les régions tropicales et subtropicales, les plantes en **C4** tels que le maïs (*Zea mays* L.), la canne à sucre (*Saccharum officinarum* L.) ou le sorgho (*Sorghum bicolor*), sont beaucoup moins abondantes que les plantes de type **C3**, et leurs caractéristiques sont différentes. En effet, ces plantes ont mis en place un mécanisme de concentration du dioxyde de carbone dans des **cellules** spécialisées pour sa fixation et évitent ainsi la perte de CO₂ par **photorespiration**. De ce fait, les plantes en **C4** ont un point de compensation pour le CO₂ et un taux de **photorespiration** très bas. Elles sont capables de maintenir une photosynthèse élevée alors que la concentration en dioxyde de carbone est très faible, ou en cas de stress hydrique (Hopkins, 1995). D'autre part, le rendement énergétique aux faibles éclaircements des plantes en **C4** est inférieur à celui des plantes de type **C3**, mais elles utilisent beaucoup mieux les forts éclaircements. Ainsi, leur plateau de saturation lumineuse n'est pas atteint à 500 W m⁻² (Jolivet and Moyse, 1982).

3.1.3.2.3 Le métabolisme crassulacéen

Le métabolisme **crassulacéen (CAM)** est un autre moyen de maintenir une activité métabolique forte pour les plantes qui vivent dans des habitats où la disponibilité en eau est très faible (climats chauds et arides). Celles-ci ont un cycle d'ouverture/fermeture des **stomates** inversé : ils sont ouverts la nuit (période de faible stress hydrique) et fermés le jour (fort stress hydrique), d'où une fixation nocturne du CO₂ (Hopkins, 1995).

3.1.3.3 Les facteurs limitants de la photosynthèse

La photosynthèse et la productivité des plantes sont sous l'influence de nombreux facteurs génétiques et environnementaux, comme la lumière, la disponibilité en dioxyde de carbone, la température, l'hygrométrie de l'air et du sol, les nutriments et la structure de la **canopée**. L'intensité de la photosynthèse augmente dans une zone comprise entre le point de compensation lumineux et le plateau de saturation. Dans la mesure où l'irradiance change continuellement au cours de la journée et des saisons, le gain de carbone à long terme dépend de l'énergie lumineuse reçue en cumulé pendant les périodes de croissance (Hopkins, 1995).

3.2 TRANSFERTS DU TRITIUM A LA VEGETATION

Le transfert du tritium à la végétation dépend avant tout de la forme chimique considérée. Tandis que l'eau tritiée (liquide ou vapeur) pénètre facilement et rapidement dans les plantes, le tritium gazeux (HT) est très peu absorbé par la végétation du fait de sa très faible solubilité dans l'eau (Belot et al., 1996).

En outre, deux voies de transfert principales du tritium aux végétaux sont à considérer : il s'agit de l'absorption par voie foliaire du tritium atmosphérique et de l'absorption par voie racinaire du tritium contenu dans la solution du sol (Elwood, 1971; McFarlane et al., 1979a; IAEA, 2007a).

Le schéma général des transferts du tritium de l'environnement à la végétation est présenté Figure 6. Quelque soit le mode de transfert du tritium à la plante, il rejoint le pool d'eau tissulaire du végétal.

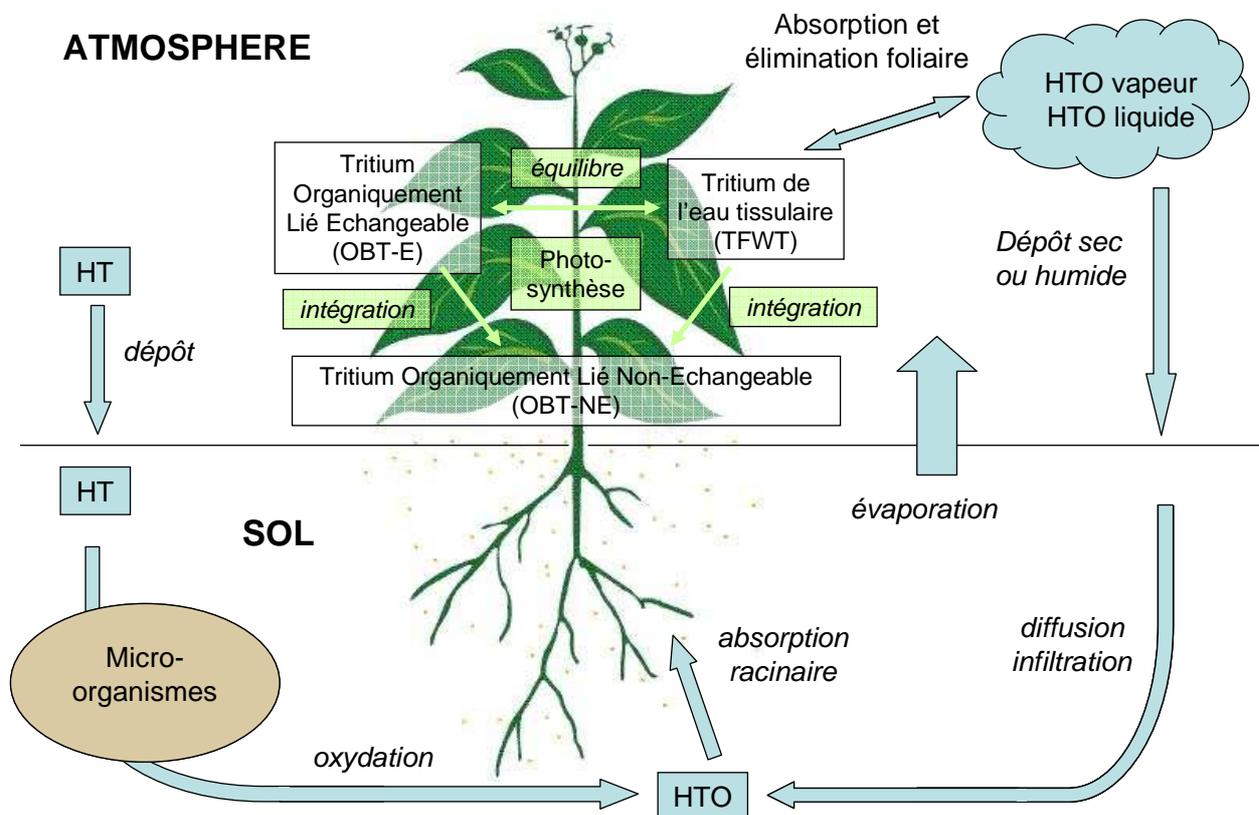


Figure 6 : Schéma général des transferts du tritium de l'environnement à la végétation.

3.2.1 ABSORPTION DES DIFFERENTES ESPECES CHIMIQUES PAR LA VEGETATION

3.2.1.1 HTO

Le tritium est facilement incorporé sous forme d'eau tissulaire dans les organismes biologiques. Cette fraction est particulièrement importante dans les plantes, dont le contenu en eau représente 80 à 95% de la masse fraîche, selon l'espèce et le stade de développement considéré (McFarlane et al., 1979a). A titre d'exemple, la fraction massique en eau représente en moyenne 85% de la masse fraîche dans les fruits, 75% dans les tubercules mais elle peut être inférieure à 10% dans certains organes de réserve comme les graines (IAEA, 2007a).

3.2.1.2 HT

Le tritium sous forme d'hydrogène tritié n'est pas absorbé par la végétation en raison de sa très faible solubilité dans l'eau (Belot et al., 1996). Dans la plupart des cas, la contamination des plantes par le tritium gazeux (HT) implique l'oxydation préalable de cette forme chimique en eau tritiée (HTO) au niveau des parties aériennes des végétaux (Belot, 1986; Spencer and Dunstall, 1986; Ichimasa et al., 1999) ou du sol (Stewart, 1971; McFarlane et al., 1978, 1979b; Belot, 1986; Bunnenberg et al., 1986; Spencer and Dunstall, 1986; Diabaté and Honig, 1988; Foerstel, 1988; Amano et al., 1995; Ichimasa et al., 1999). Dans les conditions climatiques usuelles des régions tempérées, le taux de conversion de l'hydrogène tritié en eau tritiée dans les sols ou sur les surfaces foliaires est très élevé. Des valeurs de ce taux de conversion comprises entre 0,104 et 1,64 Bq par min et par gramme de matière fraîche ont été mesurées pour des plants de laitues (McFarlane, 1978). En raison de cette oxydation rapide de HT, le mécanisme du transfert du tritium de l'environnement aux plantes peut être globalement assimilé à celui de l'absorption de l'eau tritiée.

3.2.1.3 Autres espèces chimiques transférées

Pour être exhaustif, on peut mentionner l'absorption possible de méthane tritié (CH₃T) ou de formaldéhyde tritié (Diabaté and Strack, 1993; Amano, 1995). Toutefois, les concentrations (naturelles et artificielles) de ces deux espèces chimiques sont très faibles ; par conséquent le transfert de ces composés aux végétaux peut être négligé (Mason et al., 1971; McFarlane et al., 1979b; Diabaté and Strack, 1993).

3.2.2 VOIES ET MECANISMES D'ABSORPTION DU TRITIUM PAR LA VEGETATION

Le transfert du tritium aux plantes **chlorophylliennes** s'effectue selon deux modes principaux : par voie racinaire (via les racines) et par voie foliaire (via les **stomates**). Tous les auteurs ne sont pas d'accord sur l'importance de ces deux phénomènes.

3.2.2.1 Voie racinaire : transfert du tritium par flux en masse

L'absorption d'eau par les racines entraîne le transfert aux végétaux du tritium contenu dans le sol. L'eau tritiée emprunte globalement les mêmes voies biologiques que l'eau au sein des plantes. L'eau tritiée du sol est ainsi absorbée et transportée dans le **xylème** par un mouvement de « flux en masse » du fait d'un gradient d'énergie (Murphy, 1993) lié à l'évaporation de l'eau au niveau des feuilles (Murphy, 1984). Cette voie d'exposition au tritium dépend fortement de la concentration et de la distribution de l'eau tritiée dans le sol ainsi que des caractéristiques du sol (structure, texture, teneur en eau...). L'espèce végétale considérée, son stade de développement et l'état de son système racinaire sont également des paramètres susceptibles de moduler les transferts (McFarlane et al., 1979a).

3.2.2.2 Voie foliaire : transfert du tritium par diffusion

L'absorption de l'eau atmosphérique (tritiée ou non) par les parties aériennes des végétaux (principalement les feuilles) repose sur la diffusion de vapeur à travers les **stomates**. Ce phénomène diffusif est contrôlé par les conditions climatiques (température, hygrométrie, lumière) et les caractéristiques physiologiques de la plante (taille et densité des **stomates**, facteurs hormonaux) (Eisenbud et al., 1978; McFarlane et al., 1979a). La vitesse de dépôt sur le couvert végétal dépend en outre des caractéristiques de la plante telles que la surface de ses feuilles. Une faible fraction de l'eau échangée, en général moins de 10%, diffuse à travers la **cuticule** (couche extérieure protectrice) des feuilles (Hopkins, 1995; Bargel et al., 2004) (cf. 3.2.2.4).

Lorsque les conditions climatiques sont adéquates, les **stomates** des plantes en **C3** sont ouverts en journée (à la lumière) et partiellement fermés la nuit (à l'obscurité). De ce fait, malgré un taux de transpiration élevé, l'absorption de vapeur d'eau tritiée atmosphérique est plus rapide le jour que la nuit (Kline and Stewart, 1974; McFarlane et al., 1979a; Garland, 1982; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984; Belot, 1986; Murphy, 1993; Diabaté and Strack, 1997). A l'intérieur de la chambre sous-stomatique, la vapeur d'eau tritiée rejoint la couche de solvant aqueux qui tapisse la cavité (McFarlane et al., 1979a). Le tritium suit alors le devenir de l'eau dans le végétal ; il peut être transpiré hors de la plante ou transporté vers les différents organes par diffusion (McFarlane et al., 1979a; Murphy, 1993; IAEA, 2007a). En fonction du taux de transpiration, le temps de séjour du tritium dans les feuilles du végétal est plus ou moins long (Cline, 1953; Aronoff and Choi, 1963; Raney and Vaadia, 1965; Koranda and Martin, 1971; Kline and Stewart, 1974; Eisenbud et al., 1978; McFarlane et al., 1979b; Amano and Garten, 1991; Raskob, 1995). En effet, lorsque le déficit de pression de vapeur entre l'atmosphère et les feuilles est faible (forte humidité de l'air), la demande évaporative est faible. Dans ces conditions de faible transpiration, un mouvement basipète de l'eau (du haut vers le bas) peut s'établir dans la plante. L'absorption d'eau (et par conséquent d'eau tritiée) au niveau des racines est alors très limitée et la diffusion à travers les **stomates** est la voie prépondérante de transfert du tritium (McFarlane et al., 1979a; Diabaté and Strack, 1997; IAEA, 2007a). Lorsque l'humidité relative de l'air décroît, le déficit de pression de vapeur et la demande évaporative augmentent jusqu'à un certain point, ce qui a pour effet de diluer l'absorption de vapeur d'eau atmosphérique au niveau des feuilles. Dans le cas limite où l'air serait totalement sec (physiquement impossible), il n'y aurait pas de vapeur d'eau atmosphérique et donc pas de transfert aux feuilles. La concentration en eau tritiée dans les parties foliaires tendrait alors vers la concentration en tritium dans le flux d'eau transpirée, c'est-à-dire celle de l'eau du sol (IAEA, 2007a).

La résistance stomatique (généralement exprimée $s\text{ cm}^{-1}$) détermine le flux gazeux qui traverse la surface des feuilles. Elle joue un rôle d'autant plus important que la plante est soumise à des conditions d'obscurité ou de sécheresse, qui entraînent une fermeture de

l'**ostiole**. De ce fait, le transfert à travers les **stomates** constitue le plus souvent l'étape limitante pour la capture de HTO (Kurzeja et al., 1988; Belot et al., 1996). La détermination de la résistance stomatique est donc primordiale dans toute étude portant sur l'incorporation par voie foliaire du tritium atmosphérique.

3.2.2.3 Importance relative des phénomènes évaporatifs et diffusifs

Dans des conditions climatiques et environnementales normales, le mouvement de l'eau (et donc de HTO) s'établit à travers le **xylème** depuis les racines jusqu'à sa transpiration au niveau des feuilles (cf. 3.1.2). Du fait de la transpiration, le transfert du tritium aux plantes par voie racinaire devrait donc être prépondérant par rapport au transfert par voie foliaire (McFarlane et al., 1979a). Cependant, tous les auteurs ne sont pas d'accord sur l'importance relative des phénomènes de diffusion et de transpiration de l'eau tritiée au sein de la plante. Pour Mc Farlane et al. (1979), l'absorption d'eau tritiée au niveau des racines représente une voie de contamination plus importante que la diffusion du tritium par voie foliaire dans des conditions de culture agricole normales (McFarlane et al., 1979a). D'autres auteurs soutiennent au contraire l'hypothèse que la concentration en tritium de l'eau circulant dans la plante est principalement due à la contribution atmosphérique (Diabaté and Strack, 1997; IAEA, 2007a). Ainsi, Raskob (1995) mentionne une absorption par voie atmosphérique environ quatre fois plus importante que par voie racinaire (Raskob, 1995).

Plusieurs éléments peuvent expliquer ces différences de positions relevées dans la littérature concernant l'importance relative des voies de transfert du tritium à la végétation. Tout d'abord, les flux d'eau au sein des plantes sont très dépendants des conditions environnementales. Selon la température, l'hygrométrie et même l'éclairement, la voie de transfert de l'eau (et donc du tritium) prépondérante peut varier (cf. 3.2.2.2).

En outre, les phénomènes de transfert du tritium par voie foliaire et racinaire sont indirectement liés. En effet, dans la réalité, une part du tritium atmosphérique se dépose au sol et le contamine. De ce fait, même lorsque la source originelle du tritium est purement atmosphérique, le sol devient rapidement une source secondaire de contamination des végétaux (Dinner et al., 1980; Amano and Garten, 1991). Inversement, la majeure partie du tritium présent dans le sol est réémis dans l'atmosphère. Par conséquent, la captation par les feuilles de vapeur d'eau tritiée due à l'évaporation d'un sol contaminé est une voie indirecte mais importante de transfert du tritium à la végétation (Foerstel et al., 1987; Belot et al., 1988; Okada and Momoshima, 1993; Amano et al., 1995; Täschner and Bunnenberg, 1997; Yokoyama et al., 2004).

Enfin, l'absorption du tritium dépend de l'espèce végétale, de l'organe considéré, et du stade de développement au moment de l'exposition. Ainsi, Choi et al. (2002) ont observé des concentrations en tritium dans l'eau tissulaire des feuilles de plants de riz (*Oryza sativa* L.) plus importantes que dans les épis et plus faibles que dans les tiges, variant d'un facteur 10 selon l'organe considéré (Choi et al., 2002). Amano et al. (1995) ont également reporté des concentrations plus élevées dans l'eau circulant dans les **pétioles** et les feuilles de plants de tomates que dans les fruits (Amano et al., 1995).

3.2.2.4 Transfert cuticulaire du tritium

La transpiration d'eau par les feuilles est un phénomène permettant l'équilibre hydrique de la plante (cf. 3.1.2). La diffusion de la vapeur d'eau à travers les **stomates** (transpiration stomatique) représente 90 à 95% de la perte d'eau par les feuilles. Les 5 à 10% restants sont évacués par transpiration cuticulaire. Bien que la **cuticule** soit constituée de cires et de

composés hydrophobes, de faibles quantités de vapeur d'eau sont capables de la traverser (Hopkins, 1995; Bargel et al., 2004). De ce fait, la diffusion de vapeur d'eau tritiée à travers la **cuticule** des feuilles est possible, mais en très faibles quantités. Mathématiquement, le transfert d'eau tritiée à travers la **cuticule** est inclus dans le paramètre de résistance stomatale de modèles tels que UFOTRI ou FDMH dans RODOS (Raskob, 1993; Melintescu and Galeriu, 2005). UFOTRI considère par exemple une valeur égale à 10 fois la résistance stomatale minimum des feuilles. Néanmoins, les données expérimentales montrent une variabilité importante de ce paramètre.

3.2.2.5 Cas particuliers

3.2.2.5.1 Plantes en C4

Le métabolisme des plantes en **C4** leur assure un haut rendement photosynthétique même en cas de stress hydrique important (cf. 3.1.3.2.2). Leur taux de transpiration plus faible diminue l'apport d'eau par voie racinaire et la fermeture des **stomates** ralentit le phénomène de transpiration au niveau des feuilles. Par conséquent, pour des conditions d'exposition identiques au tritium, la concentration dans l'eau tissulaire des plantes est légèrement plus faible dans les plantes de type **C4** que dans les plantes de type **C3** (Kim and Baumgärtner, 1994).

3.2.2.5.2 Plantes non vasculaires et champignons

Les champignons et les plantes non **vasculaires** telles que les mousses ou les lichens ne possèdent ni de **cuticule** ni de **stomates** capables de contrôler les échanges de vapeur d'eau. De ce fait, l'absorption d'eau, tritiée ou non, par ces organismes est très rapide (Eisenbud et al., 1978; Golubev et al., 2003). Par exemple, le **thalle** des lichens est ouvert de façon permanente, ce qui conduit à l'absorption de quantités d'eau importantes (Golubev et al., 2003). De plus, le métabolisme très spécifique de ces organismes entraîne l'absorption rapide d'éléments déposés à leur surface, tels que des **radionucléides** ou d'autres composés chimiques. Des études réalisées sur des échantillons prélevés à proximité d'une source de rejet ont confirmé que la concentration du tritium sous forme organique est plus importante dans les lichens que dans les végétaux **vasculaires** annuels (Ichimasa et al., 1989; Golubev et al., 2002a; Daillant et al., 2004a; Daillant et al., 2004b). Cependant, la détermination de l'âge des lichens est délicate et leur métabolisme biologique demeure mal compris, ce qui rend difficile toute conclusion générale concernant l'absorption et l'incorporation du tritium au sein de ce type d'organismes (Vichot et al., 2008a).

3.2.2.5.3 Autres cas

Certaines espèces aux morphologies et aux besoins écologiques particuliers (héliophytes, roseaux...) présentent des taux de transpiration élevés, de l'ordre de 3 à 10 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ (Larcher, 2003). De ce fait, ces plantes sont capables d'échanger de grandes quantités d'eau avec leur environnement sur des périodes de temps très courtes. Bien qu'aucune donnée expérimentale concernant l'absorption d'eau tritiée dans ce type de végétaux ne soit disponible, il est probable que le comportement de ces espèces soit particulier concernant les échanges de tritium.

3.2.3 ELIMINATION DE L'EAU TRITIÉE PAR TRANSPIRATION DES VÉGÉTAUX

3.2.3.1 Cas d'une contamination par voie atmosphérique

La persistance du tritium dans les végétaux suite à une exposition atmosphérique est très largement liée au taux de transpiration des plantes. La majeure partie de l'eau tritiée présente dans les feuilles est en effet emportée en quelques heures par l'eau de transpiration. Une fraction beaucoup plus faible de la quantité initiale de tritium absorbée est évacuée avec une demi-vie beaucoup plus longue (quelques dizaines d'heures) suite à la décontamination des compartiments les moins accessibles. Une fraction infime, correspondant à l'élimination des atomes de tritium ayant été incorporés à la fraction organique échangeable, est éliminée en plusieurs centaines d'heures (Belot et al., 1996).

3.2.3.2 Cas d'une contamination par voie racinaire

La concentration du tritium dans l'eau des racines est sensiblement égale à sa concentration moyenne dans l'eau de la zone du sol où se développent les racines (Belot et al., 1996). La concentration dans les feuilles de la plante reste inférieure mais suit assez fidèlement la concentration dans la solution du sol, et décroît au même rythme. Par conséquent, le temps de résidence du tritium dans les plantes se développant sur un sol contaminé dépend directement du temps de résidence du tritium dans ce sol (Belot, 1986; Belot et al., 1996). Ce temps de résidence est plus long que lorsque la contamination se fait exclusivement par voie foliaire car c'est le sol qui impose la période biologique du tritium observé dans l'eau tissulaire des plantes. Il est typiquement de l'ordre de quelques jours.

3.2.4 CINÉTIQUES D'ABSORPTION ET D'ÉLIMINATION DU TRITIUM DANS LES VÉGÉTAUX

De part la difficulté de réaliser des expériences sur le long-terme, les études portant sur l'exposition chronique au tritium ont majoritairement été réalisées en conditions réelles sur la végétation se développant à proximité d'installations nucléaires (Murphy et al., 1982; Amano and Kasai, 1988; Amano and Garten, 1991; Murphy et al., 1992; Amano et al., 1995; Evenden et al., 1998; Hisamatsu et al., 1998; Davis et al., 2002; Davis et al., 2005b). Ces études ont montré que l'activité en tritium dans l'eau tissulaire des organismes tend vers un équilibre avec les activités présentes dans l'environnement, à condition que l'exposition soit assez longue et de niveau stable. Dans les végétaux, les concentrations en tritium résultent de la mise à l'équilibre entre l'eau tissulaire de la plante (système racinaire et parties aériennes) et les compartiments environnementaux (atmosphère et sol). Il est important de noter que le terme d'« équilibre » ne correspond pas à une égalité de concentration entre les compartiments mais à un état de stabilité.

3.2.4.1 Cinétiques d'absorption

De nombreuses études ont porté sur les cinétiques d'absorption du tritium par les plantes, principalement suite à une exposition atmosphérique à l'eau tritiée. Plusieurs façons d'exprimer les cinétiques d'absorption, ainsi que l'état d'équilibre, ont été proposées.

3.2.4.1.1 Cinétiques d'absorption du tritium par voie atmosphérique

Différents modèles et relations ont été proposés afin d'exprimer les cinétiques d'absorption de l'eau tritiée par les plantes. Des expériences portant sur différents végétaux tels que des plants de tomates (*Solanum lycopersicum* L.), de tournesol (*Helianthus annuus* L.), ou de l'herbe ont montré que la concentration en tritium dans l'eau tissulaire suit une loi exponentielle, fonction du temps d'exposition au tritium (Kline and Stewart, 1974; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984), selon la relation (7).

$$\left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}} \right)_t = \left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}} \right)_{\acute{e}q} \times (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (7)$$

Avec :

$\left(\frac{C_{TFWT}^{laitue}}{C_{HTO}^{air}} \right)_t$ ratio de l'activité dans l'eau tissulaire de la plante et de l'activité dans la vapeur d'eau de l'air à l'instant t (sans unité)

$\left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}} \right)_{\acute{e}q}$ ratio de l'activité dans l'eau tissulaire de la plante et de l'activité dans la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre (sans unité)

k constante d'absorption de l'eau tritiée (h^{-1})

t temps écoulé depuis le début de l'exposition (h)

Le temps requis pour atteindre l'équilibre (t_{eq}) entre les concentrations de l'eau libre du végétal et celle de la vapeur d'eau atmosphérique selon la relation (7) est souvent utilisé pour quantifier l'absorption du tritium. Lorsque l'origine de l'exposition au tritium est uniquement atmosphérique, cet équilibre est atteint en quelques heures pour des conditions diurnes normales et stables. Le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la concentration à l'équilibre dans l'eau tissulaire ($t_{eq1/2}$) est également utilisé.

La constante d'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des plantes (k) est liée au temps de demi-équilibre par la relation (8) :

$$t_{eq1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (8)$$

Cette constante d'absorption est généralement inférieure à 1 h^{-1} , cependant elle dépend du moment de la journée auquel l'exposition au tritium survient (cf. Tableau 5). En effet, l'absorption du tritium par voie atmosphérique via les **stomates** est plus rapide en conditions diurnes qu'en conditions nocturnes (Couchat et al., 1983) (cf. 3.2.2.2).

Une autre façon de quantifier l'absorption atmosphérique du tritium par les plantes est de calculer le rapport de la concentration dans l'eau tissulaire de la plante (TFWT) à celle de la concentration de l'eau tritiée de l'air (HTO) en conditions d'équilibre. Ce ratio (TFWT/HTO atmosphérique) est toujours inférieur à l'unité. En effet, les mécanismes de renouvellement permanent de l'eau au sein de la plante, notamment la transpiration et l'absorption d'eau du sol,

conduisent à une dilution du tritium au sein de l'eau tissulaire. Ceci explique que la concentration en tritium de l'eau libre de végétaux exposés à de la vapeur d'eau tritiée reste toujours inférieure à la concentration en tritium de l'eau atmosphérique, même après un temps d'exposition suffisamment long pour atteindre l'équilibre entre les deux compartiments (Eisenbud et al., 1978; Spencer, 1984; Belot, 1986; Amano et al., 1995). De plus, la valeur du ratio TFWT/HTO atmosphérique évolue fortement au cours de la journée, en fonction des variations de l'hygrométrie de l'air (Davis et al., 2002).

Un certain nombre de données expérimentales concernant l'estimation des temps caractéristiques (t_{eq} et $t_{eq1/2}$), de la constante d'absorption (k) et du ratio TFWT/HTO_{atmosphérique} pour des conditions diurnes d'équilibre sont rassemblées dans le Tableau 5 (Kline and Stewart, 1974; Dinner et al., 1980; Guenot and Belot, 1984; Spencer, 1984; Murphy, 1993; Choi et al., 2002; Davis et al., 2002).

3.2.4.1.2 Cinétiques d'absorption du tritium par voie racinaire

Des expériences d'absorption du tritium par voie racinaire ont été effectuées sur des plants de haricots (*Phaseolus vulgaris*) (Cline, 1953; Biddulph and Cory, 1957) de tournesols (*Helianthus annuus* L.) et de tabac (*Nicotiana rustica* L.) (Raney and Vaadia, 1965). Lors de ces expériences, des plants cultivés sur substrat non **radioactif** ont été transférés sur une solution nutritive tritiée. Il a ainsi été observé que la concentration en tritium de l'eau circulant dans les tiges et les **pétiols** de feuilles matures approchait progressivement de celle de la solution nutritive en quelques heures, tandis que l'équilibre était plus long à atteindre dans les ramifications terminales des feuilles. En revanche, la concentration en tritium dans le **limbe** des feuilles à l'équilibre est demeurée plus faible, n'atteignant au maximum que 70% celle de la solution nutritive. Ceci s'explique probablement par l'échange de vapeur d'eau avec l'atmosphère au niveau des parties foliaires (Raney and Vaadia, 1965).

Référence	Espèce végétale	Conditions expérimentales	$t_{eq1/2}$ (h)	t_{eq} (h)	k (h ⁻¹)	TFWT /HTO
(Murphy, 1993)	végétation en général	Non disponibles	-	0,25 - 2	-	0,77 - 0,82
(Choi et al., 2002)	riz (<i>Oryza sativa</i> L.)	9 expériences à différents moments de la journée: T = 25,1 - 34,8°C HR = 61,4 - 94,2% L ~ 234 - 678 W m ⁻²	-	1	-	-
(Guenot and Belot, 1984)	feuilles de plants de pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i> L.) âgés de 2-3 mois et plants de vigne (<i>Vitis vinifera</i> L.) au stade de floraison	Exposition de 4h T = 29 - 30 °C HR = 26 - 28 %	-	0,75	-	-
(Kline and Stewart, 1974)	feuilles d'herbe	Éclairement (lumière du jour)	1,1	-	0,63	0,66*
	tiges d'herbe	Alternance éclaircissement/obscurité	33	-	0,02	0,07*
(Spencer, 1984)	feuilles jeunes de plants de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Cycle alterné : 16h d'éclairement: T = 23°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 % L ~ 500 µmol m ⁻² s ⁻¹	29 - 37	-	0,019 - 0,024	0,43
	feuilles âgées de plants de tomate	8h d'obscurité : T = 18°C ± 1 °C HR = 62 ± 2 %	7	-	0,104	0,46
	tomates (fruits verts)		17 - 69	-	0,010 - 0,042	0,19
(Davis et al., 2002)	feuilles de laitue (<i>Lactuca sativa</i> L.)		-	-	-	0,50
	fruits de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Cycle circadien naturel (été)	-	-	-	0,68
	herbe		-	-	-	0,32 - 0,84
(Dinner et al., 1980)	feuilles de plants de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Cycle alterné : 16h d'éclairement: T = 23°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 % L ~ 360 µmol m ⁻² s ⁻¹	5	-	0,14	0,45 - 0,80
	Concombre (fruit) (<i>Cucumis sativus</i> L.)	8h d'obscurité : T = 18°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 %	200	-	0,003	0,20 - 0,50

Rem. (*): valeurs établies à partir de graphes donnés par les auteurs.

Tableau 5 : Valeurs expérimentales des temps d'équilibre (t_{eq} et $t_{eq1/2}$), des constantes d'absorption (k) et des ratios TFWT/HTO_{atmosphérique} obtenues pour différentes espèces végétales et conditions expérimentales (T: température, HR: humidité relative, L: éclaircissement).

3.2.4.2 Cinétique d'élimination

Quelle que soit la voie d'exposition (foliaire ou racinaire), la majeure partie du tritium absorbée intègre rapidement l'eau tissulaire du végétal. Le temps de résidence du tritium dans la plante est de ce fait intimement lié au renouvellement de l'eau, qui s'effectue en général en quelques heures (Elwood, 1971). Plusieurs auteurs ont montré sur la base de données expérimentales que le temps de résidence du tritium dans les végétaux est lié à sa libération successive sous forme d'eau tritiée par trois compartiments (cf. 3.2.3.1). Pour chacun de ces compartiments, une constante d'élimination et un temps de demi-vie peuvent être déterminés. Ces données caractéristiques interviennent dans la modélisation de la courbe d'élimination du tritium comme la somme de trois fonctions exponentielles décroissantes (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1990; Brudenell et al., 1997), selon une relation du type (9):

$$\left(C_{TFWT}^{plante}\right)_t = \left(C_{TFWT}^{plante}\right)_{fin} \times [1 - \exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t) - \exp(-k_3 t)] \quad (9)$$

Avec:

$\left(C_{TFWT}^{plante}\right)_{fin}$	concentration dans l'eau tissulaire de la plante en fin d'exposition (Bq L ⁻¹)
$\left(C_{TFWT}^{plante}\right)_t$	concentration dans l'eau tissulaire de la plante à l'instant t (Bq L ⁻¹)
k_1, k_2, k_3	constantes d'élimination du tritium correspondant à chaque fonction exponentielle (h ⁻¹)
t	temps écoulé depuis la fin de l'exposition (h)

Le premier compartiment correspond au tritium présent dans l'eau tissulaire de la plante et représente à lui seul près de 99% du tritium initialement absorbé. Cette fraction est éliminée très rapidement via la transpiration de la plante, avec une demi-vie (T_1) généralement inférieure à 1h (Koranda and Martin, 1971; Anspaugh et al., 1973; McFarlane et al., 1979b; Guenot and Belot, 1984; Belot, 1986; Brudenell et al., 1997). Le second compartiment relargue 1% du tritium incorporé, provenant de pools d'eau tritiée moins accessibles (Belot, 1986). Il correspond à la dilution lente de l'eau liée colloïdalement (Cline, 1953; Choi et al., 2005). Le temps de résidence moyen dans ce compartiment est de l'ordre de quelques dizaines d'heures (Koranda and Martin, 1971; Anspaugh et al., 1973; Guenot and Belot, 1984; Brudenell et al., 1997). Un dernier compartiment est parfois identifié, correspondant à la décontamination des tissus marqués de façon échangeable du fait de la circulation d'eau tritiée dans les vaisseaux du **phloème**, ou de la dégradation de molécules organiques (Koranda and Martin, 1971; Garland and Ameen, 1979; Guenot and Belot, 1984; Brudenell et al., 1997). Cette fraction infime du tritium initialement absorbée est éliminée avec un temps de demi-vie de plusieurs centaines d'heures.

Les périodes et les constantes d'élimination ont été déterminés expérimentalement pour un certain nombre de végétaux (Koranda and Martin, 1971; Anspaugh et al., 1973; Kline and Stewart, 1974; Iyengar et al., 1981; Guenot and Belot, 1984; Brudenell et al., 1997; Keum et al., 2006). Quelques exemples sont donnés dans les Tableau 6 et Tableau 7. L'eau tissulaire ayant un rôle très largement prépondérant, la constante d'élimination globale du tritium de la plante est souvent assimilée à celle de ce compartiment (k_1). Les résultats expérimentaux mentionnés dans les Tableau 6 et Tableau 7 font apparaître une élimination du tritium nettement plus lente en conditions nocturnes qu'en conditions diurnes, ce qui est cohérent avec la réduction du taux de transpiration des plantes la nuit (Kline and Stewart, 1974; Brudenell et al., 1997).

Référence	Espèce végétale	Conditions expérimentales	T ₁ (min)	k ₁ (min ⁻¹)	T ₂ (h)	T ₃ (h)
(Guenot and Belot, 1984)	pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i> L.) vigne (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Exposition de 4h T = 29 - 30 °C HR = 26 - 28 %	30	0,023	30	>100
(Brudenell et al., 1997)	chou (<i>Brassica oleracea</i> L.)	Conditions artificielles d'éclairage durant l'exposition: T = 25 °C HR = 50 % L ~ 200 μmol m ⁻² s ⁻¹ puis élimination en conditions naturelles : T = 9,7 - 30,4°C HR = 35 - 99% L ~ 0 - 861 W m ⁻²	53	0,013	15,2	48
(Anspaugh et al., 1973)	luzerne (<i>Medicago hispida</i> L.)	Non disponibles	45	0,015	25	-
	luzerne (<i>Medicago hispida</i> L.)	Exposition de 1 h	0,9	0,770	17	270
	avoine (<i>Avena sativa</i> L.)	Exposition atmosphérique de 0,5 h	55	0,012	-	-
(Koranda and Martin, 1971)	tournesol (<i>Helianthus annua</i> L.)	Exposition atmosphérique de 0,5 h	20	0,035	-	-
	maïs (<i>Zea mays</i> L.)	Exposition atmosphérique de 0,5 h	35	0,020	-	-
	pin noir (<i>Pinus thunbergii</i>)	Exposition atmosphérique de 1 h en sac polyéthylène, dans le milieu naturel	74	0,009	> 170	
(Kline and Stewart, 1974)	herbe (tiges)	Exposition de 2 h	25	0,028	-	-
	herbe (feuilles)	Exposition de 2 h	35	0,020	-	-
(Keum et al., 2006)	riz (épi) (<i>Oryza sativa</i> L.)	Exposition de 1 h	30	0,023	-	-
	laitue (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Exposition de 85 à 175 min HR = 100 %	32	0,022	-	-
(Iyengar et al., 1981)	chou (<i>Brassica oleracea</i> L.)	Exposition de 85 à 175 min HR = 100 %	45	0,0154	-	-
	piment (pousse) (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	Exposition de 165 à 195 min HR = 100 %	46	0,0152	-	-
	piment (racines) (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	Exposition de 165 à 195 min HR = 100 %	65	0,0107	-	-

Tableau 6 : Périodes biologiques d'élimination (T₁, T₂, T₃) du tritium obtenues en considérant un modèle exponentiel à compartiments, et constante d'élimination correspondant au premier compartiment (k₁), pour différents végétaux en conditions diurnes.

Référence	Espèce végétale	Conditions expérimentales	T ₁ (min)	k ₁ (min ⁻¹)	T ₂ (h)	T ₃ (h)
(Kline and Stewart, 1974)	herbe (tiges)	Exposition de 2 h	400	0,0017	-	-
	herbe (feuilles)	Exposition de 2 h	2180	0,0003	-	-
(Brudenell et al., 1997)	chou (<i>Brassica oleracea</i> L.)	exposition: T = 25 °C HR = 50 % L ~ 200 μmol m ⁻² s ⁻¹ puis même conditions T et HR à l'obscurité	780	0,0009	-	-

Tableau 7 : Périodes biologiques d'élimination (T₁, T₂, T₃) du tritium obtenues en considérant un modèle exponentiel à compartiments, et constante d'élimination correspondant au premier compartiment (k₁), pour différents végétaux en conditions nocturnes.

Il est toutefois difficile de comparer les résultats des auteurs du fait des différences de choix dans les végétaux étudiés (différence physiologique et morphologique, notamment de conductance stomatique ou de capacité d'absorption racinaire), les temps d'exposition ou les conditions météorologiques (hygrométrie, température, intensité lumineuse, vent, précipitation...).

3.3 INTEGRATION DU TRITIUM ORGANIQUE DANS LES VEGETAUX

Les différentes formes chimiques du tritium ne sont pas intégrées de la même façon au sein de la fraction organique. L'eau tritiée (HTO) joue de loin le rôle le plus important dans l'incorporation du tritium sous forme organique via la photosynthèse (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1993). Comme il l'a été expliqué précédemment, la majeure partie de l'eau absorbée par les végétaux, qu'elle soit tritiée ou non, est rejetée à l'atmosphère par transpiration (cf. 3.1.2). Moins de 5% de l'eau absorbée est finalement utilisée pour la croissance et le développement des végétaux, et une fraction encore moindre intervient directement dans les réactions biochimiques, notamment photosynthétiques (Hopkins, 1995). Finalement, la fraction d'hydrogène converti en matière organique est de 0,06% à 0,3% en moyenne pour les plants en croissance (Kramer, 1969; Murphy, 1990). La fraction de tritium intégrée à la matière organique est encore plus faible du fait de la discrimination isotopique. La quantité de tritium incorporé à la matière organique est donc très faible comparativement à la quantité de tritium circulant dans l'eau de la plante.

3.3.1 MECANISMES DE PRODUCTION DU TRITIUM ORGANIQUE CHEZ LES VEGETAUX

3.3.1.1 Production d'OBT à partir d'eau tritiée (HTO)

3.3.1.1.1 Mécanismes photosynthétiques

Les premières études concernant l'incorporation du tritium dans la matière organique par photosynthèse ont été réalisées par Moses et Calvin en 1959 (Moses and Calvin, 1959). Leurs travaux ont porté sur les mécanismes photosynthétiques chez une algue monocellulaire, *Chlorella Pyrenoidosa*. Après des expositions de courte durée à l'eau tritiée (HTO) et au dioxyde de carbone marqué ($^{14}\text{CO}_2$), le tritium a été identifié dans les molécules correspondantes aux premiers produits de la photosynthèse (cf. 3.1.3.1.2): hexoses, sucres monophosphates (et diphosphates), acides organiques, puis acides aminés. Moses et Calvin ont en outre montré que le tritium pouvait être incorporé à l'obscurité dans les molécules mises en jeu par le **cycle tricarboxylique** et dans les acides aminés qui en dérivent, mais à une vitesse nettement plus lente. Ils ont également observé que les composés marqués par le tritium étaient les mêmes que ceux marqués par le ^{14}C lors d'une exposition conjointe de ces deux **radionucléides**, démontrant ainsi l'assimilation du tritium dans des molécules carbonées. Depuis leurs travaux, de nombreuses études utilisant l'eau tritiée et le dioxyde de carbone marqué comme traceurs **radioactifs** ont été menées afin de comprendre les mécanismes photosynthétiques (Biddulph and Cory, 1957; Gage and Aronoff, 1960; Aronoff and Choi, 1963; Choi and Aronoff, 1966; Trip and Gorham, 1968a, b; Thompson and Nelson, 1971; Peterson, 1982; Guenot and Belot, 1984). Ces études ont confirmé que la photosynthèse est le processus le plus important d'assimilation du carbone et de l'hydrogène (i.e. du tritium) organique non échangeable.

Diabaté et Strack (Diabaté and Strack, 1993) ont détaillé les processus biologiques conduisant à la formation d'OBT. Suite à la photolyse de l'eau, de nombreuses réactions surviennent au cours de la photosynthèse, mettant en jeu des protons H^+ ou des cations T^+ (cf. 3.1.3.1.2). L'ensemble du cycle photosynthétique implique une série de réarrangements des **glucides** conduisant à la production d'une grande variété de molécules organiques. Ainsi, les atomes d'hydrogène et de tritium sont incorporés aux molécules organiques via diverses liaisons chimiques telles que : -C-H ou -C-T, -S-H ou -S-T, -N-H ou -N-T, -P-H ou -P-T.

3.3.1.1.2 Mécanismes non photosynthétiques

D'autres voies métaboliques telles que la respiration cellulaire ou le **cycle des acides tricarboxyliques** peuvent conduire à l'incorporation de tritium sous forme organique, indépendamment du niveau d'éclairement (Moses and Calvin, 1959; Guenot and Belot, 1984; Belot, 1986; IAEA, 2007a). Ces processus utilisent en partie les substances produites lors de réactions photochimiques ; ils correspondent à l'utilisation et au réarrangement des molécules organiques pour les besoins du végétal (demande d'énergie, croissance, renouvellement cellulaire...) et non à une synthèse autotrophe (Diabaté and Strack, 1997). D'autre part, une multitude de réactions d'hydrogénation et de déshydrogénation ont lieu aux différents stades de développement des plantes. Ces différents types de réactions entraînent le transfert d'atomes d'hydrogène et de tritium d'une molécule à une autre. L'incorporation du tritium organique via ces diverses réactions est nettement moins importante que par photosynthèse, mais néanmoins significative. Il a ainsi été montré que le taux de formation de l'OBT est 3 à 5 fois plus faible en conditions nocturnes (pas de photosynthèse) qu'en conditions diurnes (Thompson and Nelson, 1971; Diabaté and Strack, 1993, 1997; Galeriu et al., 2008). Toutefois, les processus de formation

du tritium organique la nuit ne sont pas très bien compris et sont susceptibles d'être influencés par de nombreux facteurs tels qu'une humidité de l'air plus importante, une température plus faible, et de ce fait des activités en tritium atmosphérique plus importantes qu'en journée. Ces points, ainsi que des éléments propres au végétal (résistance stomatique notamment) doivent encore faire l'objet de recherches approfondies.

3.3.1.2 Production d'OBT à partir d'hydrogène tritié (HT)

Des expérimentations ont prouvé que l'hydrogène tritié (HT) peut être impliqué dans certains processus métaboliques autres que la photosynthèse conduisant à la production de matière organique (Elwood, 1971; McFarlane, 1978; Sweet and Murphy, 1984; Belot, 1986). Cependant, la vitesse de transfert (« *deposition velocity* ») de HT en OBT est très faible. Elle a été estimée entre $0,1 \cdot 10^{-11}$ et $4,6 \cdot 10^{-11} \text{ m s}^{-1}$ pour diverses espèces végétales : laitue, tomate, choux, de maïs, et dans des graminées (Strack et al., 1991). Ces valeurs très faibles ont conduit à ignorer cette voie de production de l'OBT dans la plupart des modèles dosimétriques prédictifs (Diabaté and Strack, 1993).

En outre, la voie principale de contamination des plantes par l'hydrogène tritié implique l'oxydation préalable de HT en HTO par les feuilles des végétaux ou par les microorganismes du sol (Stewart, 1971; McFarlane et al., 1978, 1979b; Belot, 1986; Bunnenberg et al., 1986; Spencer and Dunstall, 1986; Diabaté and Honig, 1988; Foerstel, 1988; Amano et al., 1995; Ichimasa et al., 1999). Cependant, la fraction du tritium organique produit par cette voie est quantitativement peu importante et généralement négligée dans les modèles.

3.3.1.3 Production d'OBT à partir d'autres composés tritiés

Dans une moindre mesure, il a été prouvé que le méthane tritié (CH_3T) peut être incorporé directement à la matière organique des végétaux (Amano, 1995). Toutefois, la production (naturelle et humaine) de méthane tritié est extrêmement faible à l'échelle des **écosystèmes**; de ce fait, l'exposition au méthane tritié est très limitée (Mason et al., 1971; McFarlane et al., 1979a; Diabaté and Strack, 1993). Certains auteurs ont également reporté l'incorporation rapide du formaldéhyde tritié au sein de la fraction organique du fait de ses fortes affinités chimiques avec la matière organique des plantes (Diabaté and Strack, 1993). En effet, le formaldéhyde se fixe aux **protéines** des membranes cellulaires et aux acides aminés libres. Cependant, la fraction de tritium organique formé de cette façon est négligeable en raison des concentrations infimes de formaldéhyde naturellement présentes ou rejetées par les activités humaines.

3.3.2 FACTEURS D'INFLUENCE SUR LA PRODUCTION DU TRITIUM ORGANIQUE

De la même façon que la plupart des phénomènes biologiques, l'incorporation de tritium sous forme organique, dépend de l'espèce végétale, de l'organe considéré et du stade de développement de la plante au moment de l'exposition au tritium. La quantité de tritium incorporée dans les molécules organiques est également étroitement liée aux mécanismes photosynthétiques. De ce fait, les facteurs limitants de la photosynthèse, d'ordre climatique ou physiologique, ont une influence directe sur la production de tritium organique (Indeka, 1981; Arai et al., 1985; Diabaté and Strack, 1993; Amano et al., 1995).

3.3.2.1 Espèce végétale et organe concernés

La physiologie et les mécanismes biologiques propres à chaque espèce végétale expliquent une certaine variabilité dans l'incorporation du tritium sous forme d'OBT. En effet, les processus métaboliques diffèrent et ne se déroulent pas à la même vitesse selon l'espèce considérée, conduisant à la production plus ou moins rapide de molécules organiques différentes. En outre, le phénomène de translocation qui sera détaillé dans le paragraphe 3.3.4 conduit à la redistribution des molécules organiques photosynthétisées dans les différents organes de la plante en fonction des besoins spécifiques de l'espèce.

3.3.2.2 Molécule concernée

Le taux de formation de l'OBT dépend de l'activité métabolique et du renouvellement des biomolécules contenant du tritium (Diabaté and Strack, 1993). Comme toute la matière organique constitutive des plantes **vasculaires** est produite via les mécanismes photosynthétiques, le tritium organique est incorporé dans des molécules complexes telles que les polysaccharides, les **protéines**, les **lipides** ou les **acides nucléiques** (Diabaté and Strack, 1993). Cependant, la variabilité de composition biochimique entre les différents types de molécules induit d'importantes différences dans la formation de liaisons, labiles ou non, impliquant l'hydrogène et le tritium. En effet, le pourcentage d'atomes d'hydrogène en position non échangeable dépend principalement de la quantité de **lipides** dans la plante. Dans ces derniers, constitués presque exclusivement d'atomes de carbone et d'hydrogène (liaisons C-H), la fraction d'atomes d'hydrogène est d'environ 12%, dont 95 à 100% d'hydrogène en position non-échangeable. Au contraire, la fraction d'atomes d'hydrogène ne représente que 6,8% dans les **protéines**, dont 75% en position échangeable (Diabaté and Strack, 1993).

3.3.2.3 Stade de développement de la plante

Plusieurs auteurs ont montré que l'incorporation du tritium sous forme d'OBT est dépendante du stade de croissance et de développement de la plante (Choi et al., 2000; Atarashi-Andoh et al., 2002; Choi et al., 2002; Choi et al., 2005). Les caractéristiques biologiques du végétal au moment de l'exposition au tritium (état physiologique, facteurs hormonaux...) influent également sur la formation du tritium organique. Ainsi, Amano et al. ont observé, après 12h d'exposition à l'hydrogène tritié, des taux d'incorporation du tritium sous forme organique plus élevés dans les jeunes feuilles de plants de komatsuna (*Brassica rapa var. pervidis* ou *var. komatsuna*, communément appelé moutarde chinoise) que dans les feuilles les plus âgées (Amano et al., 1995). La teneur plus faible en eau ainsi que l'activité photosynthétique plus forte dans les jeunes feuilles explique la production plus importante d'OBT. D'autres expériences portant sur des plants de komatsuna, de radis (*Raphanus sativus* L.), et de tomates cerises (*Solanum lycopersicum* L.) ont également montré que le taux d'incorporation de l'eau tissulaire en tritium organique dépend fortement du stade de développement du végétal (Atarashi-Andoh et al., 2002). Néanmoins, l'étude de l'incorporation du tritium sous forme organique à différents stades de développement d'un végétal cible exposé de façon chronique au **radionucléide** durant sa croissance n'a encore jamais été réalisée.

3.3.2.4 Paramètres environnementaux

De nombreux facteurs environnementaux ont une influence sur les mécanismes photosynthétiques, et par conséquent sur la production de tritium organique, tels que l'intensité lumineuse, la concentration en oxygène et en dioxyde de carbone, la température ou l'hygrométrie. Les variations diurnes et saisonnières de tous ces facteurs jouent également un rôle important car les taux d'incorporation du tritium dépendent du stade de développement de la plante et du temps d'exposition à la source de tritium. Les pratiques culturales peuvent également être à l'origine de modifications de ces paramètres. Il est nécessaire de prendre en compte ces facteurs d'influence pour l'estimation de la quantité de tritium organique produite. Diabaté et Strack (Diabaté and Strack, 1993) ont proposé une approche basée sur la mesure de la concentration du tritium dans l'air et l'estimation du rendement photosynthétique via la mesure des échanges de CO₂ entre l'atmosphère et la plante. La prise en compte des radiations photosynthétiques actives (*Photosynthetically Active Radiation* ou PAR, correspondant aux longueurs d'onde efficaces pour l'initiation des réactions photochimiques), exprimées généralement comme un débit de fluence photonique ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), peut également permettre d'estimer l'activité photosynthétique de la plante, et par suite, la production d'OBT (Diabaté and Strack, 1997; Atarashi-Andoh et al., 2002).

3.3.3 CINETIQUE DE PRODUCTION DU TRITIUM ORGANIQUE CHEZ LES VEGETAUX

Tandis que l'eau tissulaire des végétaux se charge rapidement lors d'une exposition au tritium, la quantité de tritium incorporé à la matière organique ne croît que très lentement (Arai et al., 1985). Au cours d'une exposition au tritium de longue durée, la quantité d'OBT formé dans les plantes augmente progressivement, mais n'atteint jamais l'équilibre avec le compartiment aqueux (Diabaté and Strack, 1993). Amano et al. (Amano et al., 1995) ont montré qu'une exposition à l'hydrogène tritié pendant 12 jours de différents végétaux (tomates cerises, radis, komatsuna) n'est pas assez longue pour atteindre un équilibre pour le tritium organique. Les auteurs mentionnent une vitesse de production du tritium organique quasiment linéaire après 75 h d'exposition, bien qu'elle dépende de l'espèce végétale et de l'organe considéré (Amano et al., 1995).

Le taux de renouvellement du tritium organiquement lié est très faible, particulièrement dans les organes de stockage définitifs (Diabaté and Strack, 1993, 1997). Dans le cas d'une exposition unique et de courte durée, la quantité totale de tritium incorporé à la matière organique décroît lentement jusqu'à la mort du végétal. En revanche, l'activité massique du tritium organique diminue très rapidement du fait de la production continue de matière par la plante et de la « dilution » de l'OBT qui en résulte.

3.3.4 TRANSLOCATION DU TRITIUM ORGANIQUE CHEZ LES VEGETAUX

Les mécanismes de redistribution des molécules organiques photosynthétisées dans l'ensemble de la plante en fonction des besoins ont été décrits précédemment (cf. 3.1.3.1.3). Du point de vue radioécologique, ce phénomène, nommé translocation, correspond au processus biochimique de transport et de transfert du **radionucléide** déposé sur les parties aériennes vers des organes non initialement contaminés (Thompson and Nelson, 1971; Foulquier and Pally, 1982; Belot, 1986).

Comme **isotope** de l'hydrogène, le tritium est intégré dans les molécules organiques stockées ou exportées vers les différents organes. Le phénomène de translocation conduit à la

dispersion de molécules organiques tritiées dans la plante entière et à leur distribution inégale selon l'organe considéré (Spencer, 1984; Diabaté and Strack, 1997) (cf. 3.1.3.1.3). En effet, le taux de translocation du tritium organique vers chaque organe dépend du stade de développement au moment de l'exposition de la plante au tritium (Diabaté and Strack, 1992, 1993). Les produits de la photosynthèse sont d'abord utilisés pour la croissance et le développement des feuilles, des racines et des tiges (période végétative). En période générative, les molécules organiques photosynthétisées servent également à constituer les fruits, les tubercules et les graines où elles sont progressivement accumulées (Arai et al., 1985; Diabaté and Strack, 1993).

Afin de quantifier le processus de translocation dans le blé, Diabaté et Strack (1997) ont défini un « indice de translocation » (*TransLocation Index*, noté TLI) (Diabaté and Strack, 1997). Cet indice représente le pourcentage du tritium organique, exprimé en concentration d'eau de combustion des grains récoltés, par rapport à la concentration en tritium dans l'eau libre des feuilles à la fin de l'exposition atmosphérique au tritium. L'expérience a confirmé que l'indice de translocation varie en fonction du stade de développement de la plante au moment de l'exposition et de la récolte, allant de 0,06 à 0,2% pour l'exposition de jeunes plants et de 0,4 à 0,9% pour l'exposition de plants pourvus de grains en phase de croissance linéaire. L'indice de translocation diminue ensuite pour atteindre des valeurs comprises entre 0,04 et 0,2% à maturité de la plante (Diabaté and Strack, 1997).

3.3.5 FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE DU TRITIUM ORGANIQUE CHEZ LES VEGETAUX

Bien que la discrimination isotopique du tritium par rapport au proton soit négligeable à l'échelle des **écosystèmes** (Elwood, 1971; Rohwer and Wilcox, 1976), la très forte différence de masse entre les deux **isotopes** de l'hydrogène entraîne des effets significatifs quant à leur incorporation et leur élimination de la matière organique (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1993). En effet, les réactions chimiques (et de fait, biochimiques) impliquant le tritium se déroulent à une vitesse légèrement plus faible que les réactions impliquant l'hydrogène. Par conséquent, une quantité moindre de tritium est incorporée au sein des molécules organiques. En revanche, une fois formée, les molécules organiques tritiées ont une durée de vie légèrement plus longue que les molécules hydrogénées car les liaisons entre le tritium et le carbone (C-T) sont plus difficiles à rompre que les liaisons entre l'hydrogène et le carbone (C-H) (Diabaté and Strack, 1993). Ces mécanismes contraires expliquent que les teneurs en tritium dans les molécules organiques ne correspondent pas aux bilans stœchiométriques des réactions photosynthétiques: on parle pour cette raison de fractionnement isotopique de l'OBT (McFarlane, 1976; Kim and Baumgärtner, 1991, 1994). Au cours d'expériences sur des plants de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et de vigne (*Vitis vinifera* L.), Guenot et Belot (Guenot and Belot, 1984) ont ainsi observé des taux d'incorporation de l'OBT environ 30% inférieurs aux valeurs attendues d'après le rendement de photosynthèse. Davis et al. (Davis et al., 2002) ont mesuré le facteur de discrimination isotopique en jeu lors de la synthèse d'OBT à partir de l'eau tissulaire sur différentes espèces végétales et obtenu des valeurs de : 0,52 pour l'herbe, 0,68 pour la laitue, 0,46 pour les racines de radis et 0,72 pour la tomate.

Le ratio d'activité massique (*Specific Activity Ratio* ou SAR) est un moyen de quantifier les phénomènes de fractionnement isotopique. Il correspond au ratio des activités massiques ($^3\text{H}/^1\text{H}$) du tritium organique (OBT) et de l'eau tritiée (HTO) dans un compartiment biologique ou écologique donné. Ce ratio est généralement exprimé en termes de concentrations du tritium dans l'eau selon la relation (10) (Kim and Baumgärtner, 1994; Diabaté and Strack, 1993); la concentration en tritium organique correspond à l'activité dans l'eau produite par la combustion complète de la matière organique sèche (« équivalent eau »). Dans la mesure où la formation de la matière organique des plantes nécessite un apport d'eau, les concentrations du tritium dans l'eau tissulaire des végétaux et dans la matière organique devraient théoriquement être égales.

Le ratio de ces concentrations est donc un indicateur de la capacité des systèmes biologiques à concentrer le tritium sous forme organique (Okada and Momoshima, 1993).

$$R = \frac{A_{OBT}}{A_{HTO}} = \frac{(T/H)_{OBT}}{(T/H)_{HTO}} \quad (10)$$

Avec:

R	ratio des activités massiques du tritium dans la fraction organique et dans l'eau tissulaire du végétal (sans unité)
A_{OBT}	activité massique du tritium par rapport au proton dans la fraction organique du végétal (Bq L ⁻¹)
A_{HTO}	activité massique du tritium par rapport au proton dans l'environnement du végétal (Bq L ⁻¹)

Le ratio d'activité massique du tritium organique par rapport à l'activité de l'eau tissulaire (OBT/TFWT) est également utilisé. A partir de ces définitions, certains auteurs ont recensé les valeurs du ratio OBT/HTO (de la vapeur d'eau de l'air ou de la solution du sol) et du ratio OBT/TFWT pour différentes espèces végétales soumises à une exposition de longue durée au tritium (McFarlane, 1976; Garland and Ameen, 1979; Spencer, 1984; Hisamatsu et al., 1987; Hisamatsu et al., 1989; Takashima et al., 1989; Inoue and Iwakura, 1990; Davis et al., 2002; Davis et al., 2005b). Une liste non exhaustive de ces valeurs est donnée dans le Tableau 8. La grande variabilité des valeurs obtenues pour ces ratios s'explique par des conditions expérimentales très différentes. En conditions d'équilibre, les valeurs inférieures à l'unité obtenues dans la plupart des cas sont probablement liées à la discrimination isotopique envers le tritium durant la synthèse de matière organique (Spencer, 1984). Cependant, il est très difficile de maintenir une ambiance tritiée constante sur le long terme, même lors d'expérimentations en conditions contrôlées. De ce fait, les conditions d'équilibre sont rarement atteintes durant toute la période de vie des plantes et notamment au moment de leur prélèvement. Dans de tels cas, le ratio d'activité massique peut être supérieur à l'unité du fait du temps de résidence biologique plus long du tritium organique comparativement au tritium présent dans l'eau tissulaire (Kirchmann et al., 1971; Koranda and Martin, 1971; Inoue and Iwakura, 1989). Les mécanismes biologiques propres à chaque espèce ou organe peuvent également expliquer la variabilité de ces ratios. En effet, les fruits et les tubercules stockent les assimilats organiques, et par conséquent de l'OBT, alors que ce n'est pas la fonction principale des feuilles ou des racines (Diabaté and Strack, 1993). De ce fait, les valeurs des ratios supérieures à 1 dans certains organes tels que les fruits (Spencer, 1984; Hisamatsu et al., 1987; Hisamatsu et al., 1989) ne sont pas dues à un enrichissement isotopique en faveur du tritium mais au phénomène de translocation des molécules organiques vers certains organes. De plus, les exigences écologiques peuvent être à l'origine des ratios très faibles observés pour certaines espèces telles que le riz. Dans ce cas particulier, l'importante irrigation des plants conduit rapidement à l'équilibre entre les activités de l'eau d'irrigation et de l'eau tissulaire du végétal. Les fluctuations de la concentration atmosphérique en tritium sont alors négligeables (Inoue and Iwakura, 1990; Diabaté and Strack, 1993), ce qui explique un très faible ratio des fractions OBT/HTO atmosphérique.

Il convient également de noter que le ratio des fractions OBT/TFWT est en général plus élevé que le ratio des fractions OBT/HTO atmosphérique car l'activité tritium de l'eau tissulaire des végétaux (TFWT) n'atteint jamais celle de la vapeur d'eau tritiée de l'air (HTO).

Référence	Espèce végétale	Conditions expérimentales	OBT/HTO	OBT/TFWT
(McFarlane, 1976)	luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	Exposition au tritium via une solution de culture hydroponique T = 25°C ± 0,5 °C (jour) T = 20°C ± 0,5 °C (nuit) HR = 70 ± 4 % L ~ 325 µmol m ⁻² s ⁻¹	0,78	-
(Garland and Ameen, 1979)	orge (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	Cycle alterné : 16h d'éclaircissement / 8h d'obscurité	0,73	-
	maïs (<i>Zea mays</i> L.)	croissance durant 30 jours, équilibre des activités tritium dans l'eau du sol et de l'air	0,64	-
(Davis et al., 2002; Davis et al., 2005b)	herbe	Cycle circadien naturel (été)	0,19 - 0,31	0,52
	laitue (<i>Lactuca sativa</i> L.)		0,41	0,68
	racines de radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)		0,25	0,46
	tomates (fruits) (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)		0,43	0,72
	fourrage		0,33 - 0,56	-
	maïs (<i>Zea mays</i> L.)		0,14 - 0,39	-
	orge (<i>Hordeum vulgare</i> L.)		0,52 - 0,57	-
	blé de printemps (<i>Triticum aestivum</i> L.)		0,18 - 0,25	-
	fruits	0,32 - 0,37	-	
(Takashima et al., 1989)	aiguilles de pin (<i>Pinus thunbergii</i> et <i>Picea jezoensis</i>)	Prélèvements effectués à l'automne (Japon)	-	[0,9 - 2,1] 1,5*
(Hisamatsu et al., 1987; Hisamatsu et al., 1989; Hisamatsu et al., 1991)	fruits (oranges, pommes, bananes, melons, kiwis, fraises)	Produits commerciaux achetés à Akita (Japon) en 1985	-	[1,3 - 2,4] 1,5*
	céréales excepté riz (blé, maïs)		-	1,6
	pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i> L.)		-	1,1
	légumes verts (épinards, carottes, choux chinois, piments doux, poivrons)		-	[1,0 - 1,5] 1,2*
	autres légumes (radis, oignons, tomates, concombres, choux, haricots, choux-fleurs, champignons)		-	4,3
	soja et « azuki beans » (<i>Phaseolus angularis</i>)	-	1,9	

Référence	Espèce végétale	Conditions expérimentales	OBT/ HTO	OBT/ TFWT
(Hisamatsu et al., 1987; Hisamatsu et al., 1989; Hisamatsu et al., 1991)	riz (<i>Oryza sativa</i> L.)	Riz brut (récolte en rizière)	-	[0,37 – 0,66 0,57*]
		Riz blanc commercial (raffiné)	-	[0,57 – 1,6] 0,93*
(Inoue and Iwakura, 1990)	riz (<i>Oryza sativa</i> L.)	Riz blanc commercial (raffiné)	-	[0,33 – 1,49] 0,83*
(Spencer, 1984)	tomate : feuilles jeunes (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Cycle alterné : 16h d'éclairement: T = 23°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 % L ~ 500 µmol m ⁻² s ⁻¹	0,30	0,70
	tomate : feuilles âgées (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	8h d'obscurité : T = 18°C ± 1 °C HR = 62 ± 2 %	0,29	0,63
	tomate : fruits verts (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)		0,27	0,72 – 1,92

[] : gamme des résultats obtenus

* : moyenne des résultats obtenus

Tableau 8 : Ratios d'activité massique du tritium organique et de la vapeur d'eau atmosphérique ou de l'eau du sol (OBT/HTO) et du tritium organique et de l'eau tissulaire (OBT/TFWT), pour différentes espèces végétales.

3.3.6 FACTEURS DE TRANSFERT DU TRITIUM VERS LA FRACTION ORGANIQUE DES VÉGÉTAUX

3.3.6.1 Définitions des facteurs de transfert

Différentes relations ont été proposées pour quantifier le transfert du tritium vers la fraction organique des végétaux.

Le facteur de transfert est l'un des paramètres les plus utilisés en radioécologie pour décrire le transport d'un **radionucléide** à travers différentes matrices environnementales. Il est le plus souvent défini comme le ratio d'activité massique du compartiment d'arrivée à celle du compartiment de départ (ICRU, 1998).

La principale différence entre le taux d'incorporation (« *conversion rate* ») et un simple ratio d'activité massique réside dans la prise en compte du temps d'exposition des végétaux au tritium (Sabbarese et al., 2002). Ainsi, Atarashi-Andoh et al. (Atarashi-Andoh et al., 2002) ont étudié la formation d'OBT dans des plants de komatsuna, de radis et de tomate cerise, pour le cas d'un rejet de tritium gaz (HT) continu. Dans ce cas, le sol constitue la source principale d'eau tritiée pour la plante. Quelques jours après le début de l'expérience, un état d'équilibre est atteint entre l'activité HTO du sol et de l'eau tissulaire des plants. Dans ces conditions, les auteurs ont défini le taux d'incorporation du tritium libre en tritium organique comme le

coefficient de proportionnalité entre l'intégration du tritium organique au cours du temps et la concentration en tritium dans l'eau tissulaire du végétal, selon la relation (11) :

$$\frac{dC_{OBT}}{dt} = \nu \cdot C_{TFWT} \quad (11)$$

Avec:

C_{TFWT}	activité dans l'eau tissulaire de la plante (Bq L ⁻¹)
C_{OBT}	activité dans l'eau équivalente du tritium organique de la plante (Bq L ⁻¹)
ν	taux d'incorporation du tritium de l'eau tissulaire vers la fraction organique (% h ⁻¹)

3.3.6.2 Mesures des facteurs de transfert du tritium vers la fraction organique

Atarashi-Andoh et al. ont mesuré expérimentalement les taux d'incorporation du tritium libre en OBT pour différents organes de plants de komatsuna, de radis (*Raphanus sativus* L.), et de tomates cerises (*Solanum lycopersicum* L.) exposés à de la vapeur d'eau tritiée (Atarashi-Andoh et al., 2002). Les valeurs obtenues, regroupées dans le Tableau 9 sont plus faibles pour les fruits et les racines que pour les feuilles, ce qui est en accord avec le circuit des molécules organiques produites dans les parties aériennes puis exportées vers les organes « puits » des végétaux.

Référence	Espèce végétale	Taux d'incorporation (% h ⁻¹)
(Atarashi-Andoh et al., 2002)	feuilles de komatsuna (<i>Brassica rapa</i> var. komatsuna)	0,20 - 0,32
	feuilles de radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	0,21
	racines de radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	0,07
	feuilles de tomate cerise (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	0,13 - 0,19
	fruit de tomate cerise (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	0,05

Tableau 9 : Taux d'incorporation du tritium de l'eau tissulaire en tritium organique pour différentes espèces végétales exposées de façon continue à de la vapeur d'eau tritiée par voie atmosphérique.

Les taux d'incorporation donnés dans le Tableau 9 ont été calculés à partir de l'intégration de l'OBT depuis le début de l'exposition jusqu'à la récolte, sans considérer les paramètres biologiques de la plante. Cependant, les auteurs ont montré que ce taux d'incorporation varie fortement en fonction du stade de développement du végétal et des conditions environnementales durant la croissance (influence de la température, de l'irradiation solaire, de l'**indice foliaire**, de l'hygrométrie du sol et de l'air) (Atarashi-Andoh et al., 2002; Vichot et al., 2008b; Boyer et al., 2009). D'autres données expérimentales, reportées par H. Lee pour un groupe de travail du programme EMRAS de l'AIEA (« *soybean scenario* » (IAEA, 2008)), confirment cette variation du taux d'incorporation en fonction de l'âge du végétal. Ces données portant sur l'exposition de plants de soja (*Glycine max*) à des niveaux atmosphériques élevés de tritium en conditions de culture artificielles. Les expositions de courte durée (1 h) ont été réalisées sur des plants à divers stades de développement. Les plants ont ensuite été replacés en extérieur et cultivés de façon normale. Après la récolte, l'activité du tritium organique a été mesurée dans différents organes des plants. Il apparaît que le taux d'incorporation de l'OBT à partir du tritium de l'eau tissulaire varie d'un facteur 3 selon l'organe et le stade de développement (Guétat et al., 2008b) (Figure 7).

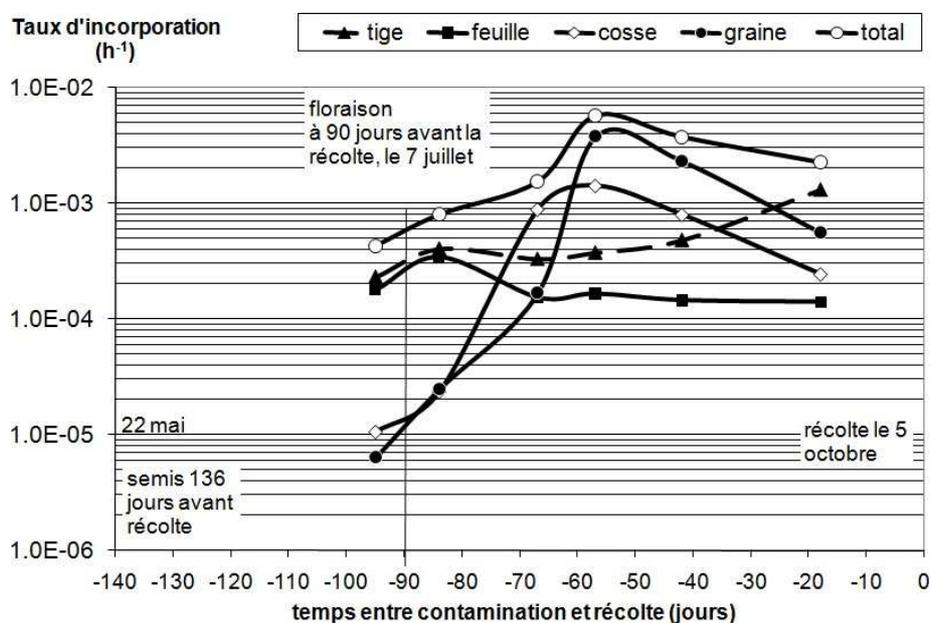


Figure 7 : Variation de l'incorporation du tritium organique dans des plants de soja en fonction de l'organe et du stade de développement (Guétat et al., 2008b).

3.3.6.3 Limites

Les taux d'incorporation du tritium proposés dans la littérature sont généralement considérés comme constants. Cependant, des travaux récents montrent que ces facteurs sont très variables avec l'espèce végétale et le stade de maturité des plantes (Atarashi-Andoh et al., 2002). Il s'agit donc à présent de considérer des modèles de facteurs de transfert dynamiques, représentatifs de la capacité d'incorporation instantanée de la plante à tous les stades de sa croissance. Ce type d'approche a donné de bons résultats pour l'étude d'autres **radionucléides** tels que le césium, le cobalt ou le potassium (Sabbarese et al., 2002).

3.4 IMPACT DOSIMETRIQUE DU TRITIUM DU A LA CONSOMMATION HUMAINE DE VEGETAUX

L'impact dosimétrique du tritium organique intégré dans les plantes pour la consommation humaine est pris en compte en raison de son temps de résidence biologique plus long que l'eau tritiée (Amano et al., 1995). En effet, les **coefficients de dose efficaces** pour un adulte en vigueur actuellement sont de $4,2 \cdot 10^{-11}$ Sv Bq⁻¹ en cas d'ingestion de tritium organique et de $1,8 \cdot 10^{-11}$ Sv Bq⁻¹ pour l'absorption d'eau tritiée (ICRP, 1993).

Toutefois, les doses impliquées par l'ingestion d'OBT sont actuellement discutées (Melintescu et al., 2007; Galeriu et al., 2008). En effet, les **coefficients de dose efficaces** pour l'ingestion d'OBT ont été calculés en considérant une demi-vie biologique moyenne pour l'ensemble des molécules organiques, alors que celle-ci est très variable. Par ailleurs les mécanismes de la digestion humaine et animale peuvent modifier très sensiblement les molécules lors du transit vers des formes assimilables ou non, aux demi-vie biologiques très différentes (Belot et al., 1996). Bien que le tritium incorporé à la fraction organique ne représente qu'une très petite fraction de la masse fraîche des végétaux (Diabaté and Strack, 1993; Murphy, 1993), des travaux récents estiment que la contribution de l'OBT à la dose serait de l'ordre de 20 à 30% en cas d'exposition chronique et d'environ 60% en cas d'exposition accidentelle (Guétat et al., 2008a, b).

4 MODELES DU TRANSFERT ET DE L'INTEGRATION DU TRITIUM DANS LES VEGETAUX

4.1 INTRODUCTION

Compte tenu de l'importance de l'hydrogène dans toutes les molécules organiques d'une part, et de la transformation de ces molécules de manière incessante dans les êtres vivants d'autre part, il n'existe pas de modèle permettant de rendre compte de l'ensemble des mécanismes en jeu. Les modèles répondent en général à une préoccupation donnée, et les simplifications nécessaires ne portent pas obligatoirement sur les mêmes phénomènes selon les objectifs du modèle. Il est notamment d'usage de distinguer l'impact radiologique lié aux expositions chroniques mais de faible niveau (rejets continus) de l'impact des expositions de courte durée mais de forte intensité (situations accidentelles).

4.1.1 OBJECTIFS DES MODELES

Afin d'évaluer la sûreté des installations nucléaires, l'estimation de l'impact potentiel des rejets **radioactifs** dans l'environnement est nécessaire. La modélisation du transfert du tritium dans les différents compartiments environnementaux et de son assimilation dans les organismes biologiques constitue le moyen d'apprécier les impacts des installations, que ce soit pour conduire une politique de gestion et traitement d'effluents, ou pour définir les plans de surveillance, voire les interventions nécessaires pour limiter les conséquences d'un rejet de type accidentel.

La méthodologie générale du calcul d'impact valable pour les **radionucléides**, gaz rares ou aérosols, n'est pas applicable au tritium en raison de sa mobilité importante, de sa spécificité biologique et de ses changements de formes chimiques. Depuis les années 1960, de nombreux modèles ont été proposés afin d'évaluer les transferts du tritium au sein des **écosystèmes**. La multitude et la complexité des phénomènes mis en jeu a conduit à l'établissement de modèles spécifiques pour chaque étape particulière du cycle du tritium dans l'environnement. Les paragraphes suivants vont s'attacher à la description des hypothèses, des paramètres et des équations pris en compte pour la modélisation de l'absorption et de l'incorporation du tritium dans les végétaux.

4.1.2 HYPOTHESES ET PARAMETRES USUELS

Tous les modèles considèrent au minimum trois compartiments environnementaux de base : l'air, le sol et la végétation (« *Soil Vegetation Atmosphere Transport (SVAT) compartment model* ») (Golubev et al., 2002b; Keum et al., 2006). Dans certains modèles, ces compartiments sont subdivisés en sous-unités. Les plantes peuvent par exemple être classées en différentes catégories telles que les « légumes feuilles », les graines, les tubercules, les fruits... (Raskob, 1993; Keum et al., 2006). Le sol peut être considéré comme un ensemble d'horizons plus ou moins épais.

En règle générale, la photosynthèse, la respiration et la transpiration des végétaux sont les principaux mécanismes biologiques d'échange de l'hydrogène et du tritium entre l'atmosphère

et les parties aériennes des plantes qui sont considérés dans les modèles. L'hypothèse que le **tritium organiquement lié échangeable** est en équilibre avec le pool d'eau tissulaire des plantes est généralement admise (Keum et al., 2006). De ce fait, la plupart des modèles ne distinguent pas ces deux fractions.

Certains modèles prennent en compte une possible élimination du **tritium organiquement lié non-échangeable**, considérant une période biologique de l'OBT de quelques jours, tandis que d'autres modèles font l'hypothèse qu'il n'y a aucune dégradation de l'OBT après sa formation. La confrontation de ces deux types de modèles avec des données expérimentales semble confirmer que le tritium reste stable une fois incorporé à la matière organique des végétaux (Keum et al., 2006).

Il existe des modèles qui considèrent la concentration et des modèles qui considèrent l'activité. L'activité incorporée en tritium organique non échangeable est stable mais du fait de la croissance continue des plantes, la concentration en OBT-NE diminue par augmentation de la quantité de matière. De plus, l'organe d'une plante potentiellement consommé par l'homme n'est pas forcément celui qui est contaminé initialement. Il convient donc de considérer les transferts de matière organique au sein des plantes. Dans tous les cas, les contributions respectives à la dose de l'eau tissulaire et du tritium organique suite à la consommation humaine de végétaux sont toujours traitées séparément dans les modèles prédictifs.

4.2 MODELES DYNAMIQUES (EXPOSITION DE COURTE DUREE)

Dans le cas d'un rejet de courte durée, un modèle dynamique doit être considéré. Ce type de modèles complexes tels que UFOTRI (Raskob, 1990, 1993; Galeriu et al., 1995; Täschner and Bunnenberg, 1997) ou ETMOD (Russell and Ogram, 1992) permet d'évaluer les transferts du tritium dans tous les compartiments environnementaux (atmosphère, sol, plantes) dès lors que les conditions météorologiques sont connues. Toutefois, ces modèles requièrent un grand nombre de données en entrée (Keum et al., 2006), ce qui entraîne des incertitudes importantes sur les estimations. Afin de simplifier les modèles dynamiques, des modules de calcul spécifiques ont été développés, en se basant en partie sur des données expérimentales. Le tritium étant un **isotope** de l'hydrogène, élément majeur, un nombre important de ces données peuvent être estimées par le biais d'expériences de biologie dépassant le cadre de la radioécologie.

4.2.1 MODELISATION DE L'ABSORPTION ET DE LA DESORPTION DU TRITIUM

Il a été montré expérimentalement en conditions constantes d'environnement et d'exposition que l'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des végétaux suit une loi cinétique de type sigmoïde croissante, tendant vers une asymptote, comme celle de la relation (7) rappelée ci-dessous de façon simplifiée (cf. 3.2.4.1.1):

$$\frac{d(C_{TFWT}^{plante})_t}{dt} = k \times ((C_{TFWT}^{plante})_{eq} - (C_{TFWT}^{plante})_t) \quad \Leftrightarrow \quad (C_{TFWT}^{plante})_t = (C_{TFWT}^{plante})_{eq} \times (1 - \exp(-kt)) \quad (7)$$

Avec:

$(C_{TFWT}^{plante})_t$	activité tritium dans l'eau tissulaire de la plante à l'instant t (Bq L ⁻¹)
$(C_{TFWT}^{plante})_{eq}$	activité dans l'eau tissulaire de la plante à l'équilibre (Bq L ⁻¹)
t	temps écoulé depuis le début de l'exposition (h)

Une autre approche basée sur les bilans de matière a également été utilisée pour décrire les dynamiques de transfert du tritium entre l'atmosphère et les parties aériennes des végétaux. La relation (12), utilisée notamment dans le modèle RODOS (Melintescu and Galeriu, 2005), a ainsi été établie à partir du bilan des entrées et des sorties de matière dans les feuilles des végétaux (Belot et al., 1984; Murphy, 1984). Cette relation tient compte du flux de transpiration de l'eau tritiée. Le premier terme exprime le flux de la vapeur HTO qui s'établit entre l'atmosphère et l'eau libre des feuilles à travers les **stomates**. Il décrit un gradient de concentration en tritium du compartiment présentant la teneur la plus forte vers le compartiment présentant la teneur la plus faible. Le deuxième terme représente l'apport éventuel de HTO en provenance de l'eau du sol, selon le besoin en eau des feuilles.

$$\frac{dC_{TFWT}^{plante}}{dt} = \frac{\gamma_c}{M_w} (\rho_{air} C_{HTO}^{air} - \frac{\rho_v C_{TFWT}^{plante}}{\beta}) + \frac{v_c}{M_w} (\rho_v - \rho_{air}) \times C_{HTO}^{sol} \quad (12)$$

Avec:

C_{TFWT}^{plante}	activité tritium dans l'eau tissulaire de la plante à l'instant t (Bq kg ⁻¹)
C_{HTO}^{air}	activité de l'eau tritiée (HTO) dans l'atmosphère autour de la plante (Bq m ⁻³)
C_{HTO}^{sol}	activité de l'eau tritiée (HTO) dans la couche racinaire du sol (Bq kg ⁻¹)
v_c	vitesse d'échange de l'eau entre l'air et les feuilles dans la canopée (m s ⁻¹)
γ_c	vitesse d'échange de l'eau tritiée (m s ⁻¹), avec $\gamma = 0,95$
ρ_v	hygrométrie de l'air saturé à la température de la végétation (kg m ⁻³)
ρ_{air}	hygrométrie de l'air au niveau de référence (kg m ⁻³)
M_w	masse d'eau libre dans les feuilles par unité de surface de sol (kg _{eau} m _{sol} ⁻²)
β	facteur de séparation isotopique (³ H/ ¹ H) ; $\beta = 1,1$

Le même type de relation basée sur le bilan des entrées et des sorties de matière au sein de la plante est implantée dans le logiciel GAZAXI (Guétat and Armand, 2003). Ce code de calcul, utilisé par le CEA et par EDF pour la modélisation de situations accidentelles, prend en compte une phase d'incorporation (« charge ») et de désincorporation (« décharge ») du tritium dans l'eau tissulaire des végétaux. Ce modèle considère que les équations différentielles qui régissent l'échange de l'eau tritiée entre l'atmosphère et les végétaux sont analogues par temps pluvieux et par temps sec. Les seules différences entre les deux cas se situent dans l'activité volumique de l'air considérée.

Dans GAZAXI, le calcul de l'activité en eau tritiée par temps sec lors de la phase d'incorporation considère la différence des activités volumiques de la vapeur d'eau tritiée entre l'atmosphère et la surface même des feuilles. L'échange entre l'air et les feuilles des végétaux s'exprime alors par la relation suivante (13):

$$\frac{d C_{TFWT}^{plante}}{d t} = \frac{\gamma v_c}{M_w} \left(C_{HTO}^{air} - \frac{C_{eau}^{sat}(T_f)}{\beta} C_{TFWT}^{plante} \right) \quad (13)$$

Avec:

γ	rapport entre les vitesses d'échange HTO/H ₂ O (sans dimension, $\gamma = 0,95$)
v_c	vitesse d'échange de l'eau entre l'air et les feuilles dans la canopée (m s ⁻¹),
M_w	masse d'eau dans les feuilles par unité de surface du sol (kg _{eau} m _{sol} ⁻²)
C_{HTO}^{air}	activité volumique du tritium dans la vapeur d'eau proche de la feuille (Bq m ⁻³)
C_{eau}^{sat}	concentration en vapeur d'eau saturante près des feuilles (kg _{eau} m ⁻³)
β	facteur de séparation isotopique (sans dimension, $\beta = 1,1$)
C_{TFWT}^{plante}	activité massique du tritium dans l'eau des feuilles (Bq kg _{eau} ⁻¹)

La masse d'eau contenue dans les feuilles par unité de surface au sol vérifie l'équation (14):

$$M_w = rdt \times (1 - \tau_{ms}^{vég}) \quad (14)$$

Avec :

M_w	masse d'eau contenue dans les feuilles par unité de surface au sol (kg _{eau} m ⁻² _{sol})
rdt	rendement de la partie foliaire du végétal à sa récolte (kg _{frais} m ⁻² _{sol})
$\tau_{ms}^{vég}$	taux de matière sèche dans le végétal (kg _{sec} kg _{frais} ⁻¹)

La relation simplifiée suivante fournit la vitesse d'échange de l'eau entre l'air et les feuilles en fonction de la résistance stomatique de la surface foliaire et de l'**indice foliaire** (15):

$$v_c = \frac{IF}{r} \quad (15)$$

Avec :

- V_c vitesse d'échange de l'eau entre l'air et les feuilles dans la **canopée** (m s⁻¹),
 IF **indice foliaire** du végétal à son stade végétatif (m² feuille m⁻² sol)
 r résistance stomatique de la surface foliaire (s m⁻¹)

La résistance stomatique de la surface foliaire est considérée comme égale à 300 s m⁻¹ en moyenne pendant le jour lorsque les **stomates** sont pleinement ouverts et à 3000 s m⁻¹ pendant la nuit lorsqu'ils se ferment. Connaissant l'**indice foliaire** pour différentes catégories végétales, on peut en déduire une estimation de la vitesse d'échange de l'eau entre l'air et les feuilles. En pratique dans Gazaxi, la résistance stomatique de la surface foliaire est fixée par défaut à 300 s m⁻¹. Cette valeur permet de se placer dans le cas le plus pénalisant où l'accident a lieu en pleine journée.

Afin de simplifier l'intégration de l'équation différentielle qui précède, le champ instationnaire d'activité volumique de l'air est remplacé par le champ moyenné temporellement sur le passage de la bouffée, calculé comme suit (16):

$$\overline{C_{HTO}^{air}} = \frac{I}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} C_{HTO}^{air}(t) dt \quad (16)$$

Avec :

- $\overline{C_{HTO}^{air}}$ concentration moyenne de l'air pendant le passage de la bouffée (Bq m⁻³)
 C_{HTO}^{air} concentration moyenne de l'air (Bq m⁻³)
 t_1 instant initial de passage de la bouffée (s)
 t_2 instant final de passage de la bouffée (s)

L'activité de l'eau tritiée dans les feuilles du végétal est finalement obtenue par intégration selon la relation (17):

$$C_{TFWT}^{plante}(t) = \beta \frac{\overline{C_{HTO}^{air}}}{C_{eau}^{sat}(T_f)} \left(1 - \exp \left(- \frac{\gamma V_c C_{eau}^{sat}(T_f)}{m \beta} (t - t_1) \right) \right) \quad (17)$$

L'activité intégrée de l'eau tritiée dans le végétal se calcule pendant la période de « charge », entre l'instant initial t_1 et l'instant final t_2 de la contamination d'après (18):

$$CI_{TFWT} = \beta \frac{\overline{C_{HTO}^{air}}}{C_{eau}^{sat}(T_f)} \left\{ t_2 - t_1 - \frac{m \beta}{\gamma V_c C_{eau}^{sat}(T_f)} \left[1 - \exp \left(- \frac{\gamma V_c C_{eau}^{sat}(T_f)}{m \beta} (t_2 - t_1) \right) \right] \right\} \quad (18)$$

Avec :

CI_{TFWT} activité intégrée de l'eau tritiée dans le végétal ($Bq \text{ s kg}_{\text{eau}}^{-1}$)

Après passage de la bouffée, les végétaux se décontaminent peu à peu en éliminant leur eau tritiée. L'équation différentielle valable en phase de charge demeure valable pour le calcul de l'activité en eau tritiée par temps sec lors de la phase de décontamination, à condition d'annuler le terme source selon (19):

$$\frac{d C_{TFWT}^{plante}}{d t} = - \frac{\gamma V_c C_{\text{eau}}^{sat}(T_f)}{m \beta} C_{TFWT}^{plante} \quad (19)$$

L'activité intégrée de l'eau tritiée dans le végétal est calculée au cours de la période de « décharge », entre l'instant final t_2 de passage de la bouffée et l'instant t (postérieur à t_2) selon (20) :

$$CI_{TFWT} = C_{TFWT}^{plante}(t_2) \frac{m \beta}{\gamma V_c C_{\text{eau}}^{sat}(T_f)} \left[1 - \exp \left(- \frac{\gamma V_c C_{\text{eau}}^{sat}(T_f)}{m \beta} (t - t_2) \right) \right] \quad (20)$$

Avec :

CI_{TFWT} activité intégrée de l'eau tritiée dans le végétal ($Bq \text{ s kg}_{\text{eau}}$)

$C_{TFWT}^{plante}(t_2)$ activité de l'eau tritiée dans les feuilles ($Bq \text{ kg}_{\text{eau}}$)

L'activité massique intégrée totale de l'eau tritiée du végétal est finalement la somme des activités massiques intégrées durant les phases de contamination et de décontamination de la plante.

4.2.2 MODELISATION DE LA FORMATION DU TRITIUM ORGANIQUE

La majeure partie du tritium organique est formée à partir de l'eau tissulaire présente dans la plante, via les processus photosynthétiques. Le taux d'incorporation de l'eau tritiée sous forme d'OBT peut donc être obtenu en considérant l'équation stœchiométrique globale de la photosynthèse, donnée précédemment par les équations (5) et (6). Le flux de **tritium organiquement lié non échangeable** formé par photosynthèse peut ainsi être estimé comme le produit du taux d'assimilation de l'eau et de la concentration HTO dans l'eau tissulaire de la plante, corrigée de deux facteurs selon la relation (21) (Galeriu et al., 1998). Le premier facteur correctif est le facteur stœchiométrique d'assimilation de l'eau, il correspond au rapport des masses molaires de l'eau et du dioxyde de carbone ($18/44 = 0,41$). Le second facteur correctif est lié à la discrimination isotopique puisque les modèles considèrent généralement que le tritium est défavorisé devant l'hydrogène stable dans les réactions d'incorporation. Le rapport TRS-364 présente quelques valeurs expérimentales sur différents types de plantes pour ce

facteur (McFarlane, 1976; Garland and Ameen, 1979; Kim and Baumgärtner, 1994; IAEA, 2007a), comprise entre 0,5 et 0,6 pour la plupart. Le modèle Gazaxi considère un facteur de pondération du taux de matière sèche du végétal de 0,53 pour évaluer la part du tritium non échangeable. Il s'agit du produit du facteur de fractionnement du tritium par rapport à l'hydrogène standard pris égal à 0,95 par le ratio 90/162 qui correspond au rapport de la masse molaire moléculaire de $(\text{H}_2\text{O})_5$ sur la masse molaire moléculaire d'une molécule de cellulose ou d'amidon $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$.

$$F_{OBT} = D.C.P_{CO_2}.C_{TFWT}^{plante} \quad (21)$$

Avec :

F_{OBT}	flux de tritium organiquement lié non échangeable formé par photosynthèse ($\text{Bq s}^{-1} \text{m}^{-2}$)
P_{CO_2}	taux d'assimilation nette du CO_2 ($\text{kg}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
D	facteur de discrimination isotopique
C	facteur stœchiométrique ($\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}} \text{kg}_{\text{CO}_2}^{-1}$)
C_{TFWT}^{plante}	concentration HTO dans l'eau tissulaire des feuilles où la photosynthèse est active (Bq L^{-1})

Le flux de **tritium organiquement lié non échangeable** formé doit être intégré sur la surface totale de feuille présentant une activité photosynthétique et sur la durée d'exposition au tritium. En conditions nocturnes, le taux de formation maximal est considéré comme de l'ordre de $670 \mu\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En journée, ce taux peut atteindre $800 \mu\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour les plantes en **C3** et $1600 \mu\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour les plantes en **C4**.

Le taux d'incorporation moyen du tritium dans la matière organique est évalué à partir du rendement en matière sèche rapporté à la durée de croissance du végétal. Il peut se calculer suivant la relation (22):

$$\tau_{inc} = D \frac{\tau_{ms}^{veg} \times rdt}{\Delta t_{croissance}} \quad (22)$$

Avec :

τ_{inc}	taux d'incorporation du tritium dans la matière organique ($\text{kg}_{\text{eau}} \text{m}^{-2}_{\text{sol}} \text{s}^{-1}$)
τ_{ms}^{veg}	taux de matière sèche dans le végétal ($\text{kg}_{\text{sec}} \text{kg}_{\text{frais}}^{-1}$)
rdt	rendement de la partie foliaire du végétal à sa récolte ($\text{kg}_{\text{frais}} \text{m}^{-2}_{\text{sol}}$)
$\Delta t_{croissance}$	durée de croissance du végétal (s)

L'activité totale en OBT fixée dans le végétal est obtenue en multipliant l'activité massique intégrée totale de l'eau par le taux d'incorporation selon la relation (23):

$$C_{OBT} = \frac{\tau_{inc} \times CI_{TFWT}}{rdt \times \tau_{ms}^{veg}} \quad (23)$$

Avec :

C_{OBT} activité de la matière organique à la récolte (Bq kg_{sec}⁻¹)

CI_{TFWT} activité intégrée de l'eau tritiée dans le végétal (Bq s kg_{eau}⁻¹)

L'activité de la matière organique à la récolte peut encore s'exprimer selon l'équation (24), en conservant les notations de la relation (21) :

$$C_{OBT} = \frac{F_{OBT} \times \Delta t_{croissance} \times IF}{rdt \times \tau_{ms}^{veg}} \quad (24)$$

L'activité massique de la matière organique à la récolte est estimée en divisant l'activité totale en OBT déposée dans le végétal par le rendement en matière sèche. Cette approche est simplificatrice et un peu majorante car elle suppose que les végétaux ont intégré tout le tritium disponible jusqu'à totale disparition de ce dernier. Ceci n'est sûrement pas exact pour les végétaux à production continue, ramassés dans les deux premiers jours après l'accident, ni pour ceux qui ne sont pas encore dans la phase linéaire de leur croissance.

4.3 MODELES STATIQUES (CONDITIONS DE PSEUDO-EQUILIBRE)

Les modèles d'activité massique (« *specific activity models* » ou « *SA models* ») sont couramment utilisés pour les situations d'expositions chroniques. Ce type de modèle fait l'hypothèse qu'un équilibre s'établit entre les différents compartiments environnementaux (atmosphère, précipitations, sol, plantes, animaux...) et que le ratio ³H/¹H demeure constant d'un compartiment à un autre (IAEA, 2007a; Guétat et al., 2008b). Appliqués au tritium, ces modèles sont formulés en termes d'activités dans l'eau. La concentration en tritium organique est de ce fait calculée à partir de l'activité dans « l'équivalent-eau » de la matière organique (c'est-à-dire dans l'eau obtenue par combustion complète de la matière sèche) (IAEA, 2007a). Les modèles d'activité massique sont pertinents pour prédire la dose engagée durant une exposition chronique (Anspaugh et al., 1973; Murphy, 1986; Diabaté and Strack, 1990; Hamby and Bauer, 1994; Peterson, 2002), à condition que les conditions météorologiques et le régime alimentaire des populations durant l'exposition soient connus.

4.3.1 MODELISATION DE L'ACTIVITE DANS L'EAU TISSULAIRE A L'ETAT D'EQUILIBRE

Les modèles statiques proposés pour décrire les activités dans l'eau tissulaire des plantes en cas d'exposition chronique sont cohérents avec les équations dynamiques utilisées pour les expositions de courte durée. Ces équations sont cependant moyennées sur des temps d'exposition longs (plusieurs mois) (Belot et al., 1979; Garland, 1982). Cette approche requiert l'introduction d'un certain nombre d'hypothèses. On admet notamment que (Belot et al., 1979):

- l'air des cavités sous-stomatiques est saturé en eau,
- la majeure partie de l'eau tissulaire de la plante est renouvelée rapidement,
- la diffusion de l'eau tritiée est plus rapide dans l'eau tissulaire de la plante qu'à travers les **stomates**,
- une faible quantité d'eau est transférée depuis les feuilles vers le reste de la plante,
- les conditions d'équilibre sont atteintes.

En se basant sur ces hypothèses, la concentration résultante dans l'eau tissulaire (C_{TFWT}^{plante})_{eq} et la constante d'absorption du tritium (k) dans la plante décrites précédemment dans la relation (7) peuvent être exprimées grâce aux relations (25) et (26). Les concentrations sont exprimées en Bq kg⁻¹.

$$\left(C_{TFWT}^{plante}\right)_{eq} = \frac{\chi\beta}{\rho_{sat}} \quad (25)$$

$$k = \frac{\rho_{sat}}{\beta\mu r} \quad (26)$$

Avec :

χ	concentration de la vapeur d'eau tritiée de l'air (Bq L ⁻¹ d'eau de l'air)
ρ_{sat}	densité de la vapeur d'eau de l'air saturé à température ambiante (kg L ⁻¹)
β	facteur de séparation isotopique (³ H/ ¹ H) ; $\beta = 1,1$
μ	masse d'eau contenue par unité de surface de feuille (g cm ⁻²)
r	résistance à l'échange pour HTO (H ₂ O) entre l'air et la feuille (s cm ⁻¹)

Cette relation a été validée expérimentalement sur des feuilles de vigne (Belot et al., 1979) et de haricot (Garland, 1982). Ces études expérimentales ont confirmé que la résistance des feuilles à l'échange de vapeur est sensiblement la même pour HTO et H₂O. Cependant, ces relations ont des limites dans la mesure où elles ne considèrent pas l'eau en provenance du sol.

L'application de la relation (12) permet également de prédire la concentration en tritium dans l'eau tissulaire de la plante pour des conditions approchant l'équilibre (temps d'exposition très long), en fonction de la concentration en tritium dans l'atmosphère et dans le sol. Ce type de modèle est basé sur les hypothèses suivantes (IAEA, 2007a):

- les températures de l'air, de la surface du sol et des feuilles sont égales,
- la masse d'eau de la plante est constante,

- l'activité tritium de l'eau circulant dans les racines est égale à celle de l'eau de la couche racinaire du sol.

En se basant sur ces hypothèses, Belot (Belot, 1986) a proposé la relation suivante (27):

$$C_{TFWT}^{plante} = (1 - H) \times C_{HTO}^{sol} + C_{HTO}^{air} \quad (27)$$

Avec :

H	humidité relative de l'air (%)
C_{TFWT}^{plante}	activité de l'eau tissulaire de la plante (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{sol}	activité de l'eau du sol (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{air}	activité de la vapeur d'eau de l'air (Bq L ⁻¹)

La relation (28) est une variante utilisant les mêmes paramètres, basée sur des considérations à la fois théoriques et expérimentales. Cette relation tient compte du rapport isotopique entre ³H et ¹H à l'équilibre dans l'eau et dans la vapeur, à travers le facteur de séparation isotopique β (Belot et al., 1979; Garland, 1982; Couchat et al., 1983; Murphy, 1984; Amano and Kasai, 1988; Amano and Garten, 1991; IAEA, 2007a).

$$C_{TFWT}^{plante} = \beta \times \left(H \times \frac{C_{HTO}^{air}}{H_a} + (1 - H) \times C_{HTO}^{sol} \right) \quad (28)$$

Avec :

β	facteur de séparation isotopique (³ H/ ¹ H) ; $\beta = 1,1$
H	humidité relative de l'air (%)
H_a	humidité absolue de l'air (L m ⁻³)
C_{TFWT}^{plante}	activité de l'eau tissulaire de la plante (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{sol}	activité de l'eau du sol (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{air}	activité de la vapeur d'eau de l'air (Bq m ⁻³)

L'application de cette relation a cependant des limites. Dans le rapport TRS 364 et dans le document technique associé (IAEA, 2007a), le groupe en charge des questions relatives au tritium et au carbone 14 du programme EMRAS de l'AIEA attire l'attention sur le fait que les contributions relatives de la vapeur d'eau atmosphérique et de l'eau du sol à la concentration du tritium dans l'eau de la plante dépendent des conditions environnementales et de l'organe de la plante considéré.

4.3.2 MODELISATION DE LA FORMATION DU TRITIUM ORGANIQUE

Du fait de la discrimination isotopique du tritium par rapport à l'hydrogène, l'incorporation du tritium de l'eau tissulaire en OBT est théoriquement limitée et l'activité massique du tritium organique, exprimé en termes de concentration dans l'eau de combustion, doit demeurer plus faible que celle de l'eau libre. Le facteur de discrimination à considérer pour prédire l'activité en tritium de la fraction organique en fonction de l'activité HTO connue dans l'eau tissulaire du végétal (Peterson and Davis, 2000; IAEA, 2007a) a été évalué expérimentalement pour différentes espèces végétales (McFarlane, 1976; Garland and Ameen, 1979; Kim and Baumgärtner, 1994; IAEA, 2007a). En moyenne ce facteur de discrimination est compris entre 0,5 et 0,6.

Le facteur « équivalent eau » doit également être pris en compte pour l'établissement de l'activité du tritium organique dans la plante. Ce paramètre peut être mesuré expérimentalement ou estimé à partir de la teneur en hydrogène dans les **protéines**, les **lipides** et les **glucides** (6,8%, 12% et 6,2% en masse, respectivement) et de la fraction de chaque type de molécules organiques au sein de la matière sèche constituant la plante. Pour la plupart des plantes, ce facteur de conversion entre la masse sèche brûlée et l'eau produite par combustion est de l'ordre de 0,5 à 0,6 (IAEA, 2007a; Guétat et al., 2008b).

Le calcul de la concentration en OBT dans la matière fraîche de la plante peut ainsi être formulé suivant la relation (29), qui prend en compte le facteur de discrimination isotopique et le facteur « équivalent eau ».

$$C_{OBT}^{plante} = (1 - x) \times W_{eq} \times D \times C_{TFWT}^{plante} \quad (29)$$

Avec :

C_{OBT}^{plante}	concentration en tritium organique dans la matière fraîche de la plante (Bq kg _{frais} ⁻¹)
x	proportion massique d'eau dans la plante (kg _{eau} kg _{frais} ⁻¹)
W_{eq}	facteur « équivalent eau » de la matière sèche, c'est-à-dire la quantité d'eau produite par quantité de matière sèche brûlée (kg _{eau} kg _{sec} ⁻¹)
D	facteur de discrimination isotopique entre ³ H et ¹ H (sans unité)
C_{TFWT}^{plante}	concentration en tritium dans l'eau tissulaire (Bq kg _{eau} ⁻¹)

La concentration en tritium dans l'eau tissulaire des plantes varie très rapidement en fonction du niveau d'exposition et des conditions environnementales. Il est par conséquent difficile d'utiliser la relation (29) en pratique. La quantité de tritium organique formé en cas d'exposition de courte durée demeure difficile à prédire du fait de la complexité et de la multitude des processus impliqués (Diabaté and Strack, 1993; Atarashi-Andoh et al., 2002). En général, la concentration en tritium organique au moment de la récolte des plants est considérée comme proportionnelle à la concentration moyenne dans l'eau tissulaire des feuilles durant la phase de croissance du végétal. Cette modélisation est basée sur les hypothèses que la croissance de la plante est quasiment linéaire et que l'OBT non échangeable, une fois formé, demeure stable jusqu'à la récolte (IAEA, 2007a).

D'autre part, la quantité d'hydrogène et de tritium dans la plante varie au cours de la croissance du végétal. C'est pourquoi des modèles de croissance des plantes sont parfois

intégrés aux modèles dosimétriques. Ces modèles de croissance permettent d'estimer l'efficacité photosynthétique et la formation de tritium organique qui en découle, en fonction du stade de développement du végétal (Melintescu and Galeriu, 2005; Keum et al., 2006). Ces modèles sont basés sur des fonctions sigmoïdes de croissance et considèrent en général comme données d'entrée : la masse de la plante à pleine maturité, la masse initiale de la plante et le taux de croissance (Baumgartner and Kim, 1995; Keum et al., 2006). D'autres modèles tels que UFOTRI (Raskob, 1993) ou le module FDMH dans RODOS (Galeriu et al., 1998) utilisent des approches plus complexes prenant en compte l'influence des facteurs environnementaux. Cependant, ce type de modèle reste limité par le fait qu'il ne considère pas tous les paramètres influant sur le développement des plantes, notamment certains facteurs environnementaux (climat, type de sol, pratiques agricoles).

4.3.3 MODELISATION DE L'ACTIVITE TRITIUM GLOBALE DANS LES PLANTES

Sur la base des relations (28) et (29), il est possible d'établir une expression rendant compte de l'activité globale du tritium sous ses différentes formes dans la plante (eau tissulaire et tritium organique). Ainsi, Guétat et al. (Guétat et al., 2008b) ont proposé la relation (30), en considérant que le rapport des concentrations dans l'eau du sol et dans la vapeur d'eau de l'air est de l'ordre de 0,3.

$$C_{total}^{plante} = [H + 0,3 \times (1 - H)] \times [(1 - x) \times W_{eq} \times D + x] \times C_{HTO,w}^{air} \quad (30)$$

Avec :

C_{total}^{plante}	activité tritium globale dans toute la plante (Bq kg _{frais} ⁻¹)
H	humidité relative de l'air (%)
x	proportion massique d'eau dans la plante (kg _{eau} kg _{frais} ⁻¹)
W_{eq}	facteur « équivalent eau » de la matière sèche, c'est-à-dire la quantité d'eau produite par quantité de matière sèche brûlée (kg _{eau} kg _{sec} ⁻¹)
D	facteur de discrimination isotopique entre ³ H et ¹ H (sans unité)
$C_{HTO,w}^{air}$	concentration en tritium dans la vapeur d'eau de l'air (Bq kg _{eau} ⁻¹)

4.4 BILAN SUR LES MODELES

Les modèles doivent être validés par la confrontation de leurs prévisions à des données expérimentales. Néanmoins, les expériences mettant en jeu le tritium sont difficiles à réaliser, notamment en ce qui concerne les expositions à long terme. De ce fait, les données expérimentales sont limitées. Des groupes de réflexion internationaux ont été constitués afin de pallier à ce manque et de comparer les différents modèles utilisés. Les programmes BIOMOVs (*BIOsphere MOdel Validation Study*) (Barry et al., 1999), VAMP (*Validation of Model Predictions*), BIOMASS (*BIOsphere Modeling and ASSESSment*) (Golubev et al., 2002b; IAEA, 2003) et EMRAS (*Environmental Modeling for Radiation Safety*) (Davis et al., 2005a; IAEA, 2007a; Galeriu et al.,

2008) en sont des exemples, qui ont permis d'aboutir à un certain nombre de conclusions sur les points forts et les limites des modèles existants.

D'une manière globale, il apparaît que les modèles traduisent assez fidèlement les transferts du tritium au sein des végétaux. Cependant, les incertitudes associées aux modèles demeurent importantes (Galeriu et al., 2008). En effet, du fait de la grande complexité des phénomènes impliqués dans le transfert, l'absorption et l'incorporation organique du tritium au sein des plantes, les modèles ne peuvent être basés uniquement sur des hypothèses théoriques et doivent au contraire recourir autant que possible à des relations empiriques. Le manque de données expérimentales pose de ce fait problème. En outre, les rares données expérimentales disponibles sont très spécifiques des espèces végétales et des conditions environnementales étudiées. La généralisation des résultats obtenus pour une expérience particulière à d'autres cas demeure hasardeuse.

D'autre part, les modèles sont meilleurs pour des situations d'équilibre que pour des conditions dynamiques. Le rapport final du groupe « Tritium et Carbone 14 » du programme EMRAS mentionne ainsi une incertitude d'un facteur 2 au mieux pour les modèles appliqués à des conditions d'équilibre et d'un facteur 5 pour des conditions dynamiques. L'explication de ces chiffres réside dans le fait que les variations instantanées des facteurs environnementaux et des activités du tritium dans les différents compartiments considérés sont lissées sur une longue période dans le cas d'une exposition chronique. Au contraire, ces variations ont un impact plus important lorsque le pas de temps considéré est plus petit (cas d'une exposition de courte durée).

La comparaison de l'efficacité des modèles pour différents types de scénario dans le cadre de groupes de travail a mis en évidence de grandes disparités (Barry et al., 1999; Galeriu et al., 2008). Les causes de ces différences sont difficiles à identifier car les modèles sont basés sur des approches et des paramètres très divers. Dans ce contexte, le développement d'un modèle de référence dédié aux situations dynamiques (cas des situations d'urgence) devrait être l'un des principaux objectifs des programmes internationaux à venir (Galeriu et al., 2008).

5 INVESTIGATIONS FUTURES

5.1 INTEGRATION DU TRITIUM ORGANIQUE

5.1.1 CAS DES EXPOSITIONS CHRONIQUES

Si un certain nombre d'études ont été menées concernant l'impact d'exposition au tritium de courte durée sur les végétaux, peu de données expérimentales sont disponibles en ce qui concerne les expositions chroniques. Ce manque de données limite la validation des modèles, en particulier pour les plantes se développant en milieu naturel où un très grand nombre de paramètres sont à prendre en compte. En outre, du fait de la difficulté de maintenir une exposition au tritium de niveau constant sur le long terme, la plupart des études portant sur les expositions chroniques ont été réalisées sur des périodes relativement courtes allant de quelques jours à quelques semaines (Garland and Ameen, 1979; Amano and Garten, 1991; Amano et al., 1995). Les exceptions concernent le suivi environnemental autour des installations nucléaires, pour lesquelles l'historique des mesures du tritium dans certains végétaux est disponible sur plusieurs années. Cependant, toutes les données requises pour les modèles ne sont pas systématiquement relevées dans le cadre de ces contrôles. Par exemple, de nombreuses études ont porté sur la mesure du tritium organique dans les cernes d'arbres à proximité d'installations rejetant du tritium (Yamada et al., 1989a; Kozak et al., 1993; Fuma and Inoue, 1995; Kalin et al., 1995; Yamada et al., 2004a; Vichot et al., 2008b). Les résultats de ces mesures sont en cohérence avec les niveaux de rejets annoncés par les exploitants. Néanmoins, ce type d'étude ne permet pas de comprendre réellement les mécanismes d'incorporation du tritium sous forme organique dans les végétaux en cas d'exposition de longue durée, ni de déduire un impact dosimétrique.

5.1.2 MECANISMES BIOLOGIQUES LIES A L'INTEGRATION DU TRITIUM ORGANIQUE

Les aspects biologiques de l'absorption et de l'incorporation du tritium dans les plantes ne sont pas à l'heure actuelle parfaitement compris. Si les aspects qualitatifs et quantitatifs sont bien connus au niveau des réactions enzymatiques, ce n'est pas le cas en revanche à l'échelle du métabolisme de la plante entière. En effet, les voies métaboliques sont bien décrites mais les bilans de matière associés ne le sont pas, notamment en raison des effets difficilement prédictibles de la discrimination isotopique. L'importance relative des différents phénomènes n'est pas bien chiffrée et les données physiologiques nécessaires pour quantifier précisément chaque processus biologique sont manquantes.

Ces données seraient particulièrement intéressantes pour l'amélioration des modèles prédictifs de l'activité tritium dans les végétaux suite à une exposition au tritium. En effet, la pertinence de ces modèles est liée à l'estimation de paramètres dépendant directement ou indirectement de facteurs biologiques, tel que le taux d'incorporation du tritium dans la fraction organique à partir du tritium libre de l'eau tissulaire. Ce taux est en général considéré comme constant tout au long de la vie des plantes. Cependant, des études récentes ont prouvé de grandes différences dans les quantités d'OBT formé en fonction du stade de développement du végétal (Atarashi-Andoh et al., 2002; Choi et al., 2005; Keum et al., 2006). L'évolution quantitative du taux d'incorporation du tritium libre en tritium organique tout au long de la

croissance des végétaux doit à présent être étudiée afin d'améliorer les modèles, notamment ceux dédiés à l'impact dosimétrique de produits agroalimentaires.

D'une manière générale, les données expérimentales concernant l'absorption et l'incorporation organique du tritium font défaut, notamment pour les conditions nocturnes ou pour des conditions météorologiques pluvieuses. La translocation des molécules organiques marquées au tritium et le taux d'élimination de l'OBT après la fin de l'exposition sont également encore mal comprises (Galeriu et al., 2008).

5.2 IMPACT RADIOLOGIQUE DES FAIBLES DOSES

Les faibles doses de **rayonnements ionisants** correspondent à des irradiations pour lesquelles aucun effet néfaste sur la santé n'est observé. On parle de « faibles doses » pour des expositions inférieures ou égales à des doses de l'ordre de 100 à 200 mSv. Ces niveaux correspondent à la plupart des expositions : en dehors de la radiothérapie ou d'applications médicales spécifiques, les irradiations (naturelles ou artificielles) délivrent des faibles doses. Pour le public (personnes n'étant pas exposées à une irradiation professionnelle), l'irradiation naturelle est la principale source d'exposition, de l'ordre de 2 à 2,5 mSv par an en France. L'exposition du public vivant à proximité des installations nucléaires se situe au niveau du micro-Sievert en ordre de grandeur. A ces faibles niveaux de dose, aucun effet sur la santé n'est décelé par l'épidémiologie, cependant, l'absence d'effets décelables ne peut exclure l'existence d'un risque. Le risque est lié à la probabilité d'apparition de mutations radio-induites pouvant conduire, après de nombreuses altérations supplémentaires, à des **effets stochastiques**, en particulier des cancers. La difficulté d'identifier l'existence ou non d'un risque pour les expositions aux faibles doses tient notamment (CARMIN, 2008b):

- au délai de plusieurs années ou même dizaines d'années entre l'irradiation et la maladie cancéreuse, délai pendant lequel de nombreux facteurs de l'environnement sont susceptibles également d'introduire des altérations dans le fonctionnement et l'**ADN** cellulaire,
- à l'absence de spécificité des cancers radio-induits,
- à la grande fréquence des cancers survenant spontanément.

Le tritium est l'un des **radionucléides** rejetés par l'homme dans l'environnement dont l'activité est la plus importante ; la question des faibles doses engendrées par le tritium est donc incontournable. A l'heure actuelle, les données expérimentales actuelles concernant les expositions chroniques au tritium à faible dose cumulée et à faible débit de dose ne sont pas suffisamment étayées. En effet, la plupart des études épidémiologiques portant sur les effets du tritium ont été réalisées sur des animaux de laboratoire à des doses et débits de dose beaucoup plus élevés que les expositions professionnelles, et plus encore que les expositions reçues par le public (Belot et al., 1996). Les résultats obtenus pour des doses élevées chez l'animal ne sont pas toujours extrapolables aux faibles doses chez l'Homme.

5.3 STANDARDS EN MATIERE DE MESURE ET MATERIEL BIOLOGIQUE DE REFERENCE

5.3.1 NECESSITE D'UNIFORMISER LES TECHNIQUES

Différentes méthodes et techniques analytiques ont été développées pour mesurer le tritium dans les échantillons environnementaux. Des normes ont été établies concernant les mesures dans l'air ou les eaux (AFNOR, 1999a, 2000; ISO, 1989). En revanche, il n'y a pas à

l'heure actuelle de méthodologie normalisée pour la mesure des différentes fractions du tritium au sein des organismes biologiques. La mesure du tritium organique, sous forme échangeable ou non, reste le point le plus problématique. En effet, les spécialistes de la radioécologie du tritium sont divisés sur les définitions même de ces deux fractions, et par voie de conséquence, sur la méthodologie à suivre pour les mesurer (Baumgartner and Donhaerl, 2004; IAEA, 2007b). Ceci explique en grande partie la disparité des résultats obtenus par différents laboratoires dans le cadre d'exercices d'intercomparaison (Workman et al., 2005).

5.3.2 ABSENCE DE MATERIEL BIOLOGIQUE DE REFERENCE

Outre l'absence de méthodologie validée de mesure, il n'existe pas actuellement de matériel biologique de référence pour la mesure du tritium organique, échangeable ou non-échangeable. Jusqu'à présent, seule la thymidine tritiée a été proposée comme molécule « standard » (Harms and Jerome, 2004). Cette molécule permet en effet la calibration des systèmes de mesure du tritium organique. Cependant, elle n'est pas représentative, seule, de la complexité des phénomènes biologiques mis en jeu dans un organisme biologique. De ce fait, elle ne peut pas constituer une référence biologique pour les modèles dosimétriques. La caractérisation d'un organisme entier comme matériel biologique de référence semble donc nécessaire, en particulier pour l'évaluation des niveaux de tritium environnementaux. Le choix d'un végétal de consommation humaine semblerait d'autre part judicieux en termes d'impact dosimétrique.

DEMARCHE EXPERIMENTALE



CHAPITRE I :

MISE EN PLACE DU SYSTEME D'ETUDE ET DEFINITION DES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Introduction	103
1 Choix du matériel biologique et de son milieu de culture	104
1.1 <i>Matériel biologique</i>	104
1.1.1 Choix de l'espèce étudiée	104
1.1.2 Caractéristiques biologiques de l'espèce étudiée	104
1.1.3 Choix de la variété étudiée	105
1.2 <i>Choix du substrat de culture</i>	106
1.3 <i>Protocole de culture de la laitue (Lactuca sativa L.) de variété Feuille de Chêne blonde</i>	108
1.3.1 Germination des graines	108
1.3.2 Semis des graines germées et repiquage des plantules	108
1.3.3 Arrosage	109
2 Conception et réalisation d'une chambre climatique de culture	110
2.1 <i>Objectif</i>	110
2.2 <i>Etablissement du cahier des charges</i>	110
2.2.1 En fonction des besoins physiologiques de la laitue	110
2.2.2 En fonction des besoins de l'expérience	110
2.2.3 Schéma de principe de la chambre climatique	111
2.3 <i>Réalisation pratique de la chambre climatique</i>	111
2.3.1 Description du système	111
2.3.2 Fonctionnement de la chambre climatique	112
2.4 <i>Expériences préliminaires de validation et de caractérisation de la chambre climatique</i>	113
2.4.1 Efficacité de régulation de la chambre climatique	113
2.4.2 Cartographie de l'éclairement dans la chambre climatique	117
3 Protocole des études cinétiques	118
3.1 <i>Principe</i>	118
3.2 <i>Mode opératoire</i>	118
3.3 <i>Plan d'expériences</i>	119
3.3.1 Paramètres étudiés	119
3.3.1.1 Stade de développement des plants	119
3.3.1.2 Conditions d'éclairement	120
3.3.2 Paramètres mesurés ou contrôlés	120
3.3.2.1 Conditions climatiques	120
3.3.2.2 Mesures des activités du tritium atmosphérique	121

4	Protocole des expériences d'exposition à long-terme	123
4.1	<i>Principe</i>	123
4.2	<i>Mode opératoire</i>	123
4.3	<i>Plan d'expériences</i>	125
4.3.1	Paramètres étudiés	125
4.3.1.1	Stade de développement et activité biologique des plants	125
4.3.1.2	Dépôt du tritium au sol	125
4.3.2	Paramètres mesurés ou contrôlés	126
4.3.2.1	Conditions climatiques	126
4.3.2.1.1	Expositions en conditions contrôlées	126
4.3.2.1.2	Expositions en conditions réelles	126
4.3.2.2	Activité du tritium atmosphérique	127
4.3.2.2.1	Expositions en conditions contrôlées	128
4.3.2.2.2	Expositions en conditions réelles	128
4.3.2.2.3	Importance relative des formes HT et HTO	129
	Conclusions	130

INTRODUCTION

Les transferts du tritium entre les différents compartiments environnementaux, notamment les végétaux, sont le résultat d'un grand nombre de mécanismes physiques, chimiques ou biologiques qu'il est difficile d'appréhender dans des conditions climatiques réelles, par nature très variables. En outre, l'importance relative de ces processus varie d'une espèce végétale à l'autre, et même d'un individu à l'autre, en fonction des conditions environnementales auxquelles ils sont soumis. Face à cette réalité très complexe, il était impératif de définir dans un premier temps un système d'étude aux caractéristiques stables et contrôlées, permettant d'obtenir des résultats simples et transposables par la suite à d'autres situations plus réalistes.

Ce chapitre a pour premier objectif de définir et de caractériser le système d'étude ayant servi de base aux expérimentations dans le cadre de notre travail. Le système d'étude correspond à l'ensemble des choix et des paramètres qui ont permis l'étude des transferts et de l'assimilation du tritium dans des conditions contrôlées. Il associe un matériel biologique fixé, un milieu de culture caractérisé et des conditions climatiques régulées grâce à une chambre de culture.

Le deuxième objectif de ce chapitre est de définir les protocoles expérimentaux qui ont été appliqués au système d'étude ou à des conditions réelles. De façon à étudier l'absorption et l'intégration du tritium dans le végétal-cible en cas d'exposition à court ou long terme, deux protocoles mettant en jeu des échelles de temps différentes ont été considérés.

1 CHOIX DU MATERIEL BIOLOGIQUE ET DE SON MILIEU DE CULTURE

1.1 MATERIEL BIOLOGIQUE

1.1.1 CHOIX DE L'ESPECE ETUDIEE

Dans le but de comprendre les transferts de tritium jusqu'à des végétaux participant à l'alimentation humaine, le choix du matériel biologique utilisé pour cette étude s'est porté sur un végétal de consommation courante dans les régions tempérées. La laitue (*Lactuca sativa* L.), deuxième légume le plus consommé en France après la tomate (Thicoïpé, 1997), a été retenue comme végétal cible en raison :

- de sa présence dans presque tous les milieux tempérés de la planète,
- de sa croissance rapide,
- de sa physiologie relativement simple de « légume-feuille », facilitant l'étude du transfert du tritium par voie foliaire et par voie racinaire.

En outre, la laitue est un végétal couramment utilisé pour les études expérimentales des transferts du tritium aux plantes (McFarlane, 1978; Strack et al., 1991; Brudenell et al., 1997; Davis et al., 2002; Keum et al., 2006; Vichot et al., 2008b) et comme référent en **écotoxicologie** (AFNOR, 2005, 2006). La laitue présente donc un intérêt particulier dans la perspective d'établir un matériel biologique de référence pour la mesure du tritium dans les végétaux.

1.1.2 CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DE L'ESPECE ETUDIEE

Les laitues cultivées sont des plantes **diploïdes, herbacées, annuelles, en C3**, appartenant à la famille des **Astéracées**. Bien que leur composition (cf. Tableau 10) varie légèrement d'une variété à l'autre, l'eau demeure toujours leur constituant essentiel (Thicoïpé, 1997).

Le cycle de développement complet de la laitue, du semis de la graine à la récolte des nouvelles graines, comprend différents stades physiologiques. Les étapes principales du développement sont la germination, la levée (déploiement des **cotylédons**), la croissance de la plante, la pomaison, la **montaison** et la floraison. Dans la nature les plantes montent au printemps, fleurissent au début de l'été et se ressèment. La durée de ce cycle est extrêmement variable, allant de 45 jours l'été à 6 mois l'hiver (Thicoïpé, 1997). Dans la présente étude, le cycle a été arrêté à la pomaison conformément aux pratiques culturales et alimentaires.

Dosage de la matière fraîche (pourcentage massique)			
Constituants	Quantités moyennes	Variations	Observations
Eau	95,00	93,00-96,00	-
Protéines	1,25	0,80-1,63	-
Lipides	0,22	0,17-0,25	-
Sucres	0,92	-	Glucose : 0,36 Fructose : 0,47 Sucrose : 0,09
Fibres	1,52	-	Celluloses et Hémi-celluloses (Solubles : 0,15 / Insolubles : 1,37)
Minéraux	0,72	0,34-1,04	-

Tableau 10 : Constituants alimentaires de la laitue (en g, pour 100g).

1.1.3 CHOIX DE LA VARIÉTÉ ETUDIÉE

La laitue est une plante **autogame** (les graines proviennent d'autofécondation); par conséquent les variétés sont génétiquement homogènes. Néanmoins, les graines vendues au grand public sont généralement des mélanges de lots aux patrimoines génétiques différents. Afin de s'affranchir de telles variations, il a été choisi de travailler avec des semences « professionnelles », utilisées par les cultivateurs, et de disposer ainsi de véritables clones en quantités suffisantes pour toute la durée de l'étude. En outre, ce type de graines présente une résistance plus importante aux pathogènes que les graines de jardinerie.

Une variété fixée de laitue « feuille de chêne blonde » assez rustique (variété « *kitare* », année 2006) a été spécifiquement retenue comme représentative des cultures présentes dans le nord de la Côte-d'Or. Les graines ont été fournies par la société Rijk Zwaan, avec l'assurance d'un patrimoine génétique identique pour chacune.

La proportion en masse d'atomes de carbone, hydrogène, oxygène et azote (C, H, O, N) a été déterminée sur des échantillons secs représentatifs des différents stades de développement du végétal d'étude. Les résultats de ces analyses élémentaires effectuées par le Service Central d'Analyses du CNRS (Solaize, France) sont donnés dans le Tableau 11.

Dosage élémentaire de la masse sèche (pourcentage massique)								
Elément	Plant jeune	Plant mature	Plant en prémontaison				Moyenne	Ecart-type
	Moyenne (8 feuilles)	Moyenne (15 feuilles)	Feuille 1	Feuille 6	Feuille 11	Feuille 16		
C	35,8	37,5	40,0	39,3	37,5	38,4	38,1	1,5
H	5,0	5,3	6,1	5,9	5,4	5,3	5,5	0,4
N	2,8	1,8	4,6	3,1	2,3	2,4	2,8	1,0
O	34,5	38,3	39,2	44,9	35,8	36,5	38,2	3,7

Tableau 11 : Proportion en masse d'atomes de carbone, hydrogène, oxygène et azote (C, H, O, N) dans la masse sèche de laitues des différents lots (jeunes, matures, en prémontaison) utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium en fonction du temps. Les feuilles sont numérotées à partir de la dernière formée (feuille 1).

1.2 CHOIX DU SUBSTRAT DE CULTURE

Afin d'accéder à une variation minimale des paramètres autres que ceux dont on cherche à déterminer l'influence, un sol limoneux issu de la ferme expérimentale de la Bouzule (Champenoux, Meurthe-et-Moselle, France) a été retenu pour la culture des laitues sur la base de trois critères principaux : ses propriétés stables et caractérisées, sa capacité à répondre aux besoins biologiques de la plante et sa disponibilité en quantité tout au long de l'étude.

Le sol a été prélevé dans la couche supérieure (50 premiers centimètres) d'une parcelle de la ferme expérimentale de la Bouzule. Les caractéristiques granulométriques et agronomiques de ce **sol brun** lessivé à **pseudogley**, de texture limoneuse, sont regroupées dans les Tableau 12 et Tableau 13. Les mesures présentées dans ces tableaux ont été effectuées par l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA, Nancy), le Laboratoire d'Analyses des Sols de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, Arras) et le Service Central d'Analyses du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, Solaize). La comparaison de ces différentes caractérisations aux analyses effectuées dans le cadre d'études agronomiques citées dans la littérature (Jacquin and Florentin, 1988; Novak et al., 2001; Boivin et al., 2005) montre que les qualités physiques et chimiques de la terre restent globalement constantes au cours du temps. Une caractérisation élémentaire a également été réalisée par le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) afin de s'assurer de l'absence de polluants minéraux ou organiques majeurs. Par ailleurs, des expériences préliminaires réalisées au laboratoire ont permis d'évaluer la capacité au champ de la terre de culture à environ 250 g d'eau pour 1 kg de terre (soit 25%).

Granulométrie %						
Prof. ^a (cm)	pH	Argiles (< 2µm)	Limons fins (2 - 20 µm)	Limons grossiers (20 - 50 µm)	Sables fins (50 - 200 µm)	Sables grossiers (200 - 2000 µm)
Données ENSAIA (école d'agronomie, propriétaire du site)						
0 - 25	6,6	26,0	35,2	16,8	5,7	16,2
25 - 40	6,5	31,2	33,4	18,7	4,8	11,8
40 - 60	6,6	37,2	37,4	11,4	4,4	9,6
Données INRA (Laboratoire d'Analyses des Sols, Arras)						
0 - 50	6,7	31,3	32,6	20,5	5,4	10,2
Données de la littérature (Boivin et al., 2005)						
0 - 15	5,9	31,0	50,0	-	19,0	-

^a Profondeur du prélèvement (cm)

Tableau 12 : Caractéristiques granulométriques de la terre utilisée pour les cultures de laitues (sol brun lessivé à pseudogley).

Analyses agronomiques								
Prof. ^a (cm)	m.o. ^b (%)	C total ^c (%)	C total soluble (mg kg ⁻¹)	C orga. ^d soluble (mg kg ⁻¹)	N total ^e (%)	NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	C/N ^f
Données ENSAIA (école d'agronomie, propriétaire du site)								
0 - 25	0,26	1,50	-	-	0,18	-	-	8
25 - 40	0,16	0,95	-	-	-	-	-	-
Données INRA (Laboratoire d'Analyses des Sols, Arras)								
0 - 50	-	1,67	221	205	0,16	6,46	< 0,5	10
Données CNRS (Service Central d'Analyses, Solaize)								
0 - 50	-	1,47 - 1,55	-	-	< 0,10	-	-	-
Données de la littérature (Boivin et al., 2005)								
0 - 15	0,25	-	-	-	-	-	-	9

^a profondeur du prélèvement (cm)

^b matière organique (%)

^c carbone total (%)

^d carbone organique (mg kg⁻¹)

^e azote total (%)

^f ratio carbone / azote

Tableau 13 : Caractéristiques agronomiques de la terre utilisée pour les cultures de laitues (sol brun lessivé à pseudogley).

D'un point de vue physico-chimique, le substrat de culture devait idéalement répondre aux critères détaillés dans le Tableau 14 pour un développement optimal de la laitue (Thicoïpé, 1997). Les différentes caractérisations réalisées ont montré que le substrat choisi répond globalement à ces critères, à l'exception de teneurs relativement faibles en azote. Néanmoins, dans la mesure où l'impact d'un apport d'éléments nutritifs azotés sur l'incorporation du tritium dans les végétaux n'est pas connu, il a été décidé de réaliser les cultures expérimentales en conservant les caractéristiques naturelles du sol de la Bouzule.

D'autre part, en raison de l'ambiance faiblement tritiée sur le site de Valduc, le stockage du sol nécessaire aux cultures sur de longues périodes peut conduire à la contamination du substrat. C'est pourquoi la possibilité d'un approvisionnement régulier au fil de l'étude, en quantités nécessaires et suffisantes pour les besoins expérimentaux à court terme, a confirmé le choix du sol de la Bouzule.

Paramètre	Valeur optimale	Sol de la Bouzule
pH	Idéal : 6,8. Ne doit pas être inférieur à 5,5.	moyenne : 6,6
Azote	$\text{NO}_3/\text{NH}_4 > 4$	$\text{NO}_3/\text{NH}_4 > 12,9$
Phosphore	$50 < \text{P}_2\text{O}_5 < 100 \text{ mg L}^{-1}$	$\text{P}_2\text{O}_5 \sim 130 \text{ mg L}^{-1}$
Magnésie	$5 < \text{K}_2\text{O}/\text{MgO} < 6$	$\text{K}_2\text{O}/\text{MgO} \sim 3$
Potasse	$1 \leq \text{NO}_3/\text{MgO}$	$1 < \text{NO}_3/\text{MgO}$
Chlorures	$\text{Cl}^- < 100 \text{ mg L}^{-1}$	$\text{Cl}^- \sim 6 \text{ mg L}^{-1}$
Matière organique	<3%	2,5%

Tableau 14 : Caractéristiques physico-chimiques du substrat de culture idéales pour la laitue, et du sol brun lessivé à pseudogley choisi pour les cultures (Thicoïpé, 1997).

1.3 PROTOCOLE DE CULTURE DE LA LAITUE (*LACTUCA SATIVA* L.) DE VARIÉTÉ FEUILLE DE CHÈNE BLONDE

1.3.1 GERMINATION DES GRAINES

Afin de lever la dormance des graines, celles-ci ont été déposées sur un papier filtre humide, et placées au froid (4°C) et à l'obscurité durant 24h (Thicoïpé, 1997). Les graines ont ensuite été transférées à 20°C à la lumière de manière à amorcer la germination. Cette méthode permet à la fois d'éliminer immédiatement les graines qui ne germent pas et de disposer par la suite de lots de laitues ayant toutes germé le même jour.

1.3.2 SEMIS DES GRAINES GERMEES ET REPIQUAGE DES PLANTULES

Malgré un assez bon pouvoir de rétention de l'eau, le sol utilisé est sujet à rétraction au dessèchement (formation d'une couche de **battance**), ce qui n'est pas recommandé pour la

culture de laitues. De plus, ce substrat est moins aéré que ne le serait un terreau, traditionnellement utilisé dans ce type de culture, et peut avoir tendance à se tasser avec le temps. Afin de minimiser ces phénomènes, la terre a été tamisée et l'hygrométrie du sol a été maintenue à 80% de la capacité au champ durant toute la durée des cultures.

Les graines germées ont été très rapidement semées dans des petits pots (hauteur : 7 cm, longueur et largeur : 5 cm) remplis de terre tamisée à 5 mm. Aucun traitement phytosanitaire n'a été utilisé. Lorsque les plantules présentaient quatre feuilles développées (supérieures à 1 cm), elles ont été repiquées dans des pots en plastique (hauteur : 15 cm, diamètre bas : 14 cm, diamètre haut : 18 cm) contenant 2,5 kg (environ 2 L) de terre de culture (Thicoïpé, 1997). Des agrégats de terre assez grossiers (1 à 5 cm de diamètre) ont été placés au fond des pots, sur une hauteur de 5 cm environ, de façon à aérer la terre. Le reste des pots a été rempli de terre tamisée à 5 mm jusqu'à 2 cm du bord haut du pot. Trois à quatre plants ont initialement été repiqués dans chaque pot. Au fil de la croissance des laitues, les plants présentant un développement anormal (maladie, attaque de nuisibles) ont été arrachés de manière à conserver un lot de plantes représentatif et homogène. Des plants ont été prélevés et pesés régulièrement afin de suivre l'évolution de leur biomasse au fil de la croissance. Finalement, une à deux plantes a atteint la maturité dans chaque pot.

Pour certaines expériences particulières, des jardinières en plastique (hauteur : 15 cm, largeur : 15 cm, longueur : 50 cm) ont été utilisées. Dans cette configuration, un espace minimum de 5 cm a été laissé entre deux plantules au moment du repiquage. La procédure d'élimination et de prélèvement régulier des plants a ensuite été suivie de la même façon que pour les pots, ce qui a permis d'aboutir à un nombre d'environ cinq plantes par bac à maturité.

1.3.3 ARROSAGE

Quel que soit le type d'expérience, les laitues ont été protégées des précipitations. L'arrosage des plants a été effectué manuellement et exclusivement à l'eau de Volvic, à très faible teneur en tritium. La composition de cette eau est donnée dans le Tableau 15. La fréquence des arrosages et le volume d'eau apporté ont été déterminés par le maintien d'une hygrométrie à environ 80% de la capacité au champ.

Analyse caractéristique (mg L ⁻¹)			
Calcium	11,5	Sulfates	8,1
Magnésium	8,0	Silice	31,7
Sodium	11,6	Biocarbonate	71,0
Potassium	6,2	Minéralisation totale (résidu sec à 180°C)	130
Chlorure	13,5	pH	7
Nitrates	6,3		

Tableau 15 : Analyse caractéristique de l'eau de Volvic utilisée pour l'arrosage des cultures.

2 CONCEPTION ET REALISATION D'UNE CHAMBRE CLIMATIQUE DE CULTURE

2.1 OBJECTIF

Outre le choix d'un matériel biologique et de son substrat de culture, la définition du système d'étude comprenait le maintien de conditions climatiques stables. A cet effet, une chambre de culture a été réalisée afin de se placer dans des conditions optimales pour le développement du végétal cible tout en répondant aux besoins expérimentaux de l'étude. La conception et la réalisation pratique de cette enceinte ont été assurées par Christophe Mavon (Ingénieur de Recherches au LCPR-AC, UMR CEA E4 de l'Université de Franche-Comté) d'après les spécificités du cahier des charges.

2.2 ETABLISSEMENT DU CAHIER DES CHARGES

2.2.1 EN FONCTION DES BESOINS PHYSIOLOGIQUES DE LA LAITUE

Le cahier des charges établi pour la conception de la chambre de culture a été pensé dans le but de recréer artificiellement des conditions climatiques optimales pour la croissance et le développement de plants de laitues (Thicoïpé, 1997). Ceci impliquait notamment :

- la reproduction d'un **cycle circadien** alternant des périodes d'éclairement et des périodes d'obscurité,
- la reproduction de l'intensité et de la qualité du spectre solaire durant les périodes d'éclairement,
- la régulation en température (environ 23°C pour les périodes de « jour » et 16°C pour les périodes de « nuit » à ± 3 °C),
- le maintien d'une hygrométrie supérieure à 60%.

2.2.2 EN FONCTION DES BESOINS DE L'EXPERIENCE

Pour les besoins de l'étude, il a en outre été imposé :

- que la ventilation du système soit permanente et en prise directe avec l'extérieur afin que les activités en tritium dans l'air de la chambre soit représentatives du milieu dans lequel elle est placée,
- que les paramètres de température, d'hygrométrie et de luminosité soient enregistrés en continu,

- que des aménagements spécifiques (traversées de paroi, prises électriques) soient prévus pour le raccordement aux appareils de mesure utilisés (bulleurs notamment).

De plus, afin de pouvoir placer le dispositif dans un bâtiment présentant des activités significatives en tritium dans l'air, il était impératif que l'enceinte de culture soit :

- mobile et facilement transportable,
- autonome (excepté au niveau électrique).

2.2.3 SCHEMA DE PRINCIPE DE LA CHAMBRE CLIMATIQUE

Pour répondre à toutes ces spécificités, le schéma de principe présenté en Figure 8 a été proposé et validé.

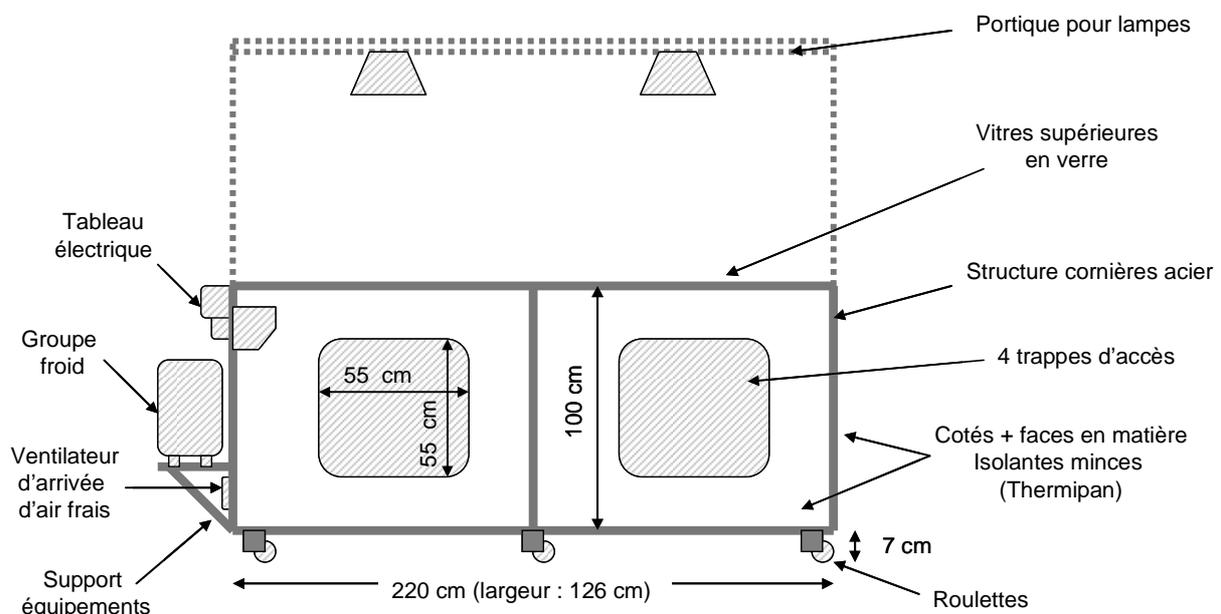


Figure 8 : Schéma de principe de la chambre climatique de culture (réalisation : C.Mavon).

2.3 REALISATION PRATIQUE DE LA CHAMBRE CLIMATIQUE

2.3.1 DESCRIPTION DU SYSTEME

L'enceinte a été dimensionnée de façon à être transportable dans les véhicules du laboratoire. Ses dimensions finales sont les suivantes :

- *Dimensions hors tout* : longueur : 265 cm, largeur : 125 cm, hauteur : 118 cm.
- *Dimensions utiles* : longueur : 205 cm, largeur : 115 cm, hauteur : 95 cm.

La chambre est composée d'une structure acier soutenant un plancher en bois recouvert d'une feuille de polyéthylène. Des panneaux isolants (Thermipan) assemblés par des joints mous constituent les parois verticales. Quatre trappes d'accès latérales (55 cm x 55 cm) et une porte arrière (100 cm x 50 cm) ont permis une manipulation aisée des plantes en croissance et des outils nécessaires à la culture. Un vitrage recouvre l'ensemble de la surface supérieure de l'enceinte (verre « securit », 4 mm trempé). Un portique permet le réglage de la hauteur de fixation des lampes solaires (PowerBall HQI-BT 400W/D, Osram, Munich, Allemagne) au dessus de la chambre. Divers supports sont destinés à l'accueil d'éléments de régulation et de mesure (climatisation, bulleurs). L'ensemble est muni de roulettes de façon à être déplacé aisément. Des clichés de l'enceinte sont donnés en Figure 9.



Figure 9 : Clichés de la chambre climatique de culture.

A gauche, vue de l'extérieur. A droite, cultures en cours à l'intérieur de l'enceinte.

2.3.2 FONCTIONNEMENT DE LA CHAMBRE CLIMATIQUE

En fonctionnement, l'enceinte est fermée de façon à ce qu'un système de climatisation assure le maintien de la température aux niveaux souhaités. L'ensemble n'est cependant pas complètement hermétique : un ventilateur situé sur la face avant et deux événements placés sur la face arrière assurent le renouvellement de l'air au sein du système, et de ce fait, la diffusion du tritium de l'air extérieur.

Des minuteurs permettent de régler la durée des périodes d'éclairage et d'obscurité et de déclencher les lampes, la climatisation et les systèmes de mesure du tritium atmosphérique (bulleurs) au moment souhaité.

Un système d'humidification utilisant une pompe et un réservoir d'eau peuvent être activés manuellement lorsque l'hygrométrie dans la chambre devient inférieure à 60%.

Des sondes de mesure reliées à un appareil de stockage des données (Kistock KH 200, société Kimo, Montpon, France) permettent le suivi en continu des paramètres de température, hygrométrie et intensité lumineuse avec une exactitude respective (écart maximum garanti par le constructeur¹) de $\pm 2\%$, $\pm 3\%$ et $\pm 10\%$ par rapport à la valeur lue.

2.4 EXPERIENCES PRELIMINAIRES DE VALIDATION ET DE CARACTERISATION DE LA CHAMBRE CLIMATIQUE

La validation du fonctionnement de la chambre en lien avec le cahier des charges et la caractérisation de certains éléments étaient nécessaires pour l'exploitation ultérieure des expériences réalisées grâce à ce dispositif. Ceci comprenait notamment la vérification de l'efficacité des dispositifs mis en place pour contrôler les paramètres climatiques (climatisation, ventilation, humidificateur...) et l'établissement d'une cartographie de l'éclairement dans l'enceinte.

2.4.1 EFFICACITE DE REGULATION DE LA CHAMBRE CLIMATIQUE

Des essais réalisés avec une consigne unique ont montré la stabilité du système en température et en hygrométrie sur une durée de plusieurs jours (cf. Figure 10). Ce type de consigne a été appliqué pour des durées de 24 à 48 h lors d'expériences de cinétique (cf. paragraphe 3 et Chapitre III). L'utilisation en continu des lampes sur de telles périodes a parfois entraîné une surchauffe et l'arrêt de l'une d'elles durant quelques minutes, expliquant les brusques chutes de l'intensité lumineuse représentées sur la Figure 11. Ces coupures étaient toutefois négligeables par rapport au temps de fonctionnement total des lampes et de ce fait sans conséquence sur les expérimentations.

¹ Fiche de données techniques Kimo disponible sur :

<http://www.instruments-de-mesure.com/data/enregistreurs/pdf/fr/Classe%20200/FT%20KH%20200.pdf>

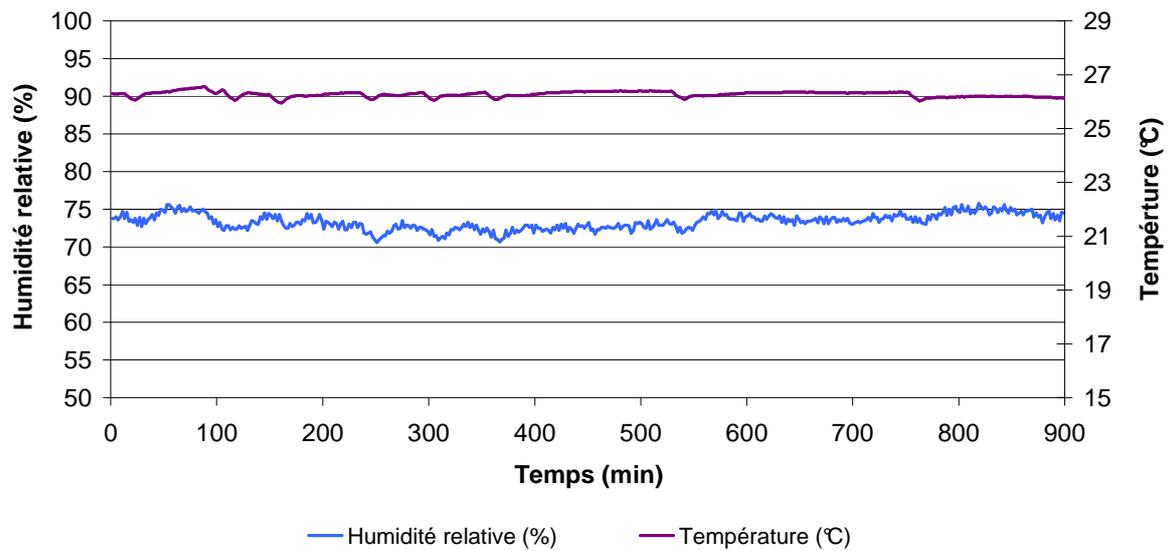


Figure 10 : Régulation de la température (en °C) et de l'hygrométrie (en %) dans la chambre climatique sur une période de 15 h (900 min) pour une consigne unique de 25°C.

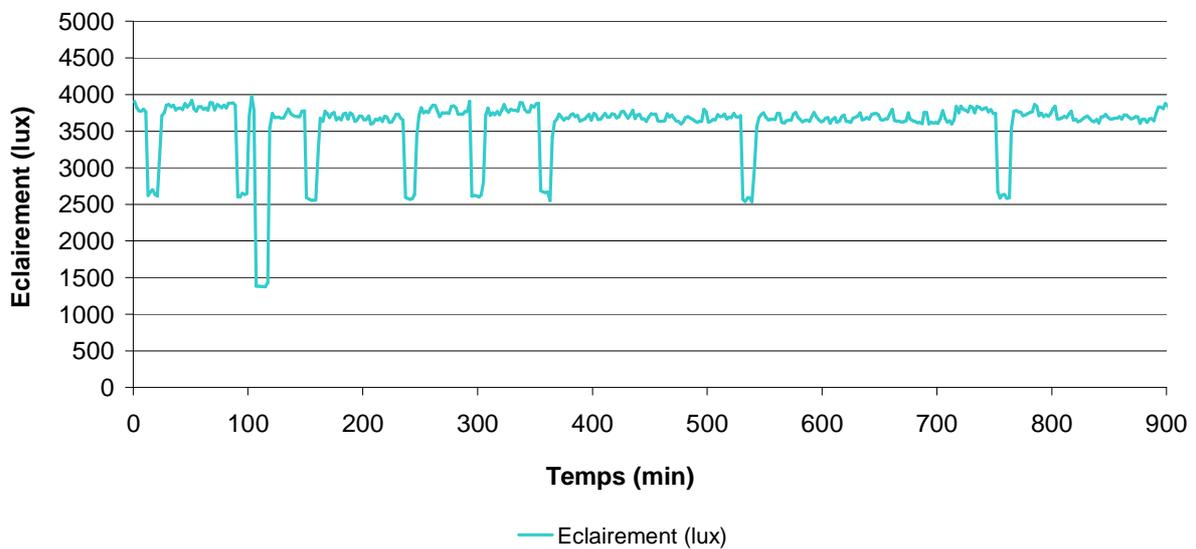


Figure 11 : Eclairage (en lx) dans la chambre climatique sur une période de 15 h (900 min) pour un fonctionnement continu des lampes.

Pour les expériences d'exposition continue se déroulant sur plusieurs semaines, les différents appareils ont du être programmés pour respecter l'alternance de périodes d'éclairage et d'obscurité. A titre d'exemple, les Figure 12 et Figure 13 donnent un aperçu de la régulation en température, hygrométrie et éclairage lumineux dans l'enceinte sur une durée de quelques jours pour une consigne de 23°C le « jour » (15 h / 24) et de 16°C la « nuit » (9 h / 24).

Les mesures associées à ces expériences préliminaires ont notamment permis de valider les points suivants :

- Le déclenchement et l'arrêt des lampes et de la climatisation permettent l'alternance de période de « jour » et de « nuit » artificiels aux horaires souhaités.
- Les valeurs d'éclairage, mesurées en un point donné, sont relativement stables sur la période de « jour ». Les légères variations enregistrées sont liées à l'incertitude de mesure du capteur.
- En raison de l'activité du bâtiment d'accueil, l'éclairage peut ne pas être complètement nul en période nocturne. Néanmoins les très faibles valeurs détectées (~ 50 lx) ne suffisent pas à engendrer une activité photosynthétique des plantes, d'autant que le spectre lumineux délivré par les lampes d'éclairage du bâtiment est peu favorable à la croissance des végétaux.
- Le réglage de la climatisation permet d'obtenir des températures moyennes de $23 \pm 3^\circ\text{C}$ le « jour » et de $16,5 \pm 3^\circ\text{C}$ la « nuit », ce qui est globalement conforme aux exigences définies par le cahier des charges. Ce réglage correspond au fonctionnement de la climatisation en mode froid en période « nocturne » uniquement. Le « jour », les lampes et le chauffage du bâtiment suffisent à maintenir la température au niveau souhaité. De plus, l'augmentation progressive de la chaleur au démarrage des lampes permet d'éviter le stress thermique des plantes qui serait lié à la transition brusque de la climatisation du mode froid au mode chaud.
- L'humidité relative dans l'enceinte de culture varie en moyenne entre 70 et 80%, quelque soit les conditions de température et d'éclairage imposées. Ainsi, malgré l'**évapotranspiration** des plantes et du sol, la vapeur d'eau reste en majeure partie confinée dans l'enceinte. L'arrosage régulier des plants suffit à maintenir l'hygrométrie supérieure à 60%.

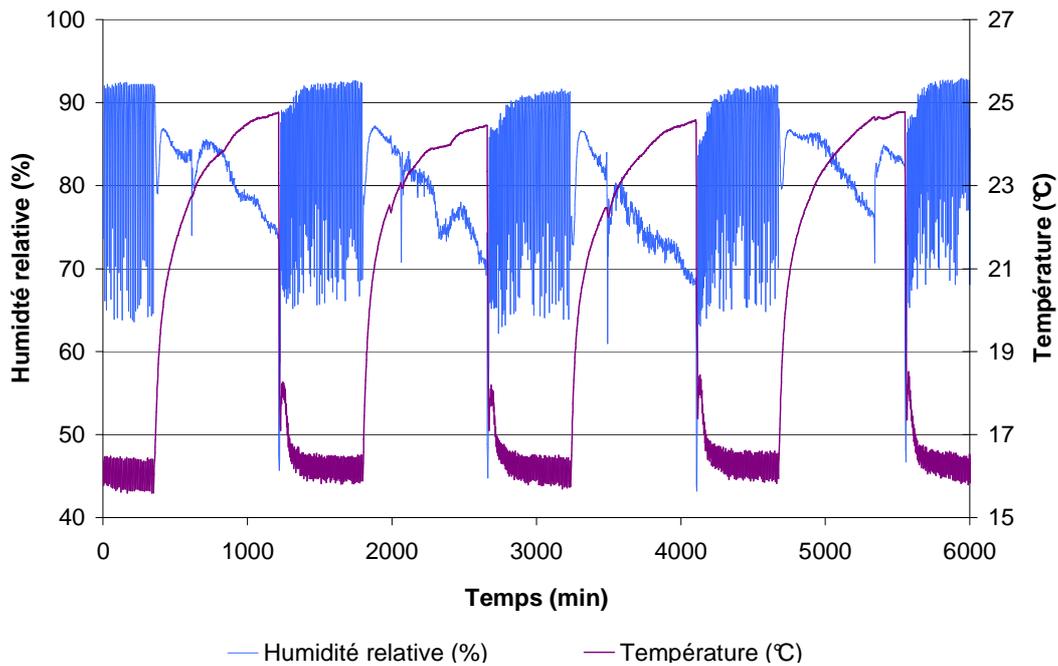


Figure 12 : Régulation de la température (en °C) et de l'hygrométrie (en %) dans la chambre climatique sur une période de 4 jours (6000 min) alternant les phases de jour et de nuit artificiels.

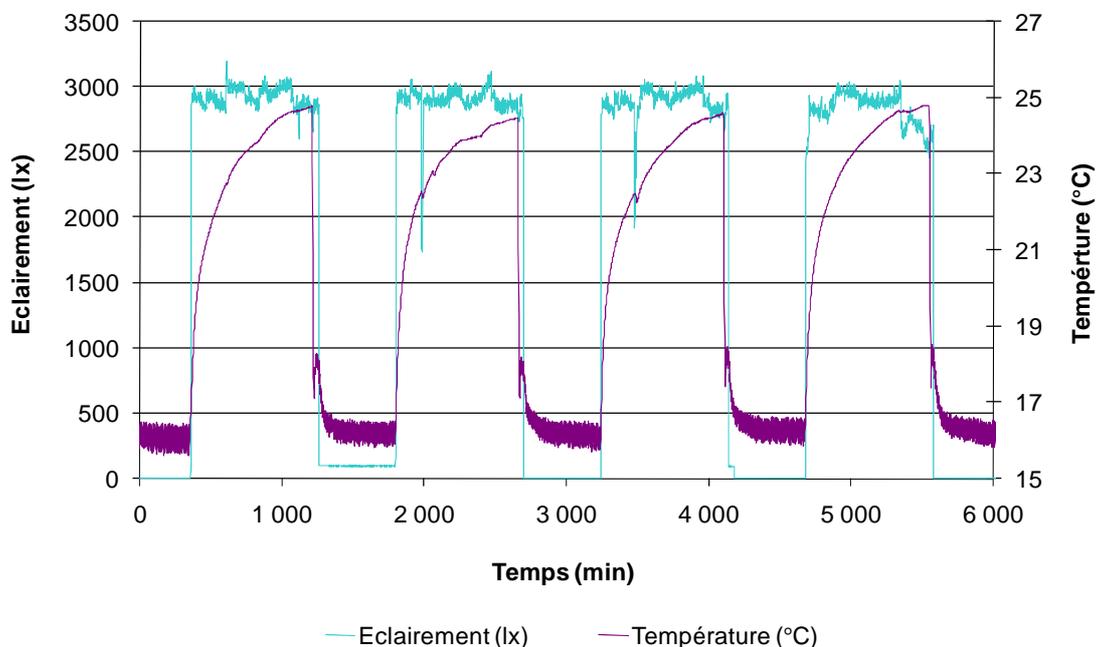


Figure 13 : Régulation de la température (en °C) et de l'éclairage (en lx) dans la chambre climatique sur une période de 4 jours (6000 min) alternant les phases de jour et de nuit artificiels.

2.4.2 CARTOGRAPHIE DE L'ÉCLAIREMENT DANS LA CHAMBRE CLIMATIQUE

Afin de s'assurer de l'homogénéité de l'éclairage reçu par les plantes placées dans l'enceinte de culture, une cartographie de l'intensité lumineuse durant les périodes de fonctionnement des lampes a été réalisée à hauteur de la **canopée** à l'aide de deux appareils. Le premier (LI-1600, LiCor Biosciences®, Lincoln, Nebraska, USA) a permis de mesurer le « PAR » (Photosynthetic Active Radiation, exprimé en μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), lumière incidente véritablement utile à la photosynthèse, entre 400 et 700 nm. Grâce au second (Kistock KH 200, société Kimo, Montpon, France), un équivalent de puissance lumineuse reçue par la surface exposée (exprimée en lux), comptabilisant tout le spectre visible, a été mesuré. Les deux appareils ont ainsi apporté des informations différentes mais complémentaires.

Les mesures préliminaires de l'intensité lumineuse dans l'enceinte ont montré une légère disparité de l'éclairage selon le point considéré, due à la configuration de l'enceinte (barre de maintien fixant les vitres, éléments de régulation présents à l'intérieur...). Les valeurs de l'intensité lumineuse relevées sur 350 points sont comprises entre 400 et 3200 lx, et entre 50 et 100 μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Les valeurs moyennes correspondantes, de 2600 ± 400 lx et de 76 ± 10 μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sont en accord avec les besoins physiologiques du végétal étudié. Afin de s'affranchir des légères différences d'éclairage au sein de la chambre, il a été décidé d'assurer une rotation des pots deux fois par semaine.

Dans la mesure où les deux unités ne mesurent pas exactement la même portion du spectre lumineux, il n'existe pas de conversion simple entre les mesures d'intensité lumineuse en « PAR » et en lux. Néanmoins, en considérant les conditions d'éclairage dans l'enceinte comme stables, il est possible d'établir une relation de conversion entre les deux systèmes d'unités à partir des mesures réalisées pour la cartographie du système. Dans ce but, deux droites définissant un domaine regroupant plus de 90% des points ont été tracées sur la Figure 14.

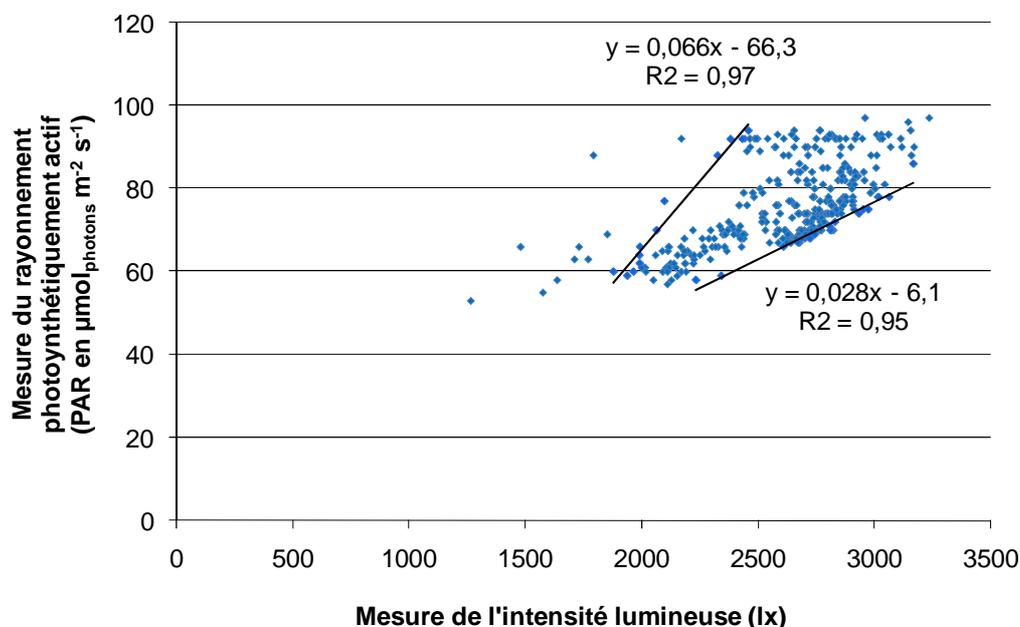


Figure 14 : Correspondance des mesures d'intensité lumineuse en lx et en μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PAR)

3 PROTOCOLE DES ETUDES CINETIQUES

Grâce au système d'étude mis en place, il a été possible d'étudier les phénomènes de transfert du tritium atmosphérique vers les végétaux au cours des premières heures d'exposition jusqu'à l'établissement de l'équilibre au sein du compartiment aqueux, pré-requis à l'étude des mécanismes d'intégration du tritium sous forme organique sur le long terme. Pour cela, un protocole spécifique aux études cinétiques a été défini.

3.1 PRINCIPE

L'objectif des études cinétiques était d'étudier la dynamique des transferts du tritium atmosphérique au sein de l'eau tissulaire de plants de laitues et dans l'eau de leur sol de culture, depuis le début de l'exposition jusqu'à l'état stationnaire, et de déterminer les relations mathématiques qui les régissent. En pratique, il s'agissait de suivre l'évolution au cours du temps, des activités du **radionucléide** sous forme HTO dans le végétal et dans le sol, en fonction des niveaux mesurés dans l'air.

Compte tenu de l'établissement très rapide d'un équilibre des activités en tritium entre l'environnement et les végétaux, l'étude des mécanismes cinétiques devait être conduite dans les premières heures d'exposition. De plus, de façon à pouvoir observer les phénomènes sur des temps aussi courts dans de bonnes conditions analytiques, les plants de laitue devaient être exposés à une atmosphère fortement tritiée. Pour répondre à ces impératifs, l'exposition atmosphérique de plants a été réalisée dans la chambre de culture permettant de se placer dans une ambiance présentant des niveaux de tritium atmosphérique relativement élevés tout en contrôlant les paramètres climatiques (cf. paragraphe 2).

De nombreux paramètres sont susceptibles d'influencer les phénomènes d'absorption du tritium. Cette étude a été ciblée sur les effets de deux paramètres d'influence particuliers : le stade de développement des plants et les conditions d'éclairement.

3.2 MODE OPERATOIRE

Les techniques analytiques mentionnées dans ce paragraphe sont présentées en détails dans le Chapitre II (« Description et qualification des techniques analytiques »).

Les laitues ont été cultivées sous serre, en période estivale, dans un environnement extérieur présentant des teneurs atmosphériques faibles en tritium (de l'ordre de 10 Bq m^{-3} en moyenne). Une fois le stade de développement souhaité pour les expériences atteint (plants jeunes, matures ou en phase de pré-montaison), les plants ont été transférés dans la chambre climatique de culture, elle-même placée au sein d'un bâtiment présentant des activités atmosphériques en tritium plus élevées (de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de Bq m^{-3}). Des plants témoins ont été laissés dans la serre (ambiance faiblement tritiée) afin de mesurer l'activité en tritium dans les laitues avant les expériences cinétiques.

Dans la chambre climatique, les conditions d'éclairement ou d'obscurité ont été maintenues durant toute la durée de l'expérience. Deux systèmes de barbotage (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France) ont assuré le suivi de l'activité volumique du tritium dans

l'atmosphère au cours du temps (cf. Chapitre II). Des échantillons représentatifs de laitues et de leur terre de culture (5 premiers centimètres) ont été prélevés au bout de 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition. Les activités en tritium dans l'eau tissulaire des plants de laitues et dans l'eau du sol de culture ont ensuite été mesurées.

3.3 PLAN D'EXPERIENCES

Le plan d'expérience défini pour trois modalités de stade de développement (jeunes plants, plants matures, plants en prémontaison) et pour deux modalités d'éclairement (lumière, obscurité) a conduit à réaliser six séries d'expériences.

3.3.1 PARAMETRES ETUDIÉS

3.3.1.1 Stade de développement des plants

L'influence du stade de développement des plants et de leur activité biologique sur l'absorption et l'intégration du tritium a été étudiée pour trois modalités : de jeunes pousses, des plants matures et des plants en phase de prémontaison ont ainsi été exposés à une atmosphère tritiée. Le degré de maturité des différents lots de laitues a été déterminé par la courbe de croissance et en fonction d'indicateurs biologiques tels que l'âge, la masse et la surface foliaire. Les périodes de culture et les caractéristiques considérées pour chaque modalité sont données dans le Tableau 16. La Figure 15 présente les valeurs de masse expérimentales et les courbes associées établies d'après le modèle sigmoïdal de croissance (cf. Chapitre II), en fonction du temps, pour les différents lots de plants (Erickson, 1976; Baumgartner and Kim, 1995).

Stade de développement	Période de culture	Age (j)	Nombre de feuilles	Masse fraîche (g) / Masse sèche (g)	Surface foliaire (cm ²)
Jeunes plants	Mi-juillet à fin août	40	~ 8	1,4 / 0,2	25
Plants matures	Fin mai à fin juillet	60	~ 15	18 / 1	500
Plants en phase de prémontaison	Fin avril à début juillet	70	~ 20	30 / 2	1000

Tableau 16 : Période de culture et caractéristiques des différents stades de développement des plants utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium (âge, nombre de feuilles, masse fraîche et sèche, surface foliaire).

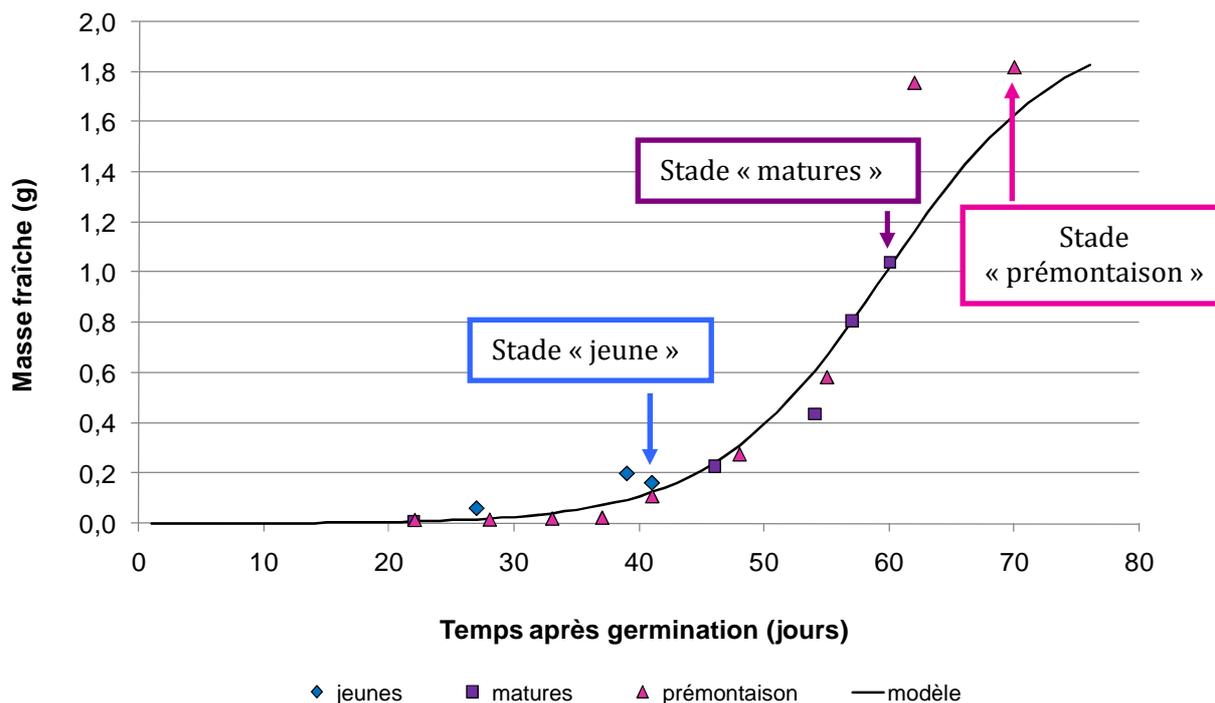


Figure 15 : Variations de la masse fraîche des différents lots de laitues (jeunes, matures, en prémontaison) utilisés dans l'étude cinétique des transferts de tritium en fonction du temps.

3.3.1.2 Conditions d'éclaircissement

L'effet de l'éclaircissement a été étudié suivant deux modalités : éclaircissement équivalent à la lumière du jour ($\sim 75 \mu\text{mol}_{\text{photons}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ soit environ 2500 lx) ou obscurité complète. Les expériences ont été menées pour des périodes de 24 h consécutives suivant l'une ou l'autre de ces modalités. Ces conditions d'éclaircissement ne sont pas représentatives des conditions naturelles mais ont été choisies afin de pouvoir comparer les mécanismes d'absorption et de formation du tritium organique à la lumière et à l'obscurité, et de mieux comprendre les rôles respectifs des différentes phases de la photosynthèse.

3.3.2 PARAMETRES MESURES OU CONTROLES

3.3.2.1 Conditions climatiques

Lors de l'exposition dans la chambre de culture, les paramètres climatiques ont été imposés : la température de consigne était de 23°C et l'humidité relative était maintenue à un niveau supérieur à 60%. Selon l'expérience, les lampes étaient allumées (éclairage) ou éteintes (obscurité).

Le Tableau 17 présente les valeurs moyennes enregistrées grâce à un dispositif numérique (Kistock KH 200, société Kimo, Montpon, France) pour les paramètres : intensité lumineuse mesurée à la surface du sol de culture, température et hygrométrie, durant les différentes expériences réalisées. La chambre climatique a répondu de manière satisfaisante aux consignes : la température ne s'est par exemple pas écartée de plus de 3°C en moyenne de la valeur de consigne. Seule l'intensité lumineuse enregistrée pour l'expérience réalisée en conditions d'éclairage sur des laitues en phase de prémontaison s'est avérée légèrement plus élevée que la valeur attendue, probablement du fait de l'utilisation de lampes neuves. Néanmoins, l'intensité appliquée demeure du même ordre de grandeur que celles enregistrées lors des autres expériences en conditions d'éclairage.

Les valeurs des paramètres climatiques mesurées sous la serre juste avant le transfert vers la chambre climatique sont également données dans le Tableau 17. Les valeurs enregistrées sont proches de celles qui ont été mesurées dans la chambre climatique : le stress imposé aux plantes du fait du changement d'environnement a donc été minime.

Lot de plants	Conditions expérimentales	Mesure d'intensité lumineuse (lx)	Température (°C)	Humidité relative (%)
Jeunes plants	Serre	~ 2500	19,5	73,5
	Eclairage	~ 2400	25,4 ± 0,6	60 ± 3
	Serre	~ 0	17,0	85
	Obscurité	~ 0	21,6 ± 0,3	69 ± 3
Plants matures	Serre	~ 7000	22,0	65,0
	Eclairage	~ 2300	24,6 ± 1,2	58 ± 6
	Serre	~ 0	22,3	42
	Obscurité	~ 0	21,4 ± 0,6	65 ± 3
Plants en phase de prémontaison	Serre	~ 1300	22,3	84,3
	Eclairage	~ 3600	25,9 ± 0,6	75 ± 3
	Serre	~ 0	19,0	86,3
	Obscurité	~ 0	21,3 ± 2,2	69 ± 9

Tableau 17 : Valeurs moyennes des paramètres climatiques (éclairage, température, humidité relative) relevés dans la serre de culture juste avant le transfert de chaque lot de plants (jeunes, matures ou en phase de prémontaison) et dans la chambre climatique lors des expositions en conditions d'éclairage ou d'obscurité. Les mesures d'intensité lumineuse sont réalisées au niveau du sol.

3.3.2.2 Mesures des activités du tritium atmosphérique

Pour chaque expérience, l'activité en tritium atmosphérique a été suivie de façon hebdomadaire durant toute la croissance des laitues en serre (ambiance très faiblement tritiée) afin de quantifier l'apport de tritium aux plants en amont des expériences d'exposition. Durant

cette période, les paramètres climatiques (température, hygrométrie, éclairement) ont été relevés en continu.

Pendant la période d'exposition au tritium dans la chambre climatique, les activités atmosphériques ont été relevées au moment de chaque prélèvement de plants. Un système de barbotage (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France) a pour cela été utilisé selon le protocole spécifique aux mesures sur de courtes périodes (cf. Chapitre II, paragraphe 2.1.1.2). Ce barboteur a permis d'établir les activités HT et HTO dans l'air pour chaque prélèvement de deux façons :

- L'activité « **instantanée** », correspondant à l'activité enregistrée entre deux prélèvements. Cette donnée permet de se rendre compte du niveau de stabilité des teneurs en tritium dans l'air au cours de l'exposition.
- L'activité « **cumulée** », correspondant à l'activité moyenne enregistrée entre le début de l'expérience et l'instant du prélèvement. De ce fait, l'activité moyenne cumulée et l'activité de l'eau tissulaire des plants sont établies sur la même période de temps. Cette période constitue la durée totale d'exposition des laitues à l'instant considéré.

La vitesse de dépôt du tritium gaz (HT) est de l'ordre de 10^{-5} m s⁻¹ selon des études récentes (Koarashi et al., 2001). Compte tenu des activités en tritium gaz (HT) mesurées dans l'air au cours des différentes séries d'expérience (cf. Tableau 18), globalement faibles par rapport à celles mesurées pour la vapeur d'eau tritiée (HTO), l'impact du tritium gaz peut être considéré comme négligeable par rapport à celui de la vapeur d'eau tritiée à l'échelle des expériences se déroulant sur 24 h. Seules les activités de la vapeur d'eau tritiée ont donc été considérées pour l'exploitation des résultats.

Lot de plants	Conditions expérimentales	HTO air cumulée	HT air cumulée
		Bq m ⁻³	Bq m ⁻³
Jeunes plants	Serre	1,6 ± 0,5	0,5 ± 0,4
	Eclairement	59,3 ± 22,1	16,8 ± 7,1
	Obscurité	83,9 ± 33,7	13,0 ± 7,9
Plants matures	Serre	6,8 ± 2,4	3,5 ± 2,3
	Eclairement	57,0 ± 23,0	19,1 ± 13,0
	Obscurité	79,6 ± 31,7	32,0 ± 21,7
Plants en phase de prémontaison	Serre	6,6 ± 1,8	3,7 ± 1,1
	Eclairement	187,6 ± 59,2	26,4 ± 10,2
	Obscurité	123,8 ± 40,6	11,7 ± 4,9

Tableau 18 : Activités atmosphériques moyennes (en Bq m⁻³ d'air) de la vapeur d'eau tritiée (HTO) et du tritium gaz (HT) mesurées dans la serre de culture durant leur croissance (« serre »), et après 24 heures d'exposition durant les différentes expériences réalisées en chambre climatique sur des plants jeunes, matures ou en phase de prémontaison, en conditions d'éclairement ou d'obscurité.

4 PROTOCOLE DES EXPERIENCES D'EXPOSITION A LONG-TERME

Suite à l'étude biocinétique des transferts du tritium de l'air vers le végétal, il s'agissait de comprendre et de quantifier les mécanismes biologiques impliqués dans l'intégration sous forme organique du tritium sur le long terme. Le principe des expériences qui ont été mises en œuvre dans ce but a été le même en conditions climatiques contrôlées et en conditions réelles. Cependant, du fait des contraintes propres à chaque environnement, le mode opératoire a été légèrement adapté pour chaque type d'expériences.

4.1 PRINCIPE

Le premier objectif des expériences d'exposition à long terme était de quantifier les transferts du tritium entre les différents compartiments environnementaux (atmosphère, sol) et le végétal cible, notamment par l'étude des variations des taux de transfert du **radionucléide** depuis l'atmosphère vers ses différentes fractions dans la plante (eau tissulaire et tritium organique), en fonction du stade de développement et des paramètres environnementaux. Pour cela, il s'agissait de suivre l'évolution des activités du tritium dans le végétal et dans le sol exposés à une ambiance atmosphérique tritiée, depuis les premiers stades de développement (**rosette**) et jusqu'à la prémontaison des plants. Deux séries d'expositions de ce type ont été réalisées dans des conditions stables et maîtrisées, grâce à la chambre de culture permettant de fixer les paramètres climatiques. Ces expériences seront notées dans la suite CLIM-1 et CLIM-2. Deux séries d'expériences ont également été menées en extérieur sur le site de Valduc afin d'étudier les transferts du tritium au végétal en conditions réelles. Elles seront désignées par les sigles EXT-1 et EXT-2.

D'autre part, les expériences d'exposition à long terme visaient à comprendre les mécanismes biologiques impliqués dans les transferts et l'intégration du tritium au sein des végétaux cibles. Pour cela, des mesures d'activités ont été réalisées à l'échelle de chaque feuille et mises en relation avec l'activité biologique, via la mesure des échanges gazeux photosynthétiques et de la concentration en **protéines**. Une expérience de ce type a été menée en chambre climatique ; elle sera notée CLIM-3 dans la suite.

4.2 MODE OPERATOIRE

Les protocoles opératoires et les techniques analytiques mentionnés dans ce paragraphe sont détaillés dans le Chapitre II (« Description et qualification des techniques analytiques »).

La germination des graines et les premiers stades de développement des laitues ont été réalisés en laboratoire, dans une ambiance très faiblement tritiée. Lorsque les laitues ont présenté quatre feuilles pleinement développées, les plants ont été repiqués et transférés vers le lieu de l'expérience, sur le site de Valduc : environnement extérieur ou chambre climatique.

Les expériences en extérieur ont été réalisées sous serre, en période estivale. La serre se situait à 360 m sous les vents par rapport à un point de rejet gazeux de tritium (cf. schéma en Figure 16). Les teneurs atmosphériques moyennes en tritium (HT et HTO) mesurées sur le site

étaient faibles (inférieures à 10 Bq m^{-3}). Au contraire, la chambre climatique a été placée au sein d'un bâtiment présentant des activités relativement importantes en tritium atmosphérique (de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de Bq m^{-3}). Des conditions diurnes et nocturnes de période estivale y étaient artificiellement reproduites. En extérieur et dans la chambre climatique, des systèmes de barbotage (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France) ont permis de suivre l'activité volumique du tritium dans l'atmosphère au cours du temps (cf. Chapitre II).

Pour les expériences CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2, des échantillons représentatifs de laitues ont été prélevés de façon hebdomadaire en début de croissance, puis tous les 3 à 4 jours en phase de croissance exponentielle. Dans l'expérience CLIM-3, un seul prélèvement a été réalisé après un mois d'exposition en chambre climatique ; les feuilles de chaque plants ont été dissociées et regroupées en fonction de leur âge. Pour les expériences EXT-1 et EXT-2 des échantillons du sol de culture, représentatifs des pots dans leur ensemble, ont été prélevés. Lors des expériences CLIM-1 et CLIM-2, la partie supérieure du sol (5 premiers centimètres en surface) a été dissociée de la partie inférieure (5 cm du fond des pots). Les différentes fractions du tritium au sein des plants et de leur sol de culture ont ensuite été analysées (tritium « libre » de l'eau tissulaire et tritium organiquement lié).

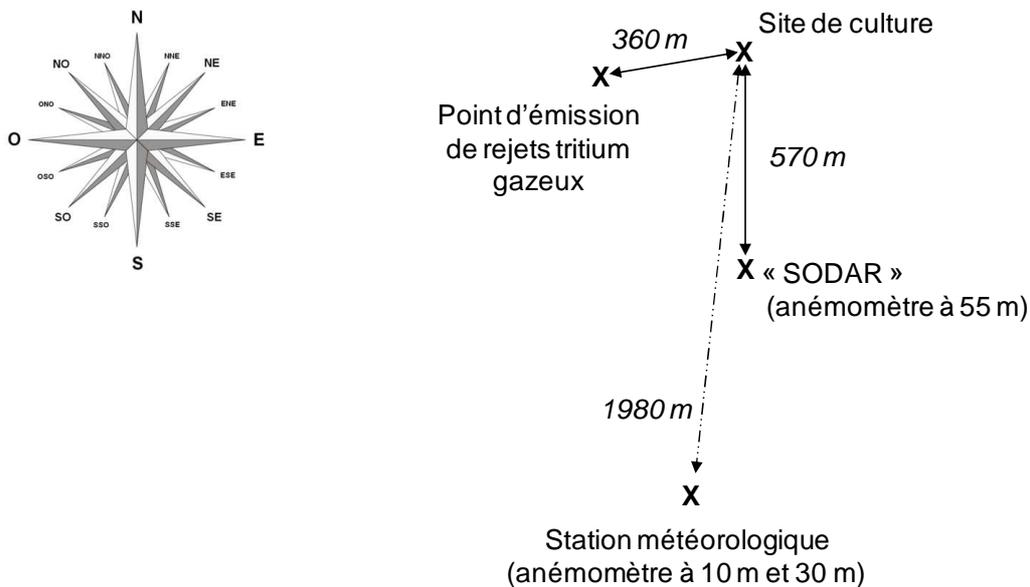


Figure 16 : Carte schématique de l'emplacement des cultures de laitues mises en place pour les expériences d'exposition au tritium atmosphérique à long terme en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2). Le point de rejet atmosphérique du tritium auquel les plants sont exposés et l'emplacement des stations météorologiques sont notamment figurés.

4.3 PLAN D'EXPERIENCES

4.3.1 PARAMETRES ETUDIÉS

4.3.1.1 Stade de développement et activité biologique des plants

L'influence du stade de développement des plants a été étudiée par la réalisation de prélèvements tout au long de la période d'exposition, couvrant les différentes phases de croissance des végétaux jusqu'à leur pré-maturation (expériences CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2). Pour chaque prélèvement, le degré de maturité des plants de laitues a été évalué suivant leur courbe de croissance et en fonction d'indicateurs biologiques tels que l'âge, la masse et la surface foliaire.

L'intensité de l'activité biologique était un autre paramètre d'étude. Pour cela, la concentration en **protéines** totales a été mesurée à l'échelle du plant entier (expériences CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2) ou de la feuille (expérience CLIM-3). Les échanges gazeux représentatifs de la photosynthèse ont été ponctuellement analysés grâce à la console LI-COR 6400 (cf. Chapitre II et Annexe A).

4.3.1.2 Dépôt du tritium au sol

Les niveaux d'activités mesurés dans le sol donnent des indications sur l'importance relative des voies de transfert, foliaire et racinaire, du tritium vers la plante. Pour l'expérience EXT-2, la terre de culture des plants a été recouverte de vinyle afin de limiter le dépôt atmosphérique et la diffusion du tritium dans le sol. Les autres expériences ont été menées sur des pots nus.

Des pots témoins non cultivés ont permis l'étude complémentaire du dépôt et du transfert de tritium dans le sol de culture. L'influence de l'arrosage et d'une couverture par un film vinyle transparent à la surface du sol a notamment été testée. Les paramètres étudiés pour les pots témoins mis en place lors des expériences CLIM-1 et EXT-2, et leurs différentes modalités, sont présentés dans le Tableau 19.

	CLIM-1	EXT-2	
	arrosage	arrosage	couverture vinyle
Témoin 1	oui	oui	oui
Témoin 2	non	oui	non
Témoin 3	-	non	oui
Témoin 4	-	non	non

Tableau 19 : Modalités des paramètres d'étude (arrosage et couverture vinyle) mis en place pour les pots de terre témoins, non cultivés, lors des expériences d'exposition à long terme en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1) ou réelles (EXT-2).

4.3.2 PARAMETRES MESURES OU CONTROLES

4.3.2.1 Conditions climatiques

4.3.2.1.1 Expositions en conditions contrôlées

Pour les expériences en chambre climatique, les différents appareils de régulation de la chambre climatique ont été programmés de façon à recréer artificiellement des conditions climatiques estivales, notamment l'alternance de périodes diurnes et nocturnes (cf. paragraphe 2). Les valeurs des paramètres de température, d'hygrométrie, et d'intensité lumineuse ont été mesurées et enregistrées par un dispositif numérique toutes les 2 minutes (Kistock KH 200, société Kimo, Montpon, France). Les valeurs moyennes correspondantes, pour les deux périodes complètes d'exposition, sont comparées aux consignes imposées dans le Tableau 20. La chambre climatique a globalement répondu de manière satisfaisante aux consignes imposées au cours des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3. Les valeurs moyennes de température et l'intensité lumineuse relevées en période « nocturne », légèrement plus élevées lors de l'expérience CLIM-2, s'expliquent par plusieurs coupures de courant ayant entraîné le blocage des minuteurs. De ce fait, les consignes de période « diurne » ont été involontairement imposées pendant trois « nuits » au total.

Période	Expérience	Mesure d'intensité lumineuse (lx)	Température (°C)	Humidité relative (%)
Eclairage (« Jour »)	Consigne	Lampes allumées	23,0 ± 3,0	> 60,0
	CLIM-1	2450 ± 420	24,0 ± 1,1	67,7 ± 11,0
	CLIM-2	2200 ± 900	23,4 ± 2,2	75,4 ± 9,2
	CLIM-3	2000 ± 1100	22,8 ± 2,2	76,7 ± 11,0
Obscurité (« Nuit »)	Consigne	Lampes éteintes	16,0 ± 3,0	> 60,0
	CLIM-1	~ 0	19,9 ± 4,1	65,3 ± 15,8
	CLIM-2	150 ± 600	21,8 ± 4,7	77,4 ± 10,0
	CLIM-3	~ 0	17,1 ± 2,8	79,1 ± 11,0

Tableau 20 : Valeurs moyennes des paramètres climatiques (éclairage, température, humidité relative) relevées en période d'éclairage (16 h / 24) ou d'obscurité (9 h / 24) dans la chambre climatique lors des trois séries d'exposition continue en conditions contrôlées (CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3).

4.3.2.1.2 Expositions en conditions réelles

Les valeurs des paramètres climatiques (température, hygrométrie et éclairage) ont été mesurées et enregistrées toutes les 2 minutes au cours des expériences en extérieur par un appareil numérique similaire à celui utilisé en chambre climatique (Kistock KH 200, société Kimo, Montpon, France). Ces valeurs ont ensuite été moyennées pour les périodes diurnes et

nocturnes de chaque jour. Le détail des relevés de ces valeurs pour les deux séries d'expériences réalisées en extérieur est présenté en Annexes C.1 et C.2. Les valeurs moyennes correspondantes sur la période sont données dans le Tableau 21. Les valeurs de température et d'hygrométrie relevées au cours des deux expositions sont globalement comparables en période nocturne. En revanche, en période diurne, les températures enregistrées sont plus importantes pour l'expérience EXT-1 que pour l'expérience EXT-2, ce qui est cohérent avec les périodes auxquelles ont été réalisées les expositions (début ou fin de période estivale). De la même façon, l'intensité lumineuse a également été plus importante pour l'expérience EXT-1.

Expérience	Période de culture	Période	Mesure d'intensité lumineuse (lx)	Température (°C)	Humidité relative (%)
EXT-1	fin avril à début juillet	diurne	3400 ± 1200	23,5 ± 4,0	60,5 ± 9,5
		nocturne	0 ± 0	16,0 ± 3,1	75,6 ± 7,8
EXT-2	début septembre à fin octobre	diurne	1600 ± 600	18,0 ± 4,3	63,4 ± 7,8
		nocturne	0 ± 0	15,4 ± 3,9	65,7 ± 6,8

Tableau 21 : Valeurs moyennes des paramètres climatiques (éclairage, température, humidité relative) relevées en périodes diurne et nocturne dans la serre de culture lors des deux séries d'exposition continue en extérieur (EXT-1 et EXT-2).

Les mesures des conditions climatiques en extérieur ont été complétées par les données de la station météorologique du centre de Valduc. Les relevés de la direction et de la vitesse des vents par la station météorologique et le **SODAR doppler** (SONic Detection And Ranging, instrument météorologique de sondage acoustique) du centre ont ainsi été considérés (cf. Figure 16). Ceux-ci sont effectués de façon continue, toutes les 25 minutes, à 10 m, 30 m et 55 m d'altitude. Les roses des vents correspondantes aux mesures réalisées sur les périodes d'exposition sont données en Annexes C.1.5 et C.2.5.

Ces mesures ont permis d'établir la rose des vents pendant la période d'exposition au tritium des plants, et par suite l'impact des rejets tritium sur les cultures. Pour cela, le logiciel GASCON, développé par le CEA, a été utilisé (Iooss et al., 2006). GASCON est un modèle gaussien à bouffée traduit par les équations de Doury (Doury, 1982, 1988), dédié à la prévision de l'impact et des doses engendrées par des rejets atmosphériques chroniques, incluant un module spécifique pour le tritium. Il permet d'estimer l'activité HT et HTO atmosphérique en un point donné dès lors que les caractéristiques des rejets de tritium (point source, activité) et les conditions météorologiques (température, hygrométrie, vents) sont connues.

4.3.2.2 Activité du tritium atmosphérique

Dans la chambre climatique, les activités en tritium atmosphérique (HT et HTO) ont été mesurées grâce à deux systèmes de barbotage (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France) fonctionnant en période diurne et nocturne respectivement, dans le but de discriminer les phénomènes d'absorption et d'intégration du tritium se déroulant le jour et/ou la nuit, notamment les phénomènes photosynthétiques. En extérieur, les faibles niveaux d'activités relevés dans l'air n'ont pas permis de discriminer les activités sur les quelques heures

correspondant aux périodes de jour et de nuit. Le même système de barbotage qu'en chambre climatique (MARC 7000, SDEC) a été utilisé pour suivre l'activité atmosphérique du tritium en continu, mais sur des périodes d'une semaine.

4.3.2.2.1 Expositions en conditions contrôlées

Les activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée (HTO) et du tritium gaz (HT) relevées lors des premiers stades de développement (culture au laboratoire) et de l'exposition en chambre climatique, ainsi que les écarts-types associés, sont présentés dans le Tableau 22. Le lecteur intéressé trouvera le détail des relevés correspondants en Annexes C.4, C.5 et C.6.

Lot de plants	Conditions expérimentales	HTO (Bq m ⁻³)				HT (Bq m ⁻³)			
		Moy.	Min.	Max.	E.T.	Moy.	Min.	Max.	E.T.
CLIM-1	Laboratoire	1,4	0,3	4,2	1,9	0,4	0,2	0,9	0,4
	Période diurne	187,9	108,1	304,3	43,5	16,4	5,0	40,5	9,1
	Période nocturne	157,6	61,3	295,8	47,6	25,6	5,6	81,7	14,5
CLIM-2	Laboratoire	4,9	3,8	6,0	1,6	1,1	1,0	1,1	0,1
	Période diurne	130,5	46,3	239,6	48,9	14,0	3,4	48,2	9,7
	Période nocturne	111,4	43,8	238,0	57,5	20,5	4,4	55,3	14,5
CLIM-3	Laboratoire	2,0	0,6	5,5	2,3	0,7	0,2	1,3	0,5
	Période diurne	1030,8	9,1	4492,4	1550,9	45,8	3,5	263,6	70,9
	Période nocturne	612,0	27,4	3025,6	965,1	87,0	3,3	765,0	179,5

Moy. : valeur moyenne, Min. : valeur minimale, Max. : valeur maximale, E.T. : écart-type

Tableau 22 : Activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée (HTO) et du tritium gaz (HT) et écart-type correspondant (en Bq m⁻³ d'air), pour les mesures réalisées au laboratoire pendant la croissance de plants (« serre »), et durant les différentes expériences d'exposition réalisées en chambre climatique (CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3).

4.3.2.2.2 Expositions en conditions réelles

Les activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée (HTO) et du tritium gaz (HT), relevés lors des premiers stades de développement (culture au laboratoire) et de l'exposition en serre extérieure, ainsi que les écarts-types associés, sont présentés dans le Tableau 23. Le lecteur intéressé trouvera le détail des relevés de mesures correspondants en Annexes C.3.

Les activités totales (HT et HTO) moyennes du tritium atmosphérique relevées lors des expériences EXT-1 et EXT-2 ont été comparés aux prévisions du code de calcul GASCON. Les résultats obtenus concernant l'activité atmosphérique totale (HT et HTO) sont donnés dans le

Tableau 23. Pour les deux séries d'expositions en extérieur, un bon accord est observé entre les résultats expérimentaux et les prévisions du modèle.

Lot de plants	Conditions expérimentales	HTO (Bq m ⁻³)				HT (Bq m ⁻³)				HTO + HT (Bq m ⁻³)	
		Moy.	Min.	Max.	E.T.	Moy.	Min.	Max.	E.T.	Moy.	GASCON
EXT-1	Laboratoire	3,6	2,8	4,3	1,1	0,9	0,5	1,3	0,6	-	-
	Serre extérieure	12,6	4,1	19,5	5,0	2,3	0,5	5,6	1,6	14,9	17,0
EXT-2	Laboratoire	1,0	0,5	2,8	0,7	0,6	0,3	0,9	0,3	-	-
	Serre extérieure	7,3	3,0	14,4	4,2	1,0	0,5	2,8	0,7	8,3	8,0

Moy. : valeur moyenne, Min. : valeur minimale, Max. : valeur maximale, E.T. : écart-type

Tableau 23 : Activités atmosphériques moyennes, minimales et maximales de la vapeur d'eau tritiée (HTO) et du tritium gaz (HT) et écart-type correspondant (en Bq m⁻³ d'air), pour les mesures réalisées au laboratoire pendant la croissance de plants (« serre »), et durant les différentes expériences d'exposition réalisées en serre extérieure (EXT-1 et EXT-2).

4.3.2.2.3 Importance relative des formes HT et HTO

En conditions climatiques contrôlées comme en conditions réelles, Les activités en tritium gaz (HT) mesurées dans l'air au cours des différentes expériences d'exposition à long terme étaient globalement faibles par rapport à celles mesurées pour la vapeur d'eau tritiée (HTO). Compte tenu de la vitesse de dépôt du tritium gaz (HT) relativement lente (Koarashi et al., 2001), l'impact du tritium gaz peut être considéré comme négligeable par rapport à celui de la vapeur d'eau tritiée pour ces expériences. Seules les activités de la vapeur d'eau tritiée ont donc été considérées pour l'exploitation des résultats.

CONCLUSIONS

Ce chapitre a permis de définir et de caractériser le système d'étude, associant un matériel biologique fixé, un milieu de culture caractérisé et des conditions climatiques régulées. Les protocoles expérimentaux permettant l'étude des phénomènes d'absorption et d'intégration du tritium dans le végétal-cible en cas d'exposition à court ou long terme ont également été définis. Ces protocoles expérimentaux font appel à différentes procédures, méthodes et outils d'analyse qu'il convient à présent de détailler : c'est l'objet du Chapitre II.

CHAPITRE II : DESCRIPTION ET QUALIFICATION DES TECHNIQUES ANALYTIQUES

Introduction	133
1 Mesures biologiques	134
1.1 <i>Suivi de croissance</i>	134
1.1.1 Biomasse et cinétiques de croissance	134
1.1.1.1 Courbes de croissance	134
1.1.1.2 Modèle de l'accroissement de masse	135
1.1.2 Nombre de feuilles apparues et initiées	137
1.1.3 Surface des feuilles	137
1.2 <i>Mesure de l'activité photosynthétique</i>	138
1.2.1 Principe de la mesure des échanges gazeux	138
1.2.2 Description de l'appareil utilisé (LI-6400, LiCor)	139
1.2.3 Choix des paramètres de mesure	140
1.2.4 Limites du système	141
1.3 <i>Mesure des protéines totales</i>	141
1.3.1 Principe de la méthode de Bradford	141
1.3.2 Mode opératoire	142
1.3.3 Limites de la méthode	142
1.4 <i>Mesures complémentaires</i>	142
2 Echantillonnage et mesure du tritium	143
2.1 <i>Prélèvement et détermination des activités du tritium atmosphérique</i>	143
2.1.1 Mode opératoire	143
2.1.1.1 Fonctionnement nominal	143
2.1.1.2 Mesure sur de courtes périodes	143
2.1.2 Limites de la méthode	144
2.2 <i>Extraction du tritium des échantillons biologiques</i>	144
2.2.1 Prélèvement des échantillons	145
2.2.2 Conditionnement des échantillons	145
2.2.3 Extraction du tritium libre par lyophilisation	146
2.2.4 Extraction du tritium échangeable par échange isotopique	146
2.2.4.1 Echange isotopique à froid	146
2.2.4.2 Extraction à chaud	147
2.2.4.3 Limites de la méthode	148
2.2.5 Extraction du tritium lié par combustion et oxydation catalytique	148
2.2.5.1 Description du four	148
2.2.5.2 Combustion et oxydation catalytique	149
2.2.5.2.1 Déroulement de l'opération	149
2.2.5.2.2 Paramètres de réglage	150
2.2.5.2.3 Mesure du bruit de fond	150
2.2.5.3 Traitement de l'eau de combustion : neutralisation et distillation	151

Démarche expérimentale :		
Chapitre II, description et qualification des techniques analytiques	132	
2.2.5.4	Calcul des activités en tritium organiquement lié	151
2.2.5.5	Validation et limites de la méthode	151
2.2.5.5.1	Bilan de matière	151
2.2.5.5.2	Répétabilité de la mesure	155
3	Méthodes numériques et statistiques	156
3.1	<i>Traitement des données climatiques</i>	156
3.2	<i>Régressions statistiques</i>	156
3.3	<i>Calcul des incertitudes</i>	156
Conclusions		157

INTRODUCTION

L'étude présentée dans ce mémoire concerne l'absorption et l'incorporation du tritium dans un végétal cible : la laitue (*Lactuca sativa* L.). Les protocoles expérimentaux mis en place pour cette étude ont fait appel à différentes procédures, méthodes et outils qui sont détaillés dans cette partie consacrée à la description et à la qualification des techniques analytiques. Les mesures biologiques sont tout d'abord présentées. Les procédures d'échantillonnage et les techniques de mesure du tritium sont ensuite développées. La dernière partie de ce chapitre traite des méthodes numériques et statistiques utilisées.

1 MESURES BIOLOGIQUES

L'exploitation des expériences a eu souvent recours à l'évolution de la masse des plants étudiés tout au long de leur croissance. Les mesures directes de masse ont permis d'établir les courbes de croissance correspondantes aux différentes séries expérimentales. Celles-ci ont ensuite fait l'objet d'une modélisation en fonction du temps ou de l'énergie disponible durant la période de croissance des plants.

1.1 SUIVI DE CROISSANCE

1.1.1 BIOMASSE ET CINÉTIQUES DE CROISSANCE

1.1.1.1 Courbes de croissance

Les masses fraîches et sèches des plants cultivés ont été suivies de manière destructive tout au long de la culture des plants. De façon à réaliser des mesures représentatives de l'ensemble du lot, cinq plants au minimum ont été prélevés pour chaque point de la courbe de croissance. Un test de Student a été appliqué sur les séries de valeurs obtenues de façon à écarter les mesures de masse indiquant des tailles de plants anormales. Pour un lot de laitues donné, les prélèvements ont toujours été effectués à la même heure de la journée (à 10 h le matin), et après un laps de temps identique par rapport au dernier arrosage, afin d'être dans des conditions d'hydratation des plants relativement similaires. Pour cette même raison, la pesée des masses fraîches a été effectuée le plus rapidement possible après le prélèvement des plants. La pesée des masses sèches a été réalisée après la lyophilisation durant 48 h des laitues (lyophilisateur Lyolab 3000, HETO, Allerød, Danemark).

La courbe de croissance la plus simple est obtenue en exprimant la série de masses mesurées comme une fonction du temps écoulé depuis la germination (Tei et al., 1996; Sabbarese et al., 2002). La représentation en fonction du temps écoulé est pertinente pour l'exploitation d'une expérience sur un ou plusieurs lots de laitues cultivées dans des conditions similaires, notamment du point de vue climatique (cas de la chambre de culture). En revanche, elle ne permet pas de comparer les croissances de plusieurs lots de laitues soumis à des conditions très différentes d'un point de vue météorologique (cas des expériences réalisées en extérieur). Afin de s'affranchir des conditions climatiques, variables selon des saisons, et de pouvoir comparer les résultats obtenus dans le système d'étude et pour des conditions de culture réelles, les courbes de croissance peuvent également être établies en fonction de l'énergie disponible pour les plantes au cours du temps (Bierhuizen et al., 1973; Dapoigny et al., 1997). La lumière constitue la principale source d'énergie pour les plantes. La température joue également un rôle déterminant sur le développement des végétaux (Bensink, 1971; Hopkins, 1995). C'est pourquoi le rayonnement lumineux perçu à la surface des plantes (en lx ou en μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), et la température de l'air ambiant (en °C) ont été retenus comme paramètres d'influence pour modéliser la croissance des laitues. L'unité (lx j)(°C j) a ainsi été définie en s'inspirant du « **degré.jour** » (°C j) couramment utilisé en agronomie pour traduire l'influence sur le développement d'une plante d'un degré de température au dessus de son seuil de développement pendant un jour (24 h) (Bruno and Papy, 1992; Bonhomme, 1996). Cette unité

correspond au produit des sommes des températures moyennes (en °C) et des quantités de lumière (en lx) enregistrées quotidiennement dans l'environnement de la plante.

La Figure 17 montre l'utilité de l'unité (lx j)(°C j). Cette figure présente les courbes de croissance établies pour différentes expériences réalisées en conditions contrôlées et en extérieur en fonction du temps et en fonction de l'unité (lx j)(°C j). Alors que les courbes exprimées en fonction du temps présentent une allure très dispersée, les courbes établies en fonction de l'unité (lx j)(°C j) se superposent. Cette représentation peut donc être utilisée pour comparer les résultats des différentes expériences.

Toutefois, il convient d'être prudent quant à l'usage de cette unité. En effet, le spectre de la lumière du jour est très variable selon les moments de la journée, la saison ou les conditions météorologiques. Une moyenne sur un jour entier (24 h) ne rend pas compte de ces variations. De plus, les deux facteurs température et luminosité sont corrélés : pour obtenir des conditions optimales de croissance, la quantité de lumière reçue doit être supérieure à un seuil qui dépend de la température. L'unité (lx j)(°C j) permet une approche globale de la quantité d'énergie disponible pour les plants mais ne rend pas compte de tous ces phénomènes.

1.1.1.2 Modèle de l'accroissement de masse

Les courbes de croissance obtenues à partir de mesures expérimentales présentaient souvent des irrégularités importantes pouvant conduire à des erreurs de calcul. Afin de lisser les courbes expérimentales, un modèle de croissance sigmoïde a été utilisé (Erickson, 1976; Baumgartner and Kim, 1995). Ce modèle, donné par l'équation (31), utilise comme paramètre le temps ou l'énergie disponible pour les végétaux.

$$M_x^{laitue} = \frac{M_{\max}^{laitue}}{1 + \left[\frac{M_{\max}^{laitue} - M_0^{laitue}}{M_0^{laitue}} \right] \cdot e^{-rx}} \quad (31)$$

Avec :

M_t^{laitue}	masse sèche totale d'un plant au temps t (en g)
M_x^{laitue}	masse sèche totale d'un plant après un temps t depuis la germination ou ayant reçu une énergie E (en g)
M_{\max}^{laitue}	masse sèche maximale atteinte à maturité du plant (g)
M_0^{laitue}	masse sèche « initiale » d'un plant (g)
r	taux de croissance du plant (j^{-1})
x	temps t écoulé depuis la germination du plant (j) ou équivalent d'énergie disponible E (lx j)(°C j)

A titre d'exemple, la Figure 17 b) présente la courbe de croissance établie d'après le modèle sigmoïdal, en fonction de l'énergie disponible, à partir des masses mesurées expérimentalement de quatre expériences différentes (CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2).

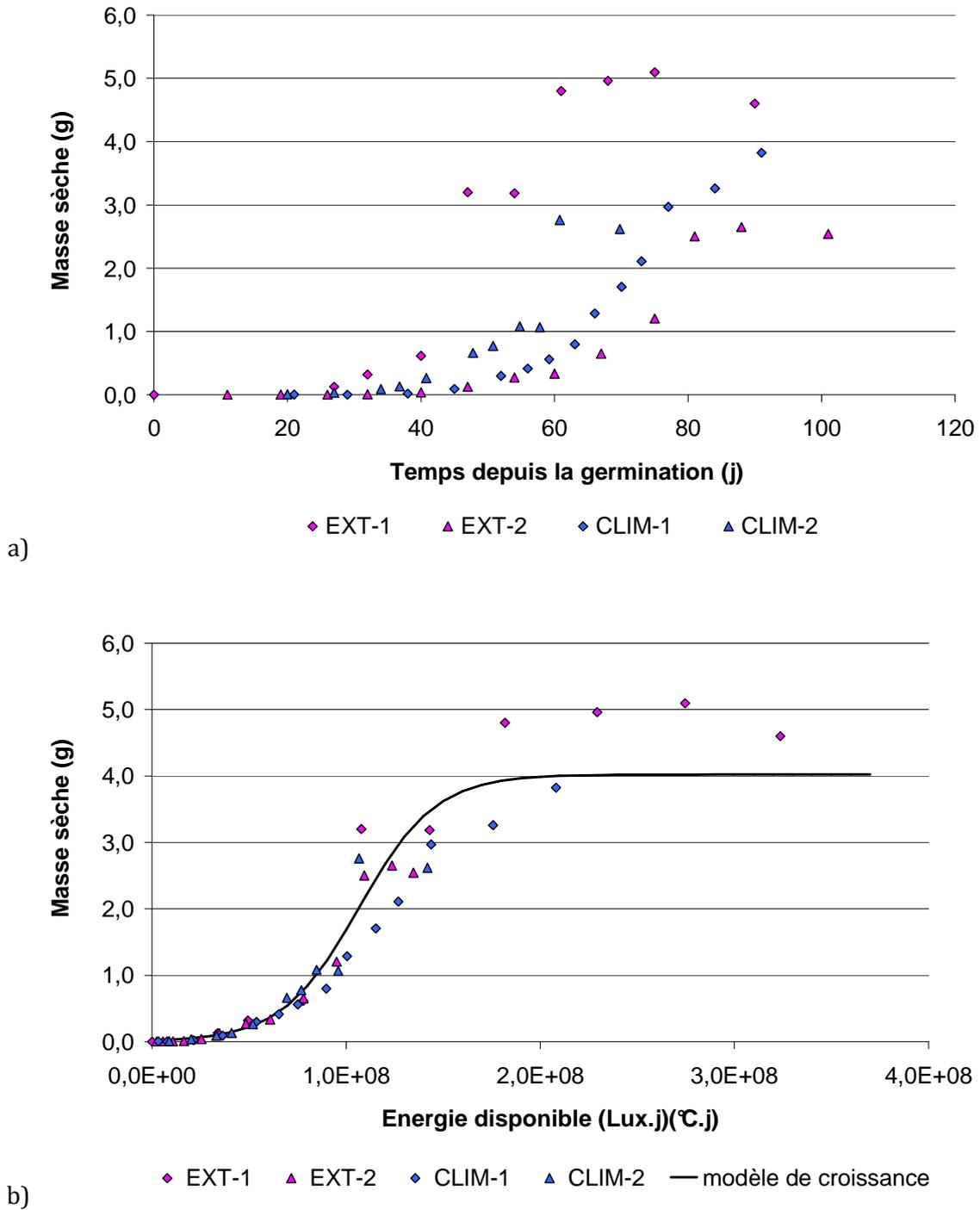


Figure 17 : Courbes de croissance représentant la masse sèche moyenne d'un plant (g) en fonction du temps après germination (a) et en fonction de l'énergie disponible (b) pour quatre lots de laitues différents, correspondant aux expériences d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou réelles (EXT-1, EXT-2). En figure b), le modèle de croissance sigmoïdal établi à partir des données expérimentales pour les quatre lots de plants est tracé.

1.1.2 NOMBRE DE FEUILLES APPARUES ET INITIEES

Le nombre de feuilles de longueur supérieure à 1 cm apparues à un instant donné est un critère communément utilisé dans la bibliographie pour suivre le développement foliaire de la laitue (Bensink, 1971). Le nombre de feuilles initiées correspond au nombre total de feuilles du plant, quelle que soit leur taille.

La formation des feuilles des plants de laitue étudiés s'est avérée globalement régulière. Une loi mathématique a ainsi pu être établie afin de prévoir le nombre de feuilles apparues en fonction du temps écoulé depuis la germination. Cette relation, obtenue à partir des données expérimentales de trois lots de laitues différents (expérience CLIM-1, CLIM-2 et EXT-2) est présentée dans la Figure 18. Cette relation prévoit l'apparition d'une nouvelle feuille tous les 3 jours environ, ce qui est cohérent avec les données de la littérature pour la laitue (Bensink, 1971).

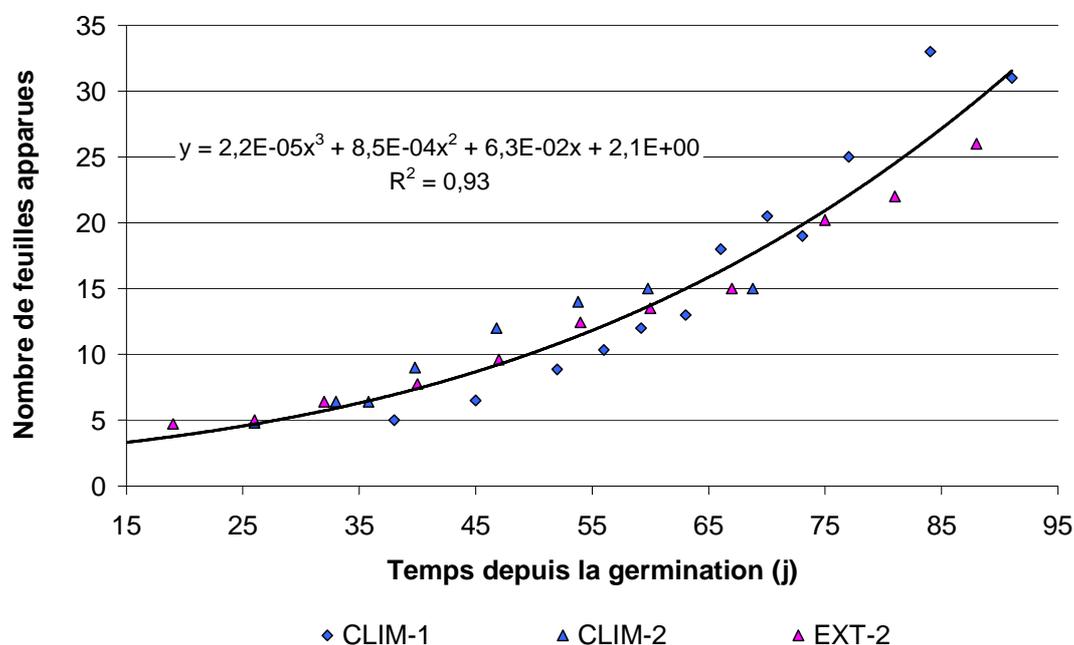


Figure 18 : Nombre de feuilles apparues en fonction du temps écoulé depuis la germination des plants pour trois lots de laitues différents, correspondant aux expériences d'exposition continue au tritium atmosphérique en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou réelles (EXT-2), et relation mathématique associée.

1.1.3 SURFACE DES FEUILLES

La méthode utilisée pour mesurer la surface des feuilles a consisté à photocopier toutes les feuilles d'un plant étalées sur du papier blanc, puis à intégrer les surfaces photocopiées par pesée. Cette méthode permet de connaître précisément la surface projetée de chaque feuille et par somme, la surface foliaire de la plante entière. Le rapport de cette surface totale à l'aire de la

plante projetée au sol permet de déterminer l'**indice foliaire** du végétal (noté « leaf area index » en anglais) (Galeriu et al., 1998).

1.2 MESURE DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE

1.2.1 PRINCIPE DE LA MESURE DES ECHANGES GAZEUX

Un système portable, à chambre ouverte, de mesure d'échange gazeux (LI-6400, LiCor Biosciences®, Lincoln, Nebraska, USA), a été utilisé pour les mesures de l'assimilation nette de CO₂ dans les feuilles de laitue (cf. Figure 19).



Figure 19 : Cliché de la LI-6400 avec chambre ouverte pour la mesure d'une surface foliaire de 4cm² (extrait du manuel d'utilisation de l'appareil²).

Les mesures de photosynthèse et de transpiration dans un système ouvert de ce type sont basées sur la différence des concentrations en CO₂ et H₂O entre un flux d'air en contact avec la feuille étudiée (échantillon), et un flux d'air de référence n'entrant pas en contact avec elle (cf. Figure 20). Les caractéristiques de l'air entrant dans la chambre de mesure sont imposées (hygrométrie, concentration en CO₂, température...). La chambre de mesure est munie d'une série de diodes lumineuses dont il est possible de faire varier l'intensité, de manière à obtenir

² Using the LI 6400 Portable Photosynthesis System, Version 5, LiCor Biosciences, disponible sur www.licor.com.

une réponse photosynthétique plus ou moins importante de la feuille étudiée. Le lecteur intéressé trouvera le détail des équations associées aux mesures de l'activité photosynthétique par la LI-6400 en Annexe A.

Il est important de noter que les mesures de transpiration, de conductance stomatique ou encore d'échanges gazeux réalisées grâce à la LI-6400 correspondent à des conditions particulières imposées, et non pas aux conditions climatiques réelles dans lesquelles se trouvaient les plants d'étude.

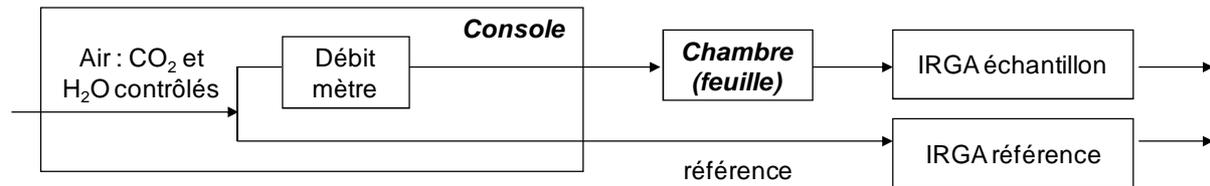


Figure 20 : Principe d'un système ouvert de mesure des échanges gazeux.

1.2.2 DESCRIPTION DE L'APPAREIL UTILISE (LI-6400, LICOR)

De façon à pouvoir mesurer les échanges gazeux se déroulant au niveau de la feuille étudiée, il est nécessaire de disposer en entrée de la chambre de mesure d'un air « de référence » dont les concentrations en CO₂ et H₂O sont contrôlées. Pour cela, l'air aspiré dans la console LI-6400 grâce à un système de pompage est envoyé vers deux tubes remplis respectivement d'un absorbeur d'humidité (driérite) et d'un absorbeur de CO₂ (chaux sodée). En jouant sur la proportion et sur le débit d'air circulant au sein de ces deux unités, il est possible d'ajuster les concentrations en H₂O aux niveaux souhaités dans l'air de référence. L'hygrométrie peut ainsi être imposée dans une gamme comprise entre une hygrométrie nulle (air complètement sec) et la teneur en eau de l'air extérieur (typiquement de l'ordre de 20 mmol d'eau par mol d'air). La teneur en CO₂ est fixée par une source de CO₂ (cartouche de CO₂ comprimé) qui permet de balayer une gamme de valeurs pouvant dépasser la teneur de l'air extérieur (Figure 21).

Les différences de concentrations en CO₂ et H₂O lors du passage de l'air à travers la feuille étudiée sont mesurées grâce à deux analyseurs de gaz à infrarouge indépendants (notés IRGA pour Infra-Red Gas Analyzers). L'un mesure les gaz de l'air de référence, tandis que l'autre mesure les gaz après leur passage à travers la feuille végétale. Avant toute mesure, une série de tests et de calibrations permettent de s'assurer de la bonne réponse des IRGAS.

Schematic with a 6400-01 CO₂ Mixer

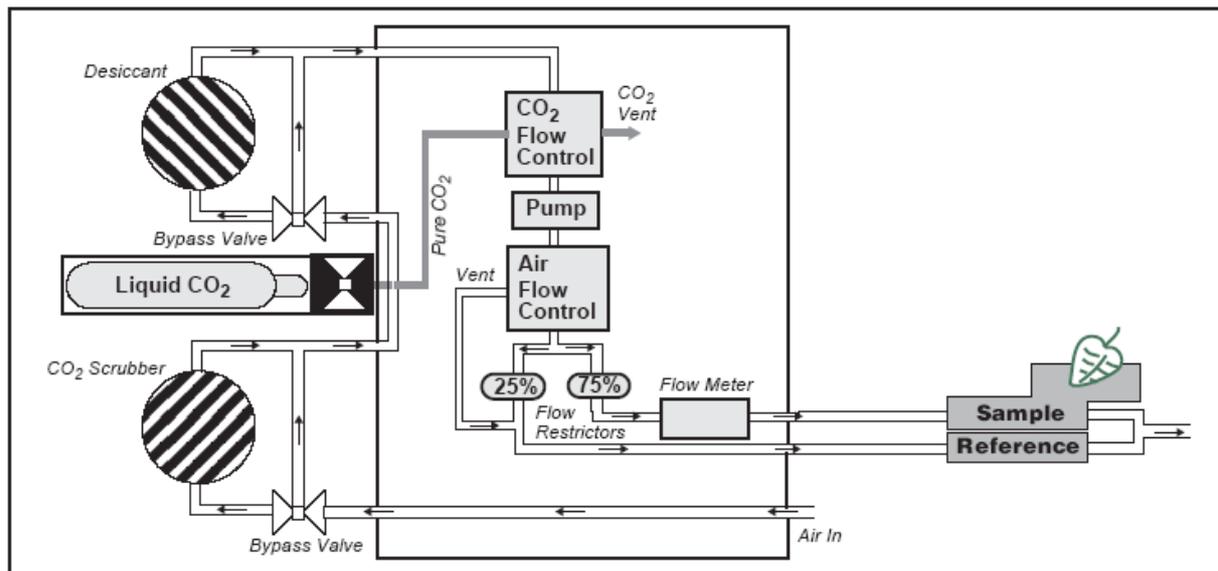


Figure 21 : Représentation schématique des flux de gaz au sein de la LI 6400 (extrait du manuel d'utilisation de l'appareil³).

1.2.3 CHOIX DES PARAMETRES DE MESURE

Des études préliminaires réalisées sur des lots de laitues témoins ont permis de déterminer les valeurs des paramètres de fonctionnement de la LI-6400 les plus adaptées pour notre étude. Ainsi, une observation au microscope (x 40) a permis de comptabiliser le nombre de **stomates** présents sur chaque face des feuilles de laitue. En moyenne, 1200 à 1500 **stomates** ont été comptés sur chacune des faces. Le ratio du nombre de **stomates** sur la partie supérieure de la feuille par rapport au nombre de **stomates** sur la partie inférieure a donc été considéré comme égal à un pour le paramétrage de la LI-6400.

Compte tenu des teneurs naturelles en dioxyde de carbone atmosphérique (environ 375 ppmv actuellement), la valeur fixe de 400 ppmv (soit 400 μmol de CO₂ par mol d'air) a été imposée pour les mesures de photosynthèse, dans un flux d'air global de 200 $\mu\text{mol s}^{-1}$.

La valeur de l'intensité lumineuse imposée par les diodes à l'intérieur de la chambre de mesure a été déterminée suite à des mesures préliminaires réalisées sur la même feuille pour différentes intensités. L'activité photosynthétique enregistrée croît avec l'augmentation de la lumière jusqu'à un seuil de saturation (cf. Figure 22). La valeur de l'intensité lumineuse de 400 μmol de photons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ retenue pour les mesures correspond à une activité photosynthétique importante, mais non maximale de la feuille.

³ Using the LI 6400 Portable Photosynthesis System, Version 5, LiCor Biosciences, disponible sur www.licor.com.

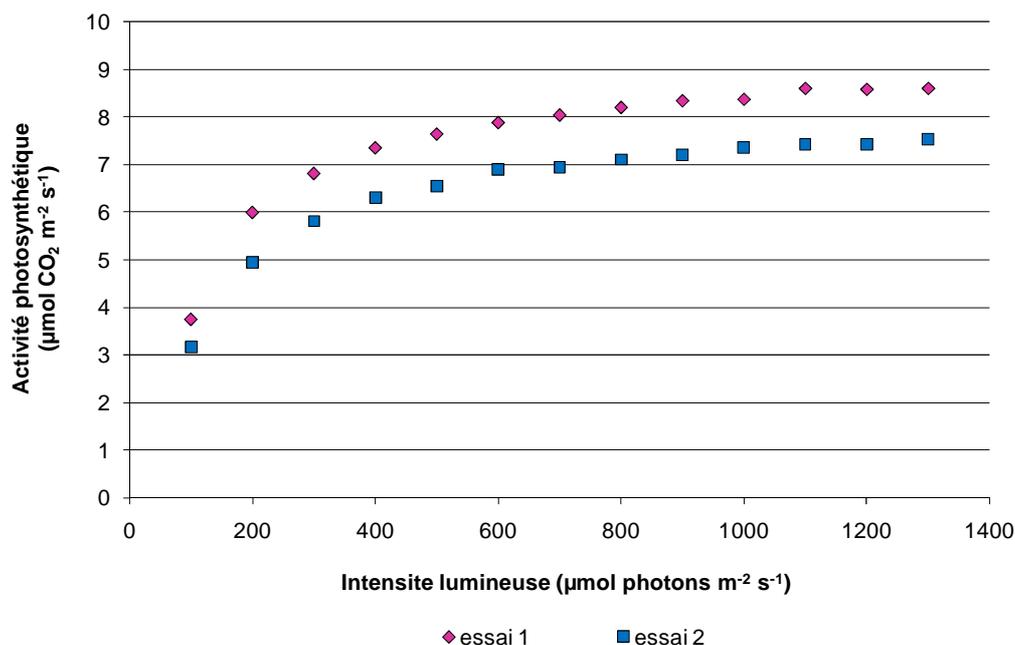


Figure 22 : Réponse photosynthétique d'une feuille de laitue en fonction de l'intensité lumineuse imposée.

1.2.4 LIMITES DU SYSTEME

La LI-6400 s'est avéré être un appareil relativement mal adapté aux mesures sur des feuilles de laitues, particulièrement fragiles. Il n'existe toutefois pas de matériel réellement approprié à la mesure des échanges gazeux photosynthétiques pour ce type de plantes. Nous avons donc choisi d'utiliser quand même la LI-6400 pour cette étude, malgré un temps de stabilisation très long et une reproductibilité limitée des mesures. Les incertitudes associées aux mesures sont de fait relativement importantes (de l'ordre de 50%).

1.3 MESURE DES PROTEINES TOTALES

1.3.1 PRINCIPE DE LA METHODE DE BRADFORD

La méthode de Bradford est un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance de la solution analysée. Elle fait appel à un réactif spécifique appelé réactif de Bradford, composé de réactif de Coomassie (C₄₇H₄₉N₃NaO₇S₂), d'acide phosphorique (H₃PO₄) et de méthanol (CH₄O). La transition se manifeste à une longueur d'onde de 595 nm par le changement de la couleur du réactif de Bradford suite à sa complexation avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les **protéines**. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant la concentration en **protéines** dans l'échantillon (Bradford, 1976).

1.3.2 MODE OPERATOIRE

Pour chaque série de mesures de **protéines** totales, une solution tampon est tout d'abord préparée avec de l'HEPES (acide 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonique, $C_8H_{18}N_2O_4S$, réf. H3375, Sigma, Sigma Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA) à 50 mM. Le pH est ajusté à 7,5 grâce à l'ajout de soude (NaOH). Cette solution sert ensuite de solvant d'extraction des **protéines** végétales.

Une droite d'étalonnage de la solution tampon est réalisée grâce à une **protéine** standard : la sérum albumine bovine (BSA, réf. P0834 Sigma, Sigma Aldrich). Elle comporte six points dont les concentrations sont comprises entre 0 et 1400 μ g de **protéines** par millilitre de solution. 50 μ L de chaque échantillon sont mélangés à 1,5 mL de réactif de Bradford (réf. B6916 Sigma, Sigma Aldrich) dans une cuvette pour spectrophotométrie à usage unique (capacité : 3 mL). Après 10 min d'incubation à température ambiante, la lecture est réalisée au spectrophotomètre UV-visible pour une longueur d'onde de 595 nm (DR 5000, commercialisé par Hach Lange).

Les **protéines** sont extraites des échantillons végétaux par broyage au mortier d'environ 300 mg de matériel frais dans 5 mL de solution tampon. Une petite quantité de sable est ajoutée de façon à faciliter l'éclatement des **cellules**. 150 mg de polyvinylpyrrolidone ($(C_6H_9NO)_n$, réf. P6755 Fluka, Sigma Aldrich) sont en outre incorporés au mélange afin de neutraliser les phénols qui pourraient interférer lors de la mesure spectrophotométrique. Une fois le végétal finement broyé, une fraction est prélevée, placée dans un microtube de 1,5 mL et centrifugée durant 15 min à 13000 rpm (centrifugeuse MiniSpin plus, Eppendorf). 50 μ L du surnageant sont finalement prélevés et mélangés à 1,5 mL de réactif de Bradford pour analyse. La lecture est réalisée au spectrophotomètre UV-visible pour une longueur d'onde de 595 nm après 10 min d'incubation à température ambiante.

1.3.3 LIMITES DE LA METHODE

Contrairement à d'autres méthodes de mesure des **protéines**, la méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les extraits de **protéines**. Elle est toutefois affectée par les détergents (Bradford, 1976), modifiée par le pH, et donne un résultat positif pour certains sucres (Banik et al., 2009) et pour les polyphénols hydrosolubles de haut poids moléculaire comme les tanins (Kilkowski and Gross, 1999). C'est pourquoi tout dosage des **protéines** solubles totales d'un tissu végétal par cette méthode doit être précédé par une fixation de ces tanins au moyen de PVPP. En outre, les acides aminés, les peptides et les **protéines** de bas poids moléculaire ne sont pas détectés par cette méthode.

1.4 MESURES COMPLEMENTAIRES

La proportion d'atomes de carbone, hydrogène, oxygène et azote a été mesurée sur certains échantillons secs. Ces analyses élémentaires (C, H, O, N) ont été réalisées par le Service Central d'Analyses du CNRS (Solaize, France) par combustion ou pyrolyse et détection infrarouge ou à thermo-conductibilité thermique⁴.

⁴ <http://www.sca.cnrs.fr/>

2 ECHANTILLONNAGE ET MESURE DU TRITIUM

2.1 PRELEVEMENT ET DETERMINATION DES ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE

Des systèmes de barbotage (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France) ont été utilisés pour la mesure du tritium atmosphérique. Le principe de ce type de dispositif, détaillé en Annexe B.2, repose sur la capture du tritium par de l'eau présentant une activité tritium très faible (Wood et al., 1993; Belot et al., 1996). Il permet de discriminer HTO des autres formes chimiques du tritium contenu dans l'air. Deux types de fonctionnement ont été mis en œuvre selon les besoins de l'expérience. Les calculs d'activité associés sont présentés en Annexe B.2.

2.1.1 MODE OPERATOIRE

2.1.1.1 Fonctionnement nominal

Le mode opératoire qui a été appliqué suit les procédures internes du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, basées sur la norme NF M 60-312 : « *Mesure de la radioactivité dans l'environnement - Air. Détermination par scintillation liquide de l'activité volumique du tritium atmosphérique prélevé par la technique de barbotage de l'air dans l'eau* » (AFNOR, 1999b).

Le protocole consiste à placer un volume de 160 mL d'eau de Volvic dans chaque flacon du barboteur. Avant le démarrage de la pompe, le four d'oxydation et le groupe froid de l'appareil sont mis en fonctionnement et amenés à leurs températures de consigne de 450°C et 6°C respectivement. Le temps de fonctionnement de l'appareil dépend de l'activité atmosphérique à mesurer. Il peut aller de quelques heures pour une atmosphère présentant des activités relativement importantes à une semaine pour une atmosphère très pauvre en tritium (cas de l'ambiance naturelle par exemple).

2.1.1.2 Mesure sur de courtes périodes

La mesure du tritium atmosphérique par barbotage donne de très bons résultats lorsque les activités en tritium atmosphériques sont significatives (supérieures à quelques Bq m⁻³) et que le temps de barbotage, permettant l'échange de tritium entre l'air aspiré et l'eau des quatre flacons de piégeage est suffisamment long. La méthode connaît en revanche des limites pour les temps de barbotage courts car la dilution dans l'eau peut conduire à des activités volumiques relativement faibles associées à des incertitudes de mesure importantes.

Afin de limiter cet effet de dilution lors de mesures successives sur de courtes périodes (quelques heures), un mode opératoire spécifique a été défini. Il consiste à réaliser des prises d'essai de 10 mL d'eau dans les flacons pour la mesure d'activité par scintillation liquide sans renouveler la totalité de l'eau des flacons à chaque prélèvement. En tenant compte du facteur de dilution introduit par les prises d'essais, il est ainsi possible de calculer l'activité moyenne en

tritium dans l'air depuis le début de l'exposition, ou, par différence, l'activité en tritium de l'air entre deux points de prélèvement successifs.

Des expériences préliminaires ont permis de valider ces conditions de fonctionnement particulières et la méthode de calcul utilisée en comparant les résultats obtenus après 24 h d'exposition avec des prélèvements successifs et ceux établis par un barboteur de référence fonctionnant selon le mode opératoire de base. Les écarts entre les valeurs d'activité données par les deux systèmes sont faibles compte tenu des incertitudes (de l'ordre de 12% pour HTO et de 28% pour HT, en moyenne).

2.1.2 LIMITES DE LA METHODE

Dans le cas d'activités atmosphériques très faibles, la dilution dans les quatre flacons d'eau conduit souvent à des valeurs en dessous de la limite de détection des carbotrimètres utilisés pour la mesure par scintillation liquide (cf. Annexe B.1).

Les mesures d'activité du tritium atmosphérique réalisées en extérieur, correspondant souvent à des valeurs faibles, ont cependant pu être confortées par le calcul des activités attendues. En effet, le point de rejet, l'activité rejetée et les conditions climatiques durant le rejet étant connus, l'activité de l'air en HT et en HTO a pu être estimée grâce au logiciel GASCON (cf. 3.1).

2.2 EXTRACTION DU TRITIUM DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

De nombreuses publications relatives à l'échantillonnage et à la mesure du tritium dans des matrices de l'environnement sont parues au cours des dernières décennies (Bogen et al., 1973; Kim and Baumgartner, 1988; Yamada et al., 1989a; Yamada et al., 1989b; Kozak et al., 1993; Wood et al., 1993; Fuma and Inoue, 1995; Kalin et al., 1995; Kotzer et al., 1998; Kotzer and Workman, 1999; Pointurier and Baglan, 2001; Golubev et al., 2002a; Daillant et al., 2004a; Daillant et al., 2004b; Pointurier et al., 2004; Baglan et al., 2005; Workman et al., 2005). Les méthodologies qu'elles présentent ne diffèrent pas sensiblement d'un laboratoire à l'autre, même si quelques variantes peuvent être notées, en particulier concernant l'extraction du **tritium organiquement lié échangeable**. La méthode généralement validée pour l'analyse des différentes fractions tritiées dans les échantillons biologiques solides consiste tout d'abord à en extraire l'eau (et donc l'eau tritiée), en général par lyophilisation. La fraction de **tritium organiquement lié échangeable** est ensuite récupérée par échange isotopique avec de l'eau présentant une teneur très faible en tritium. Finalement le tritium organique non-échangeable restant dans l'échantillon est converti en eau tritiée par combustion et oxydation catalytique. Il est également possible de mesurer le tritium total en brûlant l'échantillon brut (non séché), ou la fraction organique seule en omettant l'échange isotopique. Le mode opératoire utilisé dans cette étude a été établi en suivant la méthodologie des protocoles donnés dans la littérature et peut être résumé par le schéma présenté en Figure 23.

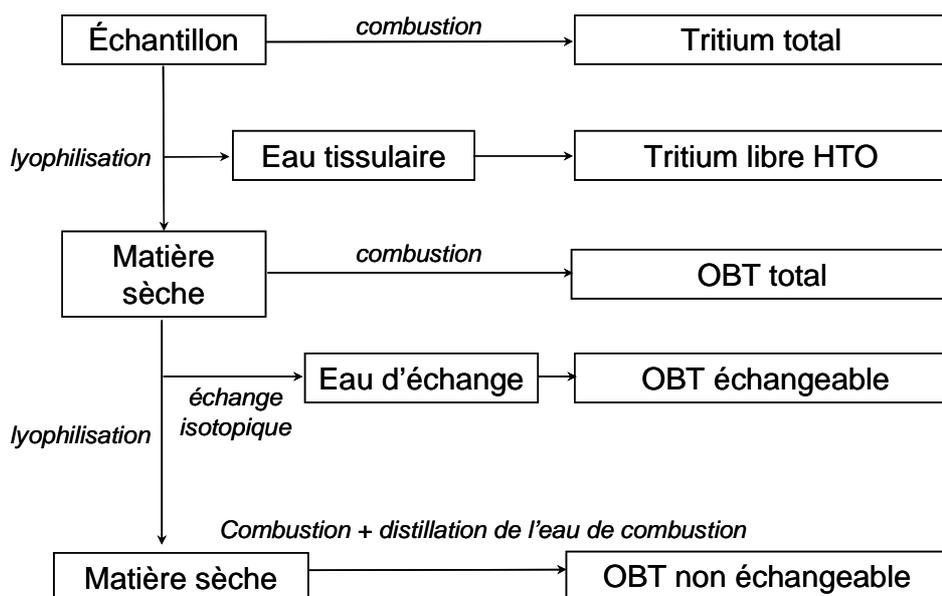


Figure 23 : Principales étapes du protocole opératoire suivi pour la mesure du tritium dans les échantillons biologiques.

2.2.1 PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Deux types d'échantillons ont été prélevés au cours de cette étude : des plants de laitues et leur terre de culture. Les prélèvements ont fait l'objet d'un grand soin car ils conditionnent la représentativité des analyses (Wood et al., 1993).

2.2.2 CONDITIONNEMENT DES ECHANTILLONS

Le transport des échantillons jusqu'au lieu d'analyses a été effectué le plus rapidement possible et après un conditionnement préalable limitant les contaminations post-échantillonnage par l'environnement extérieur. Ce conditionnement consistait à placer les échantillons dans des sacs vinyles étanches et protégeant de la lumière.

Le traitement des échantillons a de la même façon été effectué le plus rapidement possible après leur arrivée au laboratoire afin d'éviter toute contamination ou détérioration de la matière prélevée. Lorsqu'il n'a pas été possible de réaliser la suite de la préparation immédiatement, les échantillons ont été congelés à -20°C en attendant d'être lyophilisés (Brudenell et al., 1997; Choi et al., 2005). La stabilité du tritium échangeable et organique a ainsi été maintenue, car la faible pression de vapeur saturante permet de limiter une contamination éventuelle par le milieu.

2.2.3 EXTRACTION DU TRITIUM LIBRE PAR LYOPHILISATION

La lyophilisation (ou cryodessiccation) est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans un produit par sublimation (Marin and René, 2000). Elle autorise une conservation à long terme grâce à l'abaissement de la teneur en eau du produit (Marin and René, 2000). Cette technique est utilisée afin d'extraire le « tritium libre » (Garland and Ameen, 1979; Kim and Baumgartner, 1988; Wood et al., 1993; Diabaté and Strack, 1997; Choi et al., 2005), c'est-à-dire le tritium contenu dans l'eau tissulaire (cas des laitues) ou interstitielle (cas des terres) de l'échantillon. Le traitement de l'échantillon par cryodessiccation requiert 48 h environ. L'eau récupérée est ensuite utilisée pour la mesure de l'activité du tritium libre par scintillation liquide.

Deux types d'appareils sont utilisés au laboratoire pour la lyophilisation. Les échantillons de faible volume sont placés dans des éléments de verrerie spécifiques, qui peuvent être mis sous vide grâce à un système de robinets. La partie du système ne contenant pas l'échantillon est alors disposée dans un bain froid d'éthanol à -20°C, de façon à créer un piège froid pour la vapeur d'eau issue de l'échantillon. Les échantillons plus volumineux sont lyophilisés dans un cryodessiccateur Lyolab 3000 (HETO, Allerød, Danemark). La verrerie et les chambres du lyophilisateur sont systématiquement lavées et étuvées ; des tests sont réalisés entre chaque mesure afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons. Si les étapes suivantes du protocole peuvent être effectuées rapidement, l'échantillon sec est stocké en étuve à 40°C jusqu'au moment de son utilisation. Dans le cas contraire, il est conditionné sous vinyle.

D'autres techniques auraient pu être utilisées pour l'extraction du tritium libre, notamment la distillation azéotropique, qui permet de s'affranchir des phénomènes de discrimination isotopique (Wood et al., 1993; Kotzer and Workman, 1999). L'azéotrope peut être obtenu en mixant l'échantillon biologique (et donc l'eau qu'il contient) avec de l'éthanol (Thompson and Nelson, 1971), du benzène (McFarlane, 1976), du cyclohexane (Kim and Baumgartner, 1994), ou encore du toluène (Guenot and Belot, 1984; Davis et al., 2002). L'un des intérêts de cette technique est qu'à tout moment, l'échantillon et l'eau extraite sont séparés de l'atmosphère par la phase surnageante d'hydrocarbure. Cependant, la toxicité des produits utilisés a conduit à préférer la lyophilisation.

2.2.4 EXTRACTION DU TRITIUM ECHANGEABLE PAR ECHANGE ISOTOPIQUE

Le **tritium organiquement lié échangeable** est par définition labile et peut être échangé rapidement avec de l'hydrogène « léger ». Cette propriété est utilisée pour l'éliminer par échange isotopique avec de l'eau faiblement tritiée, sous forme liquide ou vapeur. Néanmoins, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de procédure validée pour la mesure du tritium organique échangeable. La communauté des radioécologistes du tritium reste divisée sur la définition même de cette fraction, et par voie de conséquence, sur la méthodologie à suivre pour la mesurer (Baumgartner and Donhaerl, 2004; IAEA, 2007b). Deux techniques ont été testées dans notre étude pour la mesure de cette fraction, selon la nature de l'échantillon à traiter.

2.2.4.1 Echange isotopique à froid

Le protocole d'échange isotopique à froid consiste à mélanger l'échantillon préalablement séché et broyé à de l'eau de référence dont l'activité tritium est négligeable (eau de Volvic) dans un Erlenmeyer agité mécaniquement (Kim and Baumgartner, 1994; Davis et al., 2002; Pointurier

et al., 2004). Un équilibre isotopique s'établit entre le tritium organique labile et l'eau d'échange, ajoutée en excès (environ 1000 mL pour 300 g de terre). L'échange est maintenu pendant trois jours, durée suffisante pour atteindre l'équilibre (Pointurier et al., 2004). Après récupération, filtration et éventuellement distillation de l'eau d'échange pour analyse, l'échantillon est congelé puis à nouveau séché par lyophilisation.

Cette technique s'est révélée efficace pour les échantillons robustes comme les terres mais destructrice d'une partie de la matière organique des échantillons fragiles tels que les laitues (Pointurier et al., 2004), ce qui rend difficile et peu fiable la mesure du tritium organiquement lié sur des échantillons de ce type par cette méthode. C'est pourquoi une deuxième méthode d'extraction à chaud a été testée dans le cadre de cette étude pour les échantillons de laitue.

2.2.4.2 Extraction à chaud

Cette méthode utilise un appareil de Soxhlet, traditionnellement utilisé en chimie analytique pour réaliser l'extraction à chaud d'un solide par un solvant. Ce type de système se compose d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche en cellulose, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction (Figure 24). Cet extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (dans notre cas, de l'eau de Volvic, considérée comme eau de référence de part sa très faible teneur en tritium). Un réfrigérant est adapté au dessus de l'extracteur. L'échantillon contenant les composés à extraire est placé dans la cartouche en cellulose. Quand le ballon est chauffé, la vapeur d'eau produite passe par le tube adducteur, se condense dans le réfrigérant et retombe dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer l'échantillon dans le solvant. L'eau condensée s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. De cette façon, l'eau contenue dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. Le cycle peut se répéter indéfiniment, jusqu'à épuisement complet du solide, d'où l'efficacité élevée de cette technique par rapport à la simple macération. Le dispositif est placé sous une atmosphère dépourvue en tritium suite au piégeage du **radionucléide** par bullage dans de l'eau de référence à l'entrée du système. L'échange est maintenu pendant trois jours puis l'eau d'échange (le solvant) est récupérée et distillée avant son analyse par scintillation liquide.

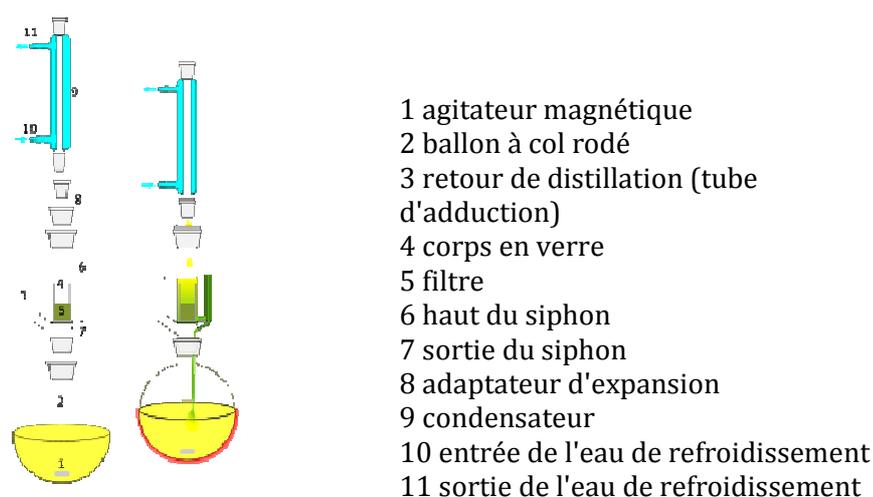


Figure 24 : Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet.

2.2.4.3 Limites de la méthode

Le **tritium organiquement lié échangeable** est défini chimiquement comme le tritium lié par des liaisons covalentes faibles à des hétéroatomes tels que l'azote, l'oxygène, le soufre... (Belot, 1986; Diabaté and Strack, 1993; Baglan et al., 2005). Ce type de liaison intervient notamment dans les fonctions amines, alcools, acides carboxyliques ou thiols de molécules organiques plus ou moins solubles ou extractibles à chaud. Cependant, les molécules qui présentent des atomes de tritium en position échangeable peuvent également comporter des atomes de tritium en position non échangeable. De ce fait, les deux méthodes d'extraction du tritium échangeable utilisées dans cette étude n'ont probablement pas permis la récupération de toutes les molécules présentant des atomes de tritium échangeable, mais ont pu induire la récupération de tritium non échangeable. En outre, l'ajout d'eau de référence en excès induit une dilution importante du tritium organique échangeable et a pu rendre parfois sa quantification délicate (faible activité).

2.2.5 EXTRACTION DU TRITIUM LIÉ PAR COMBUSTION ET OXYDATION CATALYTIQUE

L'extraction de la fraction de **tritium organiquement lié non-échangeable** a été réalisée grâce à un four permettant la combustion et l'oxydation catalytique de l'échantillon sec. D'autres techniques auraient pu être utilisées telles que : l'utilisation d'une bombe Parr (McFarlane, 1976; Kotzer and Workman, 1999; Davis et al., 2002), les techniques de plasma (Strack and Koenig, 1981; Fuma and Inoue, 1995) ou encore la distillation destructive graduelle de l'échantillon (Belot et al., 1986).

2.2.5.1 Description du four

Le principe de fonctionnement du four utilisé dans cette étude a été largement décrit dans la littérature (Bogen et al., 1973; Garland and Ameen, 1979; Guenot and Belot, 1984; Takashima et al., 1987; Lockyer and Lally, 1993; Kim and Baumgärtner, 1994; Brudenell et al., 1997; Pointurier et al., 2003). Ce dispositif est présenté par le schéma de la Figure 25 et les clichés de la Figure 26; il se compose de deux unités chauffantes traversées par un tube en quartz et d'un piège froid. Le premier four, mobile, permet la combustion progressive de l'échantillon; le deuxième four, fixe, contient un catalyseur qui conduit à l'élimination des impuretés (notamment des composés soufrés). Le catalyseur utilisé dans cette étude est de l'oxyde de cobalt (CoO) qui se présente sous la forme d'une poudre noire mélangée à des billes de quartz (90% en masse du mélange).

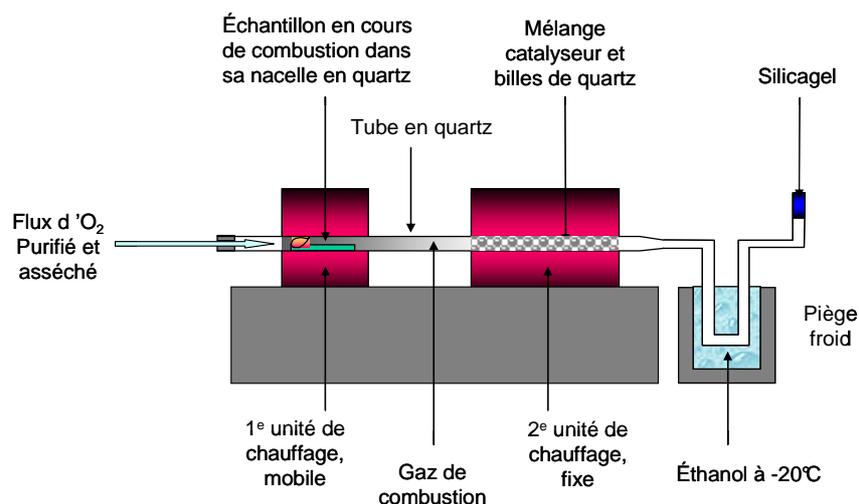


Figure 25 : Représentation schématique du dispositif d'extraction du tritium organiquement lié non échangeable.



Figure 26 : Clichés du four de combustion et d'oxydation catalytique des échantillons permettant l'extraction du tritium organiquement lié non échangeable.

A gauche, vue d'ensemble. A droite, four mobile à combustion et échantillon de laitue en phase d'ignition.

2.2.5.2 Combustion et oxydation catalytique

2.2.5.2.1 Déroulement de l'opération

La matière organique à brûler est disposée dans une nacelle en quartz puis placée dans le tube reliant les deux fours. Un flux d'oxygène d'une grande pureté balaye ce tube. En avançant, le four mobile entraîne la combustion de l'échantillon ; les gaz de combustion sont alors emportés par le flux d'oxygène vers le deuxième four, fixe, qui permet leur oxydation catalytique. En sortie du four, la vapeur d'eau résultant de la combustion est condensée dans un piège froid d'éthanol à

-25°C. Du silicagel placé en bout de système permet de s'assurer d'une perte minimale d'eau de combustion.

La masse d'échantillon brûlée doit être suffisante pour obtenir quelques millilitres d'eau de combustion afin de pouvoir ensuite procéder à la mesure de l'activité par scintillation liquide. Typiquement, la quantité d'eau de combustion recueillie est de 0,5 mL par gramme de laitue brûlée et de 0,05 mL par gramme de terre brûlée. Si la quantité de matière est trop faible, l'échantillon est brûlé avec une quantité d'eau de référence connue de manière à augmenter le volume d'eau recueillie en sortie de four. Il faut alors tenir compte du facteur de dilution (cf. Annexe B.3.2.2).

2.2.5.2.2 Paramètres de réglage

La température des deux fours, la vitesse du four mobile et le débit d'oxygène sont des paramètres importants qu'il convient d'ajuster en fonction de la nature de l'échantillon analysé afin d'assurer une combustion la plus complète possible (Pointurier et al., 2004; Baglan et al., 2005). Les études préalables menées au laboratoire ont permis d'optimiser ces paramètres pour les deux types de matrices brûlées. Ils sont récapitulés dans le Tableau 24.

	Température four mobile (°C)	Température four fixe (°C)	Débit d'oxygène (L h ⁻¹)
Feuilles de laitue	450 ± 10	800 ± 10	60
Terre de culture	600 ± 10	800 ± 10	60

Tableau 24 : Paramètres de réglage du four utilisés pour la combustion des différents types d'échantillons (plants de laitue et terre de culture).

2.2.5.2.3 Mesure du bruit de fond

Afin de mesurer la contribution du milieu ambiant lors des différentes étapes de traitement et de combustion des échantillons, un « blanc » a été réalisé avant chaque utilisation du four avec de l'eau très pauvre en tritium considérée comme eau de référence. Cette eau provient d'une nappe profonde et éloignée du centre de Valduc située à Vignoles, Côte d'Or. Le résultat obtenu a été considéré comme bruit de fond et déduit de chaque mesure sur la série d'échantillons brûlés ensuite. De même, un rinçage à l'eau de Vignoles a été effectué après chaque combustion d'échantillon.

Ces « blancs » ont également permis de contrôler le rendement de combustion du four en pesant la quantité d'eau recueillie en sortie du système par rapport à la quantité initialement introduite. Ce rendement est typiquement de l'ordre de 98 à 99%.

2.2.5.3 Traitement de l'eau de combustion : neutralisation et distillation

Les eaux issues des combustions d'échantillons biologiques peuvent être acides. Dans ce cas, le pH de l'échantillon doit être ramené entre 6 et 9 pour la mesure de l'activité tritium par scintillation liquide. Cette neutralisation s'effectue par ajout de faibles quantités de peroxyde de sodium (Na_2O_2) sous forme cristalline (Wood et al., 1993).

Par ailleurs, la distillation est indispensable dans le cas où l'eau est jugée d'une pureté insuffisante pour la mesure directe par scintillation liquide. La distillation permet ainsi d'enlever les contaminants organiques et minéraux indésirables qui auraient pu être entraînés lors de la combustion, ainsi que ceux issus de la neutralisation. Afin de limiter le phénomène d'enrichissement isotopique (Smith and Rawson, 1962; Wood et al., 1993), la totalité de l'eau de combustion récupérée doit être distillée et la température est augmentée en fin de distillation pour accroître le rendement de distillation de l'eau tritiée.

2.2.5.4 Calcul des activités en tritium organiquement lié

Le détail des calculs des activités en tritium organiquement lié dans les échantillons de laitue et de leur terre de culture, ainsi que des incertitudes associées, est présenté en Annexe B.3.2.

2.2.5.5 Validation et limites de la méthode

2.2.5.5.1 Bilan de matière

Afin de valider la technique analytique, un bilan de matière sur l'hydrogène au cours du processus de combustion a été établi pour vérifier que la masse d'eau recueillie en sortie de four correspond de façon quantitative à la combustion de l'échantillon. D'après les mesures C, H, O, N effectuées par le CNRS (Service Central d'Analyses, Solaize), la proportion massique d'hydrogène dans les échantillons secs de laitues est comprise entre 5,0 à 6,1% selon la feuille considérée et le stade de maturité des plants (cf. Tableau 11, Chapitre I). En faisant les hypothèses que la combustion est totale, et que l'hydrogène est l'élément limitant de la réaction d'oxydation, la quantité d'eau théoriquement formée au cours de la combustion a été déterminée en considérant une proportion massique d'hydrogène moyenne de 5,5 dans les plants. La comparaison des masses d'eau théoriquement produites et réellement mesurées pour un grand nombre d'échantillons a ainsi permis d'estimer la fiabilité de la technique de façon statistique.

La distribution statistique du rapport entre les masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites en fonction de la masse brûlée, obtenues pour un grand nombre d'échantillons de laitue sèche ($n = 181$), est présentée dans les Figure 27 et Figure 28. L'ensemble des valeurs présente une allure gaussienne, centrée autour d'une valeur moyenne du rapport proche de 1. Afin de vérifier cette distribution, nous avons appliqué nos données expérimentales à une densité de probabilité suivant la loi normale définie par la relation (32).

$$f(x) = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} \times \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (32)$$

Avec :

x	rapport entre les masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites
A	amplitude du rapport (x)
σ	écart-type de la distribution
μ	espérance mathématique de la distribution

Pour cela, une régression mathématique a été réalisée à l'aide du logiciel SigmaPlot® (Systat Software Inc, San Jose, Californie, USA). La fonction testée, définie par la relation (33), a permis de confirmer une distribution gaussienne ($r^2 = 0,98$) et de déterminer les paramètres de cette distribution.

$$f(x) = a \times \exp\left(-\frac{(x - x_0)^2}{2 \times b^2}\right) \quad (33)$$

où a , b et x_0 sont les paramètres de l'équation f , fonction du paramètre x .

Les paramètres x_0 et b correspondent respectivement à la moyenne et à la variance de la distribution de notre population suivant la loi normale. Les valeurs de ces paramètres obtenues par régression sont récapitulées dans le Tableau 25. L'espérance mathématique centrée autour de 0,99 fait apparaître que les masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites sont globalement cohérentes.

Paramètres de la régression	a	b	x_0	r^2
Signification mathématique	amplitude	écart-type	espérance mathématique	-
Valeurs calculées par régression	54,4	0,22	0,99	0,98

Tableau 25 : Valeurs des paramètres déterminés pour la distribution statistique du rapport entre les masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites en fonction de la masse brûlée, en appliquant une fonction gaussienne de type loi normale.

Néanmoins, la Figure 27 fait apparaître deux sous-populations de données. La première population correspond aux combustions réalisées sur des échantillons dont la masse est supérieure à 1 g ; les points sont compris dans la gaussienne établie précédemment. La deuxième population correspond aux combustions réalisées sur des échantillons dont la masse est inférieure à 1 g, pour laquelle les points sont plus dispersés autour de cette gaussienne. Ceci indique que la réponse du système est bonne pour les masses d'échantillons supérieures à 1 g,

mais que la méthode de mesure perd en fiabilité pour les faibles quantités de matière. En effet, l'erreur résiduelle associée à la phase de brûlage des échantillons est principalement liée à la variabilité biologique des échantillons, aux pertes d'eau qui peuvent survenir au niveau du piège froid de l'eau de combustion, à la présence d'impuretés (par exemple de traces de terre résiduelles) dans les échantillons mais également à l'ajout d'eau de référence lorsque la quantité de matière disponible pour le brûlage est trop faible. L'erreur commise est donc logiquement plus importante pour les faibles masses brûlées. Compte tenu des contraintes expérimentales, il n'a pas toujours été possible de travailler avec des masses supérieures à 1 g. Nous avons fait le choix de traiter tous les échantillons collectés, quelle que soit leur masse, en considérant que 85,6% de l'ensemble des valeurs du rapport entre les masses d'eau de combustion réellement mesurée et théoriquement produite sont comprises dans l'intervalle de 3 écarts-types autour de l'espérance mathématique (entre 0,33 et 1,65) d'après le tableau des classes présenté en Figure 28. En écartant les données obtenues pour des masses brûlées inférieures à 1 g, cette fraction est de 94,5%.

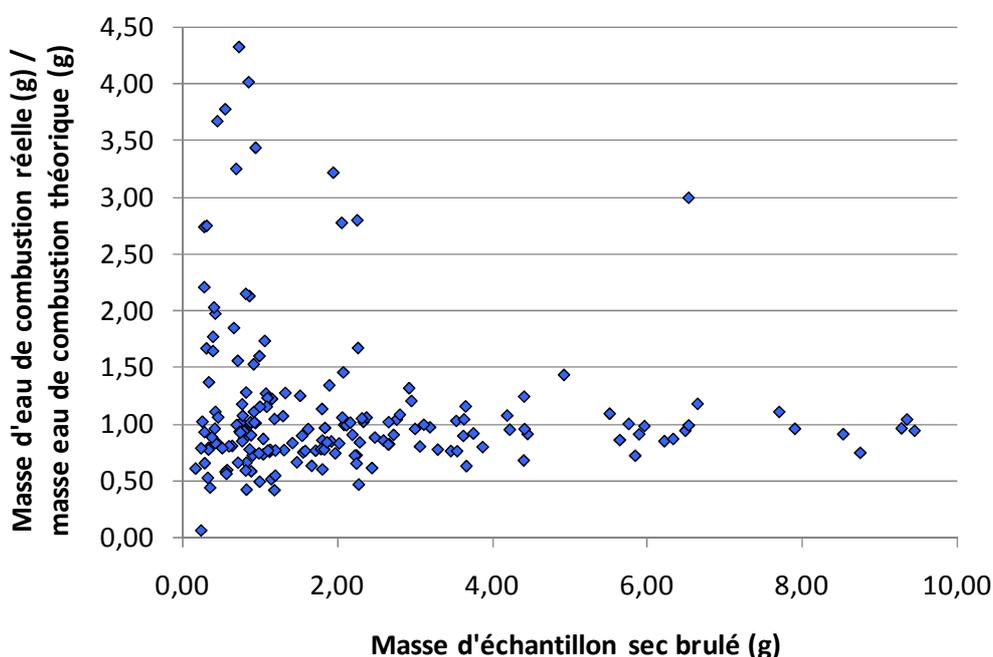


Figure 27 : Rapport entre la masse d'eau de combustion réellement mesurée et la masse d'eau de combustion théoriquement produite en fonction de la masse brûlée obtenue pour 102 échantillons de laitue secs. La masse d'eau de combustion théorique est obtenue à partir de la teneur en hydrogène moyenne des échantillons.

Rapport des masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites	Fréquence (%)	Rapport des masses d'eau de combustion réellement mesurées et théoriquement produites	Fréquence (%)
0 - 0,2	0,6	2,2 - 2,4	0,6
0,2 - 0,4	0,0	2,4 - 2,6	0,0
0,4 - 0,6	7,2	2,6 - 2,8	2,2
0,6 - 0,8	20,4	2,8 - 3,0	0,6
0,8 - 1,0	30,9	3,0 - 3,2	0,0
1,0 - 1,2	17,7	3,2 - 3,4	1,1
1,2 - 1,4	6,1	3,4 - 3,6	0,6
1,4 - 1,6	2,2	3,6 - 3,8	1,1
1,6 - 1,8	3,3	3,8 - 4,0	0,0
1,8 - 2,0	1,1	> 4,0	2,8
2,0 - 2,2	1,7		

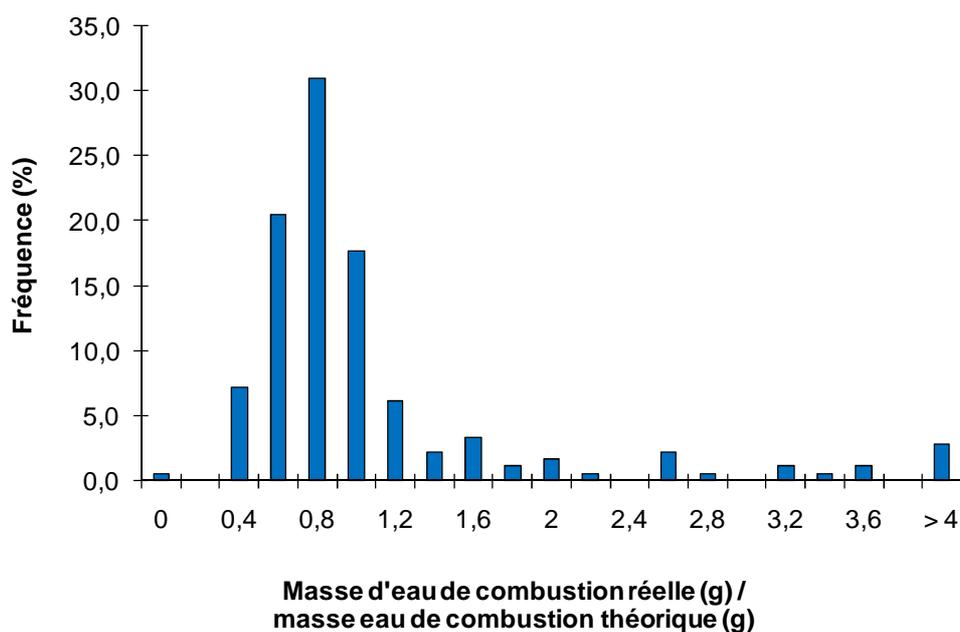


Figure 28 : Tableau des classes de valeurs et présentation graphique de la répartition statistique du rapport entre la masse d'eau de combustion réellement mesurée et la masse d'eau de combustion théoriquement produite à partir de la teneur en hydrogène moyenne de 102 échantillons de laitue secs.

2.2.5.5.2 Répétabilité de la mesure

Des mesures d'activité du tritium organique total ont été réalisées sur les échantillons de laitue prélevés lors des études cinétiques. Cependant, l'incorporation du tritium au sein des laitues en quelques heures n'a pu être détectée compte tenu des faibles activités atmosphériques relevées dans la chambre climatique au moment de l'exposition. De ce fait, les mesures d'OBT n'ont pas permis d'établir les cinétiques d'intégration du tritium sous forme organique dans les premières heures d'exposition.

Néanmoins, ces données peuvent être considérées comme des répétitions de mesure du tritium organique total sur des échantillons de laitue provenant du même lot de plantes, exposées en extérieur sur le site de Valduc durant leur croissance. L'analyse statistique de ces données fait apparaître un écart-type d'environ 40 à 50% autour de la valeur moyenne obtenue (cf. Tableau 26). Cette dispersion importante s'explique en partie par des incertitudes expérimentales élevées (cf. détail du calcul en Annexe B.3.3) mais également par une variabilité biologique importante du végétal d'étude. Il convient de garder cette notion à l'esprit pour l'exploitation ultérieure des mesures d'OBT effectuées au cours des différentes expériences d'exposition à long terme.

Lot de plants	n ^a	Activité OBT total minimale	Activité OBT total maximale	Activité OBT total moyenne	Ecart-type	Rapport moyenne / écart-type
Jeunes - éclaircissement	9	840	3220	1910	740	0,39
Jeunes - obscurité	8	1074	4943	2358	1239	0,53
Matures - éclaircissement	9	1584	6191	2819	1343	0,48
Matures - obscurité	7	1845	5736	3302	1387	0,42
Prémontaison - obscurité	8	1990	7005	3270	1715	0,52

^a n : nombre d'échantillons considérés

Tableau 26 : Activités minimales, maximales et moyennes mesurées dans l'eau de combustion de la fraction organique totale d'échantillons de laitue comparables en termes de développement et d'exposition au tritium ; écarts-types associés et rapports des écarts-types aux activités OBT moyennes.

3 METHODES NUMERIQUES ET STATISTIQUES

3.1 TRAITEMENT DES DONNEES CLIMATIQUES

Quels que soient le type et la durée de l'exposition des laitues au tritium, les conditions de température, pression et d'hygrométrie de l'air ont systématiquement été relevées toutes les deux minutes par un appareil spécifique (KH 200, Kimo, Montpon, France). Ce pas de temps très court a permis de connaître précisément les conditions climatiques qui ont accompagné la croissance des plantes mais a engendré un grand nombre de points pour chaque série de données. En fonction des calculs effectués, ces données ont fait l'objet de différents traitements numériques permettant d'établir des moyennes sur un jour entier (24 h), sur une semaine, ou sur les périodes d'éclairement et d'obscurité. Pour cela, des macros spécifiques créées en Visual Basic sous Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corporation) ont été utilisées.

3.2 REGRESSIONS STATISTIQUES

Certaines séries de données ont nécessité un traitement statistique (études cinétiques, courbes de croissance, courbes d'étalonnage de la méthode de Bradford, rendement de four...). Les régressions statistiques linéaires et non linéaires ont été effectuées en utilisant les solveurs numériques des logiciels Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corporation), Matlab et SigmaPlot® (Systat Software Inc, San Jose, Californie, USA). La procédure d'ajustement des paramètres a consisté à rechercher la solution permettant de minimiser la somme des carrés des écarts entre données observées et estimées (méthode des moindres carrés). Pour chaque régression le coefficient de détermination a été calculé.

3.3 CALCUL DES INCERTITUDES

Les calculs d'incertitude ont été effectués suivant les procédures internes du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement. Ces procédures sont basées sur les textes et normes suivants :

- NF X 07-001 : Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie (décembre 1994) (AFNOR, 1994),
- NF ENV 13005 NF X 07-020 : Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (Août 1999) (AFNOR, 1999a),
- Note technique du Laboratoire National Henri Becquerel, LNHB/04-13 : « Arrondissement des résultats de mesure – Nombre de chiffres significatifs » (Bé et al., 2004).

CONCLUSIONS

Deux axes d'études principaux ont été considérés pour l'exploitation des résultats obtenus sur la base des protocoles expérimentaux définis au Chapitre I et grâce aux techniques analytiques présentées dans ce chapitre. Le premier concerne l'étude des phénomènes d'absorption du tritium atmosphérique dans l'eau tissulaire des végétaux cibles. Pour cela, l'étude cinétique des transferts de la vapeur d'eau atmosphérique vers l'eau tissulaire des plants, depuis les premières heures d'exposition jusqu'à l'établissement de l'équilibre sera traitée dans le Chapitre III. Le deuxième axe d'étude s'intéresse à l'intégration du tritium sous forme organique, lors d'expositions de longue durée. Cet aspect sera détaillé dans le Chapitre IV.

RESULTATS



CHAPITRE III :

ETUDE DES TRANSFERTS DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE CHEZ LA LAITUE : ETUDE CINETIQUE ET ETAT D'EQUILIBRE

Introduction	161
1 Cinétique d'absorption de la vapeur d'eau tritiée dans les plants de laitue et dans leur sol de culture	162
1.1 <i>Cinétique d'absorption de la vapeur d'eau tritiée dans des plants de laitue</i>	162
1.1.1 Présentation des résultats	162
1.1.1.1 Jeunes plants	163
1.1.1.2 Plants matures	164
1.1.1.3 Plants en phase de prémontaison	165
1.1.2 Traitement des résultats	166
1.1.2.1 Présentation du modèle utilisé	166
1.1.2.2 Traitement à partir des activités HTO instantanées	167
1.1.2.3 Traitement à partir des activités HTO cumulées	167
1.1.2.4 Grandeurs caractéristiques fournies par le modèle	170
1.1.3 Discussion	171
1.1.3.1 Discussion générale	171
1.1.3.2 Rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ à l'équilibre	171
1.1.3.3 Influence des conditions d'éclairement et du stade de développement sur les cinétiques d'absorption	172
1.1.3.3.1 Influence des conditions d'éclairement	172
1.1.3.3.2 Influence du stade de développement	172
1.1.3.4 Comparaison des résultats aux données de la littérature	173
1.2 <i>Cinétique d'absorption de l'eau tritiée dans le sol</i>	176
1.2.1 Présentation des résultats	177
1.2.1.1 Sol des plants jeunes	177
1.2.1.2 Sol des plants matures	178
1.2.1.3 Sol des plants en prémontaison	179
1.2.2 Traitement des résultats	180
1.2.3 Discussion	182
1.2.3.1 Discussion générale	182
1.2.3.2 Influence des conditions d'éclairement et du stade de développement des plants sur les cinétiques d'absorption dans l'eau du sol	182
1.2.3.3 Comparaison des résultats aux données de la littérature	183
1.3 <i>Limites et perspectives</i>	185
2 Activité du tritium dans l'eau tissulaire des plants de laitue et dans leur sol de culture en situation d'équilibre	187
2.1 <i>Présentation des résultats</i>	187
2.1.1 Expositions en conditions contrôlées	189
2.1.2 expositions en conditions climatiques réelles	191
2.2 <i>Traitement des résultats</i>	193

Résultats :	160
Chapitre III, étude des transferts du tritium atmosphérique chez la laitue : étude cinétique et état d'équilibre	

2.3	<i>Discussion</i>	194
2.3.1	Discussion générale	194
2.3.2	Comparaison des résultats aux valeurs estimées par les modèles	195
Conclusions		196

INTRODUCTION

Les niveaux de tritium atmosphérique enregistrés à proximité d'une source de rejet ne sont jamais stables. Le transfert du tritium vers l'eau tissulaire des végétaux étant très rapide, les concentrations en tritium au sein de l'eau tissulaire du végétal varient de manière continue. L'exposition chronique au tritium correspond ainsi à une mise à l'équilibre perpétuelle entre la concentration en tritium dans l'eau tissulaire du végétal et les teneurs présentes dans l'environnement. L'étude cinétique de la mise en place de l'équilibre au cours des premières heures d'exposition constitue donc une première étape essentielle pour comprendre les mécanismes d'intégration du tritium sous forme organique et de ce fait, son éventuelle accumulation dans des végétaux d'intérêt alimentaire sur le long terme.

Le travail présenté dans ce chapitre a eu pour but d'étudier les transferts du tritium de l'air vers le végétal cible, la laitue, en considérant les deux approches dynamique et statique. Le premier objectif a été d'établir les cinétiques d'absorption du tritium sous forme d'eau tissulaire au sein des plantes, en réponse à une exposition atmosphérique de courte durée. Dans ce but, des expositions ont été réalisées dans la chambre de culture permettant de contrôler les paramètres climatiques et les niveaux de tritium atmosphérique suivant le protocole des études cinétiques décrit dans le premier chapitre. A l'issue de cette phase de mise à l'équilibre, le deuxième objectif a été de caractériser l'état stationnaire atteint pour les activités de l'eau tissulaire du végétal par rapport aux activités dans l'air. Pour cela, deux types d'expositions à long terme ont été réalisées respectivement dans la chambre de culture et en conditions climatiques réelles, selon le protocole établi dans le premier chapitre pour les expositions de longue durée.

1 CINÉTIQUE D'ABSORPTION DE LA VAPEUR D'EAU TRITIÉE DANS LES PLANTS DE LAITUE ET DANS LEUR SOL DE CULTURE

1.1 CINÉTIQUE D'ABSORPTION DE LA VAPEUR D'EAU TRITIÉE DANS DES PLANTS DE LAITUE

1.1.1 PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Les résultats obtenus au cours des différentes études cinétiques réalisées durant 24 h, sur des plants de laitues jeunes, matures et en phase de pré-maturation, en conditions d'éclairage ou d'obscurité (cf. protocole expérimental décrit au Chapitre I, paragraphe 3), sont présentés dans les Tableaux 27, Tableau 28 et Tableau 29.

Pour chaque série expérimentale, les échantillons de laitue ont présenté des teneurs en eau comparables. De ce fait, pour chaque expérience, les activités tritium mesurées dans l'eau tissulaire des plants de laitue (notées « TFWT » pour « Tissue Free Water Tritium ») peuvent être comparées aux activités relevées dans la vapeur d'eau de l'air (notées « HTO air instantanée » ou « HTO air cumulée » en fonction du mode de calcul considéré). Ces mesures d'activité de la vapeur d'eau atmosphérique (cf. Chapitre II, paragraphe 2.1) sont exprimées en Bq m⁻³ d'air ou en Bq L⁻¹ d'eau contenue dans l'air en se basant sur les relations (56) et (57), données en Annexe B.2.2.1.1, qui permettent de calculer la teneur en eau de l'air à partir des conditions de température et d'hygrométrie moyenne sur les périodes de temps considérées.

Pour toutes les expériences, des fluctuations de l'activité en tritium de l'air (HTO) ont été observées au cours de l'exposition. Ces fluctuations sont liées aux activités du bâtiment dans lequel la chambre climatique est placée, qui produit des rejets gazeux de façon irrégulière, et aux incertitudes de mesures. Afin de s'affranchir de ces variations et de pouvoir comparer les activités du tritium de l'eau tissulaire des laitues à celles de la vapeur d'eau de l'air (instantanée et cumulée), les ratios entre les activités en Bq L⁻¹ ($C_{\text{TFWT}}/C_{\text{HTO air instantanée}}$ et $C_{\text{TFWT}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$) ont été calculés pour chaque point de mesure.

Les mesures du tritium de l'eau tissulaire des plants laissés sous serre (« témoin »), ainsi que des mesures du tritium de l'air dans cette ambiance au cours de la semaine précédant le transfert des plants, sont également données dans les Tableaux 27, Tableau 28 et Tableau 29 pour comparaison avec les résultats obtenus en chambre climatique sur les plants exposés.

Certaines expériences ont été menées jusqu'à 48 h d'exposition. Toutefois, les plants de laitue manifestaient alors des symptômes de stress hydrique. Les résultats obtenus pour cette durée n'ont donc pas été considérés comme représentatifs du fonctionnement normal de la plante et ne sont pas présentés.

1.1.1.1 Jeunes plants

Durée d'exposition h	C _{TFWT}		C _{HTO air}						C _{TFWT} /C _{HTO air instantanée}		C _{TFWT} /C _{HTO air cumulée}	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	-	U (%)	-	U (%)		
Témoin	41	10	0,5	44	25	0,5	44	25	0,93	27	0,93	27
Conditions d'éclairement												
1	375	10	226	16761	16	226	16761	16	0,02	19	0,02	19
2	521	9	63	4621	22	151	11130	20	0,11	24	0,05	22
3	210	11	79	5718	16	129	9363	23	0,04	19	0,02	25
5	554	8	53	3716	17	99	6895	25	0,15	19	0,08	27
6	304	14	172	11928	20	111	7654	31	0,03	24	0,04	34
7	683	8	45	3074	31	103	7093	36	0,22	32	0,10	37
24	931	8	42	2964	20	59	4156	37	0,31	22	0,22	38
Conditions d'obscurité												
1	212	8	112	9179	21	112	9179	22	0,02	22	0,02	23
2	265	8	116	9609	24	114	9440	26	0,03	25	0,03	27
3	497	6	52	4299	18	97	8010	28	0,12	19	0,06	29
5	573	10	41	3344	20	74	5982	34	0,17	22	0,10	36
6	578	7	79	6403	27	75	6047	37	0,09	28	0,10	38
7	827	6	41	3248	19	70	5498	39	0,25	20	0,15	39
24	1913	6	88	6816	15	84	6480	40	0,28	16	0,30	41

Tableau 27 : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de jeunes plants de laitue (C_{TFWT}) après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements (C_{HTO air instantanée}) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement (C_{HTO air cumulée}) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air (C_{TFWT}/C_{HTO air instantanée} et C_{TFWT}/C_{HTO air cumulée}) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.1.1.2 Plants matures

Durée d'exposition h	C _{TFWT}		C _{HTO air}						C _{TFWT} /C _{HTO air instantanée}		C _{TFWT} /C _{HTO air cumulée}	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	-	U (%)	-	U (%)		
Témoin	138	13	2	196	19	2	196	19	0,70	23	0,70	23
Conditions d'éclairement												
2	298	9	61	4591	18	61	4591	18	0,06	20	0,06	20
3	406	12	89	6927	24	70	5438	30	0,06	27	0,07	32
5	740	9	69	5470	27	70	5493	32	0,14	28	0,13	34
6	1309	7	70	5674	18	70	5623	35	0,23	19	0,23	36
7	1148	7	92	7438	17	73	5908	37	0,15	18	0,19	38
8	1042	6	132	10876	17	80	6550	39	0,10	18	0,16	39
24	926	7	45	3696	13	57	4668	40	0,25	15	0,20	41
Conditions d'obscurité												
1	276	10	124	9884	23	124	9884	24	0,03	25	0,03	26
2	302	9	101	8204	27	113	9170	29	0,04	28	0,03	30
3	258	8	86	6666	20	104	8064	31	0,04	22	0,03	32
5	275	13	68	5748	18	88	7441	33	0,05	22	0,04	36
6	163	11	431	36671	14	138	11761	35	0,00	18	0,01	37
7	467	6	149	13286	17	140	12463	37	0,04	18	0,04	38
8	181	9	109	9531	15	136	11951	39	0,02	17	0,02	40
24	451	6	51	4219	12	80	6612	40	0,11	13	0,07	40

Tableau 28 : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue matures (C_{TFWT}) après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements (C_{HTO air instantanée}) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement (C_{HTO air cumulée}) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air (C_{TFWT}/C_{HTO air instantanée} et C_{TFWT}/C_{HTO air cumulée}) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.1.1.3 Plants en phase de prémontaison

Durée d'exposition h	C_{TFWT}		$C_{HTO\ air}$						$C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$		$C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	-	U (%)	-	U (%)		
Témoin	433	7	9	588	12	9	588	12	0,74	14	0,74	14
Conditions d'éclairement												
1	1626	5	262	15114	16	262	15114	16	0,11	17	0,11	17
2	2696	5	156	8743	19	207	11635	19	0,31	20	0,23	19
3	3311	5	94	5273	15	167	9372	21	0,63	16	0,35	22
5	4028	5	133	7547	14	152	8626	23	0,53	15	0,47	24
6	2802	5	196	11152	15	158	8994	27	0,25	16	0,31	27
7	5135	5	293	16514	16	174	9777	28	0,31	17	0,53	29
8	3893	5	518	29608	13	212	12103	30	0,13	14	0,32	30
24	4442	5	177	10058	13	188	10676	32	0,44	14	0,42	32
Conditions d'obscurité												
1	794	5	289	18164	14	289	18164	14	0,04	15	0,04	15
2	537	5	148	9294	16	215	13493	18	0,06	17	0,04	18
3	874	5	166	10602	14	197	12547	20	0,08	15	0,07	21
5	2050	5	146	10041	14	175	11999	22	0,20	15	0,17	23
6	2017	5	194	16706	17	177	15243	27	0,12	18	0,13	28
7	1863	5	98	8363	19	166	14163	30	0,22	20	0,13	30
8	3271	5	130	10978	15	161	13638	31	0,30	16	0,24	32
24	3186	5	109	8879	14	124	10111	33	0,36	15	0,32	33

Tableau 29 : Activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue en phase de prémontaison (C_{TFWT}) après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée en conditions d'éclairement ou d'obscurité; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements ($C_{HTO\ air\ instantanée}$) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ($C_{HTO\ air\ cumulée}$) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$ et $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.1.2 TRAITEMENT DES RESULTATS

1.1.2.1 Présentation du modèle utilisé

Différents modèles et relations ont été proposés dans la littérature afin d'exprimer les cinétiques d'absorption de l'eau tritiée par les plantes. Le plus fréquent consiste à exprimer la concentration en tritium dans l'eau tissulaire suivant une relation mathématique du premier ordre, fonction de l'activité à l'équilibre et du temps d'exposition (Kline and Stewart, 1974; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984) (cf. Etude Bibliographique, paragraphe 3.2.4.1), selon la relation (7). Ce type de modèle est théoriquement applicable pour des conditions d'exposition stables, mais peut néanmoins être utilisé pour l'exploitation de nos données puisque l'on considère des ratios d'activités ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$ et $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$) permettant de s'affranchir des variations de l'activité HTO dans l'air.

$$\frac{d\left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_t}{dt} = k \times \left(\left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_{eq} - \left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_t \right) \Leftrightarrow \left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_t = \left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_{eq} \times (1 - e^{-k.t}) \quad (7)$$

Avec :

$\left(\frac{C_{TFWT}^{laitue}}{C_{HTO}^{air}}\right)_t$	ratio de l'activité dans l'eau tissulaire de la plante et de l'activité dans la vapeur d'eau de l'air à l'instant t (sans unité)
$\left(\frac{C_{TFWT}^{plante}}{C_{HTO}^{air}}\right)_{eq}$	ratio de l'activité dans l'eau tissulaire de la plante et de l'activité dans la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre (sans unité)
k	constante d'absorption de l'eau tritiée (h^{-1})
t	temps écoulé depuis le début de l'exposition (h)

Le logiciel mathématique SigmaPlot® (Systat Software Inc, San Jose, Californie, USA) a été utilisé pour exploiter les résultats des différentes expériences suivant la relation (7). Pour cela, la démarche a consisté à rechercher, à partir des données expérimentales, la meilleure estimation au sens des moindres carrés des paramètres du modèle sigmoïde à plateau, à 2 paramètres, donné par la relation (34).

$$f(t) = a \times (1 - e^{-b.t}) \quad (34)$$

où a et b sont les paramètres de l'équation f , fonction du temps (t).

Le paramètre a déterminé par la régression permet d'accéder à la valeur du rapport de l'activité dans l'eau tissulaire de la plante et de l'activité dans la vapeur d'eau de l'air (C_{TFWT}/C_{HTO}

air) à l'état d'équilibre. Le paramètre b donne la valeur de la constante d'absorption de l'eau tritiée (noté k dans la relation (7)). Le temps nécessaire pour atteindre une valeur du ratio $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ égale à la moitié de la valeur d'équilibre, appelé « temps de demi-équilibre » est donné par la relation (35):

$$t_{eq1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (35)$$

Avec :

$t_{eq1/2}$ temps de demi-équilibre (h)
 k constante d'absorption de l'eau tritiée (h^{-1})

1.1.2.2 Traitement à partir des activités HTO instantanées

Les variations du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$ en fonction de la durée d'exposition sont présentées dans la Figure 29 (a, b, c). Les fonctions d'ajustement obtenues par régression au sens des moindres carrés appliqué à la relation (34) sont également fournies.

Le rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$ permet de relier finement l'absorption de tritium dans l'eau tissulaire des plants à l'activité HTO de l'air en fonction du temps d'exposition et de mettre en évidence l'influence de fluctuations de l'activité dans l'air sur les phénomènes d'absorption. Cette information est pertinente dans les premières heures d'exposition, pour lesquelles les prélèvements ont été espacés d'une heure environ, mais a moins de sens pour le prélèvement effectué à 24 h d'exposition. En effet, la mesure du tritium atmosphérique effectuée entre 8 h et 24 h d'exposition ne peut pas être considérée comme instantanée. De plus, les temps d'équilibre mis en évidence via la représentation du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ instantanée}$ en fonction du temps d'exposition sont largement supérieurs à 1 h pour toutes les expériences. L'utilisation de l'activité HTO cumulée pour l'établissement du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ peut donc apporter des informations complémentaires.

1.1.2.3 Traitement à partir des activités HTO cumulées

Les variations du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ en fonction de la durée d'exposition sont présentées dans la Figure 30 (a, b, c). Les fonctions d'ajustement obtenues par régression au sens des moindres carrés appliqué à la relation (34) sont également fournies. Ce rapport permet de relier l'absorption de tritium dans l'eau tissulaire des plants à l'activité HTO de l'air sur la période totale d'exposition atteinte à chaque prélèvement.

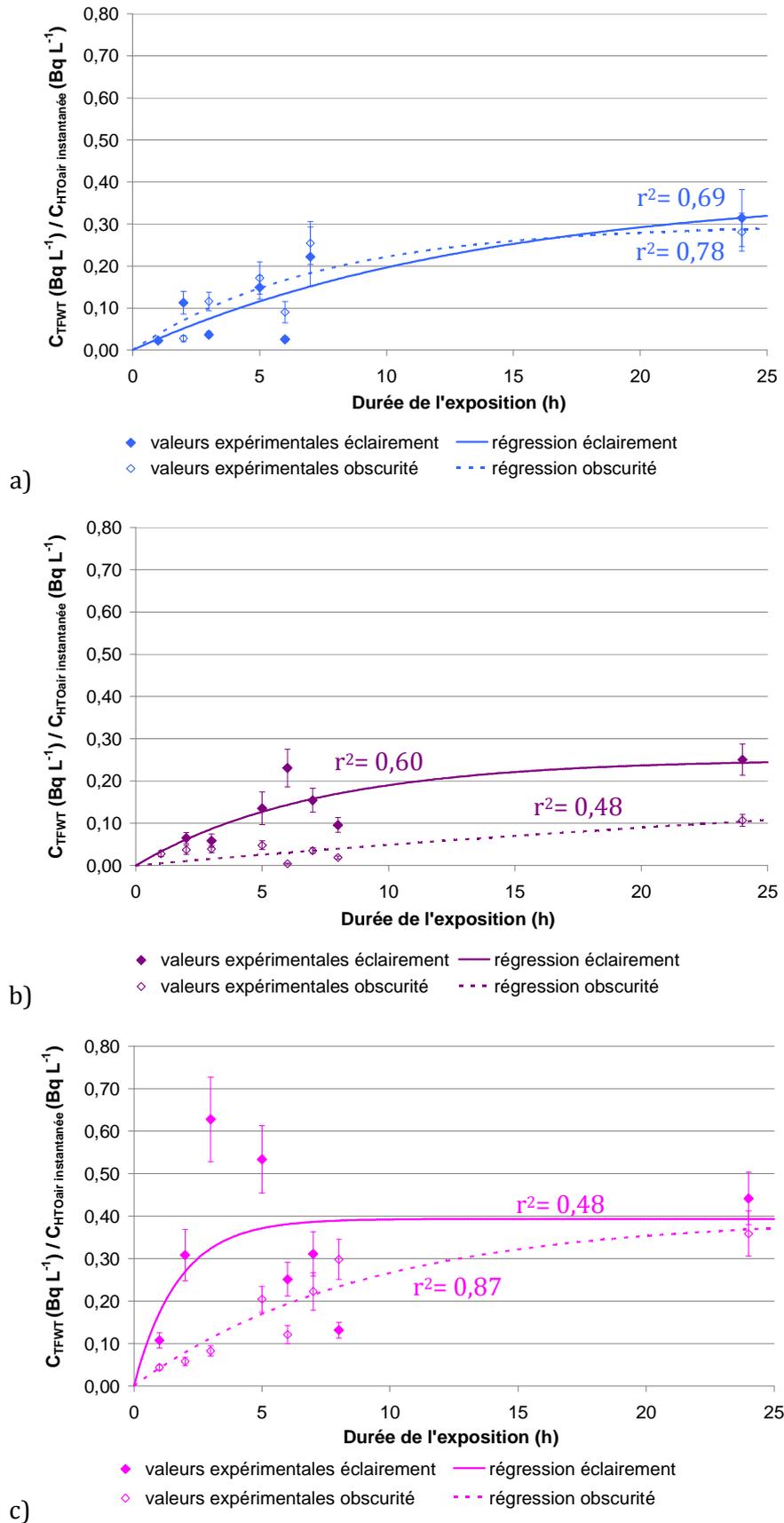


Figure 29 : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue jeunes (a), matures (b) et en phase de prématuration (c) et des activités HTO dans l'eau de l'air « instantanées » ($C_{TFWT}/C_{HTO\text{air instantanée}}$), après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclairage ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre.

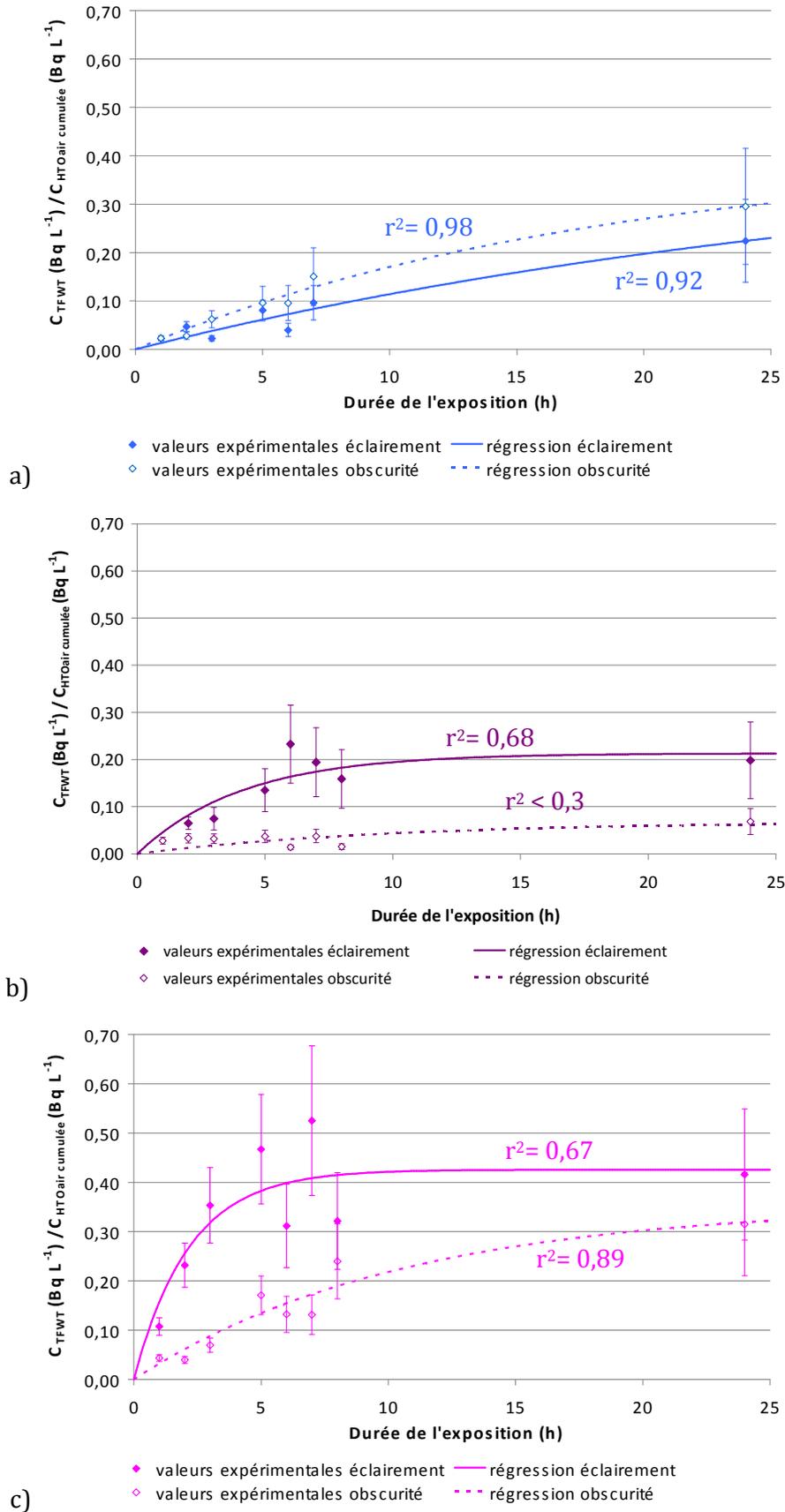


Figure 30 : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire de plants de laitue jeunes (a), matures (b) et en phase de pré-maturation (c) et des activités HTO dans l'eau de l'air « cumulées » depuis le début de l'exposition ($C_{TFWT}/C_{HTO \text{ air cumulée}}$), après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre.

1.1.2.4 Grandeurs caractéristiques fournies par le modèle

La relation (7) appliquée aux données obtenues au cours des 24 h d'exposition pour les six expériences (plants jeunes, matures, en prémontaison ; conditions d'éclairement et d'obscurité) a permis d'estimer la valeur du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ à l'équilibre, du taux horaire d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des plants et du temps de demi-équilibre pour chaque cas. Ces valeurs estimées pour les différentes expériences et pour les deux modes de calculs de l'activité HTO de l'air (instantanée et cumulée) sont regroupées dans le Tableau 30.

A l'exception des résultats obtenus pour l'expérience sur des plants matures en conditions d'obscurité, les valeurs observées pour les différents paramètres ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ à l'équilibre, k , $t_{1/2}$) sont relativement proches pour les deux modes de calcul de l'activité HTO de l'air (instantanée ou cumulée). Néanmoins, les régressions faites pour le rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ cumulée sont meilleures d'un point de vue statistique : les valeurs estimées par ce mode de calcul ont de ce fait été préférentiellement considérées pour l'exploitation des résultats.

Stade de développement des plants	Conditions expérimentales	$C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ à l'équilibre	Taux d'absorption horaire (k)	Temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$)	r^2
		-	h^{-1}	h	-
Valeurs $C_{HTO\ air}$ instantanée					
Eclairement	Jeunes	0,38	0,07	9,9	0,69
	Matures	0,25	0,14	5,0	0,60
	Prémontaison	0,39	0,57	1,2	0,48
Obscurité	Jeunes	0,30	0,13	5,3	0,78
	Matures	0,29	0,02	34,7	0,48
	Prémontaison	0,40	0,11	6,3	0,87
Valeurs $C_{HTO\ air}$ cumulée					
Eclairement	Jeunes	0,42	0,03	22,4	0,92
	Matures	0,21	0,24	2,9	0,68
	Prémontaison	0,43	0,46	1,5	0,67
Obscurité	Jeunes	0,41	0,05	12,8	0,98
	Matures	0,07	0,10	6,9	< 0,3
	Prémontaison	0,36	0,10	7,3	0,89

Tableau 30 : Rapport à l'équilibre des activités HTO dans l'eau tissulaire et dans la vapeur d'eau de l'air ambiant ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$), taux d'absorption horaire du tritium au sein de l'eau tissulaire (k) et temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$) estimés par régression mathématique de données expérimentales établies pour des plants de laitue jeunes, matures et en prémontaison placés en ambiance tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et coefficient de régression associé (r^2). Les mesures de l'activité HTO de l'air sont exploitées de deux façons : calcul de l'activité instantanée entre deux prélèvements (« $C_{HTO\ air}$ instantanée »), ou de l'activité cumulée depuis le début de l'exposition (« $C_{HTO\ air}$ cumulée »).

1.1.3 DISCUSSION

1.1.3.1 Discussion générale

Chez les jeunes plants de laitue, le rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ augmente de façon quasi-linéaire au cours du temps mais l'équilibre des activités n'est pas atteint dans un délai de 24 h d'exposition en conditions d'éclairement comme en conditions d'obscurité. Les valeurs du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ sont légèrement plus importantes en conditions d'obscurité, mais compte tenu des incertitudes associées aux mesures, il n'est pas possible de mettre en évidence une différence d'absorption du tritium significative d'un point de vue statistique en fonction de l'éclairement pour nos conditions expérimentales. Toutefois, l'hypothèse que l'absorption de tritium serait plus élevée à l'obscurité pour les jeunes plants ne peut être écartée. D'autre part, le modèle de régression utilisé semble bien adapté pour traduire le phénomène de transfert pour les deux modalités d'éclairement et les deux modes de calcul (instantané ou cumulé).

Dans le cas des plants matures, une différence importante d'absorption est observée entre les mesures effectuées en conditions d'éclairement et celles effectuées en conditions d'obscurité. L'équilibre de l'activité HTO de l'eau tissulaire des plants avec la teneur en tritium de l'humidité de l'air peut être considéré comme atteint au terme des 24 h d'exposition pour les conditions d'éclairement. En revanche, l'état stationnaire n'est atteint pour la même durée d'exposition en conditions d'obscurité que si l'on considère le calcul des activités HTO cumulées dans l'air. Néanmoins, les valeurs de ce rapport mesurées en conditions d'obscurité sont très faibles (inférieures à 0,10) quelque soit la durée d'exposition et le mode de calcul, et n'augmentent pas de manière significative pendant la durée de l'expérience. De ce fait, la régression mathématique effectuée sur ces résultats est donnée à titre indicatif mais ne peut pas être considérée comme fiable d'un point de vue statistique ($r^2 < 0,3$) pour le calcul prenant en compte les activités cumulées.

Les résultats obtenus sur les plants en phase de prémontaison font apparaître une absorption plus importante et plus rapide en conditions d'éclairement qu'en conditions d'obscurité. Une situation de pseudo-équilibre entre l'activité HTO de l'eau tissulaire des plants et la teneur en tritium de l'humidité de l'air est atteinte à la fin des 24 h d'exposition pour l'exposition réalisée en conditions d'éclairement. En revanche, l'état stationnaire n'est pas atteint pour la même durée d'exposition en conditions d'obscurité. De plus, pour les deux modalités d'éclairement et pour les deux modes de calcul considérés (instantané ou cumulé), les phénomènes d'absorption semblent relativement bien traduits par le modèle de régression.

1.1.3.2 Rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ à l'équilibre

A l'exception du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ calculé pour les plants matures en conditions d'obscurité, les valeurs du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ estimées à l'équilibre sont comprises entre 0,21 et 0,43, quels que soient les conditions d'éclairement et le mode de calcul de l'activité HTO dans l'air (instantané ou cumulé). Ceci semble indiquer que la valeur d'équilibre des activités de l'eau tissulaire et de la vapeur d'eau de l'air est indépendante des conditions d'éclairement. La valeur plus faible du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ à l'équilibre pour les plants matures en conditions d'obscurité demeure difficile à interpréter compte tenu de l'exploitation mathématique non significative dans ce cas ($r^2 < 0,3$).

Le rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ pour les plants témoins laissés hors de l'ambiance tritiée est de 0,93 pour les plants jeunes, de 0,70 pour les plants matures et de 0,74 pour les plants en phase de prémontaison. Cette valeur du ratio plus importante que celles déterminées par le modèle

pour les expositions en chambre climatique s'explique vraisemblablement par une absorption de tritium plus importante par l'eau du sol, qui présente des activités plus élevées dans le cas des plants témoins. Cet aspect sera précisé dans le paragraphe 1.2.

1.1.3.3 Influence des conditions d'éclairement et du stade de développement sur les cinétiques d'absorption

1.1.3.3.1 Influence des conditions d'éclairement

A l'exception du cas des plants jeunes, l'équilibre est atteint plus rapidement à la lumière qu'à l'obscurité. Ceci se traduit par un taux horaire d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des plants plus élevé en conditions d'éclairement qu'en conditions d'obscurité. Les échanges gazeux entre l'air et les feuilles associés à la photosynthèse sont probablement à l'origine de ce phénomène reporté dans la littérature (Kline and Stewart, 1974; McFarlane et al., 1979a; Garland, 1982; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984; Belot, 1986; Murphy, 1993; Diabaté and Strack, 1997) (cf. 1.1.3.4). En effet, les mécanismes d'ouverture/fermeture des **stomates** qui régulent ces échanges gazeux, notamment la diffusion de vapeur d'eau (tritiée ou non), sont contrôlés par un certain nombre de facteurs environnementaux dont la lumière. Il est donc cohérent de voir apparaître des temps de mises à l'équilibre plus longs à l'obscurité, lorsque les **stomates** sont partiellement fermés (cf. Etude bibliographique, paragraphes 3.1.2.2 et 3.2.2.2).

L'influence des conditions d'éclairement ou d'obscurité sur l'absorption du tritium de l'air dans les feuilles de jeunes plants de laitues n'a pas pu être mise en évidence. Toutefois, l'hypothèse d'une influence ne peut être écartée. Il est possible que les incertitudes importantes associées aux résultats masquent l'effet des conditions d'éclairement ou d'obscurité pour ces expériences.

1.1.3.3.2 Influence du stade de développement

En conditions d'éclairement, le taux d'absorption est d'autant plus rapide que les plants sont âgés. Parallèlement, les temps de demi-équilibre sont d'autant plus courts, allant de 1,5 h pour les plants en prémontaison à plus de 22 h pour les plants jeunes (calcul d'après les valeurs cumulées). La teneur en eau plus faible des jeunes laitues (85% en moyenne pour 92 à 95% dans les plants matures et en phase de prémontaison) peut être l'une des explications du taux d'absorption plus faible du tritium dans l'eau tissulaire de ces plants. D'autre part, la surface foliaire développée par les jeunes laitues par rapport à leur contenu en eau est beaucoup plus faible que celle atteinte à maturité des plants, ce qui limite également l'absorption foliaire du tritium de l'air dans les jeunes plants. Des résultats similaires sont décrits dans la littérature. En particulier, des taux d'absorption plus faibles (et de fait, des temps de mise à l'équilibre plus longs) ont été observés pour des feuilles de plants de tomates jeunes par rapport à des feuilles plus âgées (cf. Tableau 31, (Spencer, 1984)).

En conditions d'obscurité, les taux d'absorption du tritium au sein de l'eau libre sont globalement plus faibles qu'en conditions d'éclairement, à l'exception du cas des plants jeunes. Pour ces plants, les différences observées entre les deux modalités d'éclairement ne sont pas significatives d'un point de vue statistique. D'autre part, les valeurs du taux d'absorption en conditions d'obscurité sont relativement proches quel que soit le stade de développement considéré. Compte tenu de nos conditions d'observation, il n'est de ce fait pas possible de

conclure quant à l'influence ou non du stade de développement sur la vitesse d'absorption du tritium à l'obscurité.

1.1.3.4 Comparaison des résultats aux données de la littérature

Les principaux résultats obtenus au cours des différentes expériences de cinétique pour le mode de calcul de l'activité HTO de l'air « cumulé » sont comparés avec les résultats donnés dans la littérature dans le Tableau 31. Les valeurs du taux horaire d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des plants (k), du temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$) et du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ à l'équilibre déterminés par nos expériences sont globalement de l'ordre de grandeur des valeurs citées dans la littérature pour différentes espèces végétales.

La dispersion des résultats obtenus est relativement importante mais correspond à la dispersion des résultats donnés dans la littérature, comme l'illustre la Figure 31 présentant les rapports $C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$ à l'équilibre en fonction des temps de demi-équilibre pour nos conditions expérimentales et pour diverses expériences recensées dans la littérature. Ces résultats dispersés montrent que l'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des végétaux dépend fortement de l'espèce végétale, et des conditions expérimentales imposées.

Espèce végétale	Organes	Conditions expérimentales	$t_{eq1/2}$ (h)	k (h ⁻¹)	C_{TFWT}/C_{HTO} air cumulée (équilibre)
		T = 23 ± 2 °C HR = 60 – 75 %			
Feuilles de laitue (ce travail)	Plants jeunes	Eclairement	22,4	0,03	0,42
		Obscurité	12,8	0,05	0,41
	Plants matures	Eclairement	2,9	0,24	0,21
		Obscurité	6,9	0,10	0,07
	Plants en prémontaison	Eclairement	1,5	0,46	0,43
		Obscurité	7,3	0,10	0,36
		T = 20 – 25 °C HR = 50 - 70 %			
Tournesol (2 semaines) (Couchat et al., 1983)	Limbe des feuilles	Eclairement L ~ 240 μmol m ⁻² s ⁻¹	0,4*	1,73*	0,70*
		Obscurité	1,25*	0,55*	0,44*
	Vaisseaux conducteurs	Eclairement L ~ 240 μmol m ⁻² s ⁻¹	0,4*	1,73*	0,34*
		Obscurité	1,0*	0,69*	0,17*
Herbe (Kline and Stewart, 1974)	Feuilles	Eclairement (lumière du jour)	1,1	0,63	0,66*
	Tiges	Alternance éclaircissement/ obscurité	33	0,02	0,07*
Tomate (Spencer, 1984) (14 à 16 semaines)	Feuilles jeunes	Cycle alterné : 16h d'éclaircissement: T = 23°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 % L ~ 500 μmol m ⁻² s ⁻¹	29 – 37	0,019 - 0,024	0,43
	Feuilles âgées	8h d'obscurité : T = 18°C ± 1 °C HR = 62 ± 2 %	7	0,10	0,46
Laitue (Davis et al., 2002)	Feuilles	Cycle circadien	-	-	0,5
Herbe (Davis et al., 2002)	Tous	naturel (été)	-	-	0,32 – 0,84
		Cycle alterné : 16h d'éclaircissement: T = 23°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 % L ~ 360 μmol m ⁻² s ⁻¹			
Tomate et de concombre (Dinner et al., 1980)	Feuilles	8h d'obscurité : T = 18°C ± 1 °C HR = 70 ± 2 %	5	0,14	0,45 - 0,80

Rem. (*) : valeurs établies à partir de graphes donnés par les auteurs.

Tableau 31 : Valeurs estimées des taux horaires d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire de plants de laitue (k), du temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$) et du rapport C_{TFWT}/C_{HTO} air cumulée à l'équilibre, obtenues au cours des études cinétiques d'absorption réalisées sur des laitues jeunes, matures ou en phase de prémontaison exposées à une atmosphère tritiée, en conditions d'éclaircissement ou d'obscurité, et comparaison avec les données de la littérature pour diverses espèces végétales et différentes conditions climatiques lors de l'exposition (Kline and Stewart, 1974; Dinner et al., 1980; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984; Davis et al., 2002).

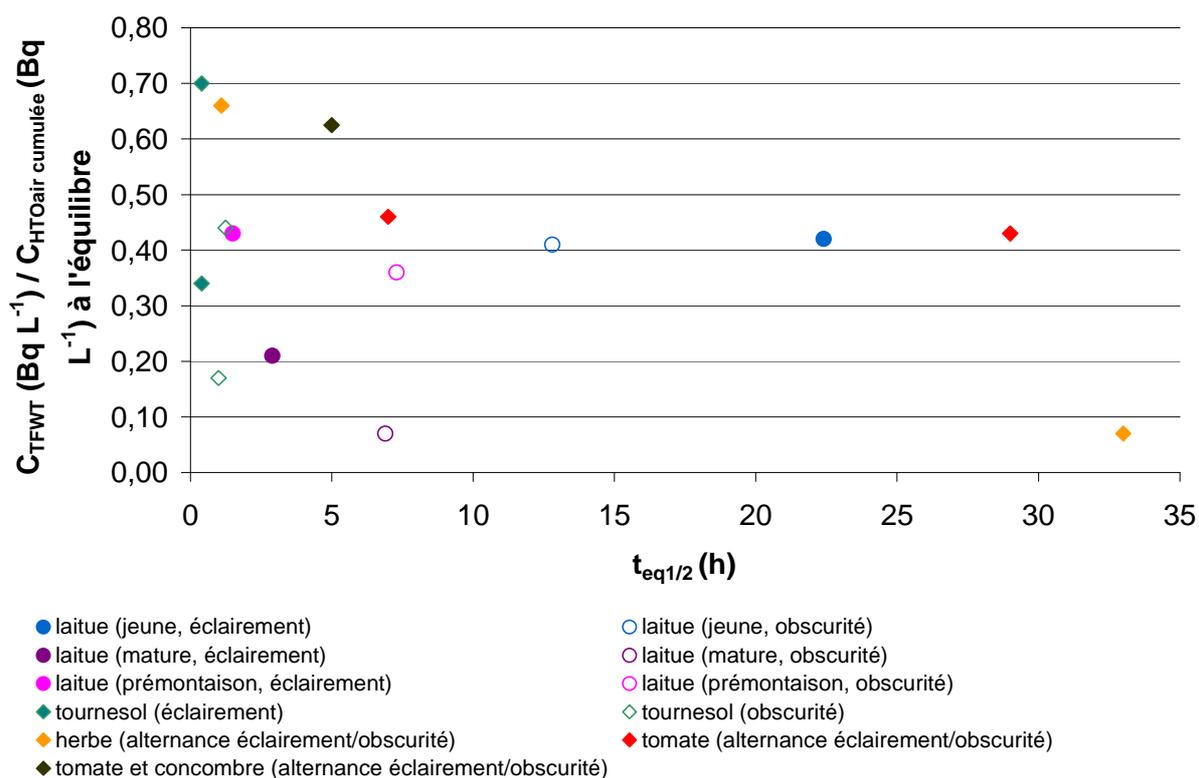


Figure 31 : Rapport des activités HTO dans l'eau tissulaire et dans la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$) mesurés au cours des études cinétiques d'absorption réalisées sur des laitues jeunes, matures ou en phase de prémontaison exposées à une atmosphère tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, en fonction du temps nécessaire pour atteindre la moitié de l'activité à l'équilibre dans les végétaux exposés ($t_{eq1/2}$), et comparaison avec les données de la littérature pour diverses espèces végétales et différentes conditions climatiques lors de l'exposition (Kline and Stewart, 1974; Couchat et al., 1983; Spencer, 1984).

1.2 CINÉTIQUE D'ABSORPTION DE L'EAU TRITIÉE DANS LE SOL

Les teneurs en eau des échantillons de sol prélevés dans les cinq premiers centimètres de surface au cours des différentes études cinétiques sont du même ordre de grandeur et représentent 12 à 20 % de la masse fraîche totale. De ce fait, les mesures d'activité dans l'eau du sol de culture (notées « HTO sol ») peuvent être comparées pour les différentes expériences.

Ces résultats, donnés sous forme de ratios entre les activités HTO dans l'eau du sol et dans la vapeur d'eau de l'air, sont regroupés dans les Tableau 32, Tableau 33 et Tableau 34. Les deux types de calcul de l'activité de la vapeur d'eau de l'air, « instantané » et « cumulé » sont à nouveau considérés.

Les mesures du tritium dans l'eau du sol des plants témoins, laissés sous serre, ainsi que des mesures du tritium de l'air dans cette ambiance au cours de la semaine précédent le transfert des plants, sont également données dans ces tableaux pour comparaison avec les résultats obtenus en chambre climatique.

1.2.1 PRESENTATION DES RESULTATS

1.2.1.1 Sol des plants jeunes

Durée d'exposition h	$C_{\text{HTO sol}}$		$C_{\text{HTO air}}$						$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantanée}}$		$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
Témoin	25	32	0,5	44	25	0,5	44	25	0,57	41	0,57	41
Conditions d'éclairement												
1	59	28	226	16761	16	226	16761	16	0,004	32	0,004	32
2	90	14	63	4621	22	151	11130	20	0,020	26	0,008	24
3	75	22	79	5718	16	129	9363	23	0,013	27	0,008	32
5	77	22	53	3716	17	99	6895	25	0,021	28	0,011	34
6	43	24	172	11928	20	111	7654	31	0,004	31	0,006	40
7	83	20	45	3074	31	103	7093	36	0,027	37	0,012	41
24	334	7	42	2964	20	59	4156	37	0,113	21	0,080	38
Conditions d'obscurité												
1	49	20	112	9179	21	112	9179	22	0,005	29	0,005	30
2	59	19	116	9609	24	114	9440	26	0,006	31	0,006	32
3	76	13	52	4299	18	97	8010	28	0,018	22	0,009	31
5	93	13	41	3344	20	74	5982	34	0,028	24	0,016	37
6	154	10	79	6403	27	75	6047	37	0,024	29	0,025	38
7	258	7	41	3248	19	70	5498	39	0,079	20	0,047	40
24	318	14	88	6816	15	84	6480	40	0,047	21	0,049	43

Tableau 32 : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de jeunes plants de laitue ($C_{\text{HTO sol}}$), en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements ($C_{\text{HTO air instantanée}}$) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ($C_{\text{HTO air cumulée}}$) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air ($C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantané}}$ et $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulé}}$) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.2.1.2 Sol des plants matures

Durée d'exposition h	$C_{\text{HTO sol}}$		$C_{\text{HTO air}}$						$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantanée}}$		$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)		U (%)	
Conditions d'éclairement												
2	81	9	61	4591	18	61	4591	18	0,018	20	0,018	20
3	84	12	89	6927	24	70	5438	30	0,012	27	0,016	32
5	113	9	69	5470	27	70	5493	32	0,021	28	0,021	34
6	196	7	70	5674	18	70	5623	35	0,035	19	0,035	36
7	120	7	92	7438	17	73	5908	37	0,016	18	0,020	38
8	159	6	132	10876	17	80	6550	39	0,015	18	0,024	39
24	395	7	45	3696	13	57	4668	40	0,107	15	0,085	41
Conditions d'obscurité												
1	18	75	124	9884	23	124	9884	24	0,002	78	0,002	79
2	68	8	101	8204	27	113	9170	29	0,008	28	0,007	30
3	77	8	86	6666	20	104	8064	31	0,012	22	0,010	32
5	28	42	68	5748	18	88	7441	33	0,005	46	0,004	54
6	87	25	431	36671	14	138	11761	35	0,002	29	0,007	43
7	170	7	149	13286	17	140	12463	37	0,013	18	0,014	38
8	-	-	109	9531	15	136	11951	39	-	-	-	-
24	196	8	51	4219	12	80	6612	40	0,046	14	0,030	41

Tableau 33 : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue matures ($C_{\text{HTO sol}}$), en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements ($C_{\text{HTO air instantanée}}$) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ($C_{\text{HTO air cumulée}}$) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air ($C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantané}}$ et $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulé}}$) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.2.1.3 Sol des plants en prémontaison

Durée d'exposition h	$C_{\text{HTO sol}}$		$C_{\text{HTO air}}$						$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantanée}}$		$C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$	
	Bq L ⁻¹	U (%)	Instantanée			Cumulée			-	U (%)	-	U (%)
Témoin	132	18	9	588	12	9	588	12	0,224	22	0,224	22
Conditions d'éclairement												
1	317	24	262	15114	16	262	15114	16	0,021	29	0,021	29
2	355	7	156	8743	19	207	11635	19	0,041	20	0,031	20
3	410	6	94	5273	15	167	9372	21	0,078	16	0,044	22
5	329	6	133	7547	14	152	8626	23	0,044	15	0,038	24
6	487	6	196	11152	15	158	8994	27	0,044	16	0,054	27
7	352	6	293	16514	16	174	9777	28	0,021	17	0,036	29
8	341	6	518	29608	13	212	12103	30	0,012	14	0,028	31
24	690	6	177	10058	13	188	10676	32	0,069	14	0,065	32
Conditions d'obscurité												
1	182	7	289	18164	14	289	18164	14	0,010	16	0,010	16
2	346	6	148	9294	16	215	13493	18	0,037	17	0,026	19
3	328	10	166	10602	14	197	12547	20	0,031	17	0,026	23
5	364	6	146	10041	14	175	11999	22	0,036	15	0,030	23
6	445	5	194	16706	17	177	15243	27	0,027	18	0,029	28
7	551	6	98	8363	19	166	14163	30	0,066	20	0,039	30
8	260	6	130	10978	15	161	13638	31	0,024	16	0,019	32
24	637	5	109	8879	14	124	10111	33	0,072	15	0,063	33

Tableau 34 : Activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue en phase de prémontaison ($C_{\text{HTO sol}}$), en conditions d'éclairement ou d'obscurité, après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition à une atmosphère tritiée ; activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air entre deux prélèvements ($C_{\text{HTO air instantanée}}$) et entre le début de l'exposition et chaque prélèvement ($C_{\text{HTO air cumulée}}$) ; rapports des activités HTO, en Bq L⁻¹, de l'eau tissulaire à celles de l'air ($C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantané}}$ et $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulé}}$) ; valeurs des incertitudes relatives associées (U). Les valeurs d'activité HTO de l'air données pour les plants témoins correspondent aux activités mesurées en extérieur durant la semaine précédant l'exposition.

1.2.2 TRAITEMENT DES RESULTATS

Le modèle décrit précédemment pour étudier l'absorption de tritium dans l'eau tissulaire des plants de laitue (cf. 1.1.2.1) est à nouveau utilisé pour l'exploitation des résultats obtenus dans l'eau du sol au cours des six expériences (eau du sol des plants jeunes, matures, en prémontaison ; conditions d'éclairement et d'obscurité).

Quelle que soit l'expérience considérée, les régressions au sens des moindres carrés appliquées à la relation (34) ne convergent pas pour les données correspondant au calcul du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air instantanée}}$ utilisant les activités HTO de l'air « instantanées ». D'autres fonctions mathématiques monotones croissantes, notamment des fonctions exponentielles et puissances, donnent des résultats satisfaisants d'un point de vue statistique pour certaines séries, mais aucune fonction mathématique permettant de rendre compte des résultats des six expériences n'a pu être établie.

En revanche, les régressions au sens des moindres carrés appliquées à la relation (34) pour les données du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$ utilisant les activités HTO de l'air « cumulées » convergent pour les six expériences. Ces régressions seront donc utilisées par la suite pour l'exploitation des résultats.

Les variations du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$ en fonction de la durée d'exposition sont présentées dans la Figure 32 (a, b, c). Les fonctions d'ajustement obtenues sont également fournies. Pour l'expérience correspondant à l'exposition de plants jeunes en conditions d'éclairement, le point à 24 h, très élevé au regard des mesures réalisées durant les 8 premières heures d'exposition, n'a pas été considéré de façon à obtenir une régression significative d'un point de vue statistique.

La relation (7) appliquée aux mesures d'activité dans l'eau du sol au cours des 24 h d'exposition permet d'estimer les valeurs du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$ à l'équilibre, le taux horaire d'absorption du tritium dans l'eau du sol (k) et le temps de demi-équilibre associé ($t_{\text{eq}1/2}$). Ces valeurs estimées pour les différentes expériences et pour le mode de calcul de l'activité HTO de l'air « cumulé » sont regroupées dans le Tableau 35.

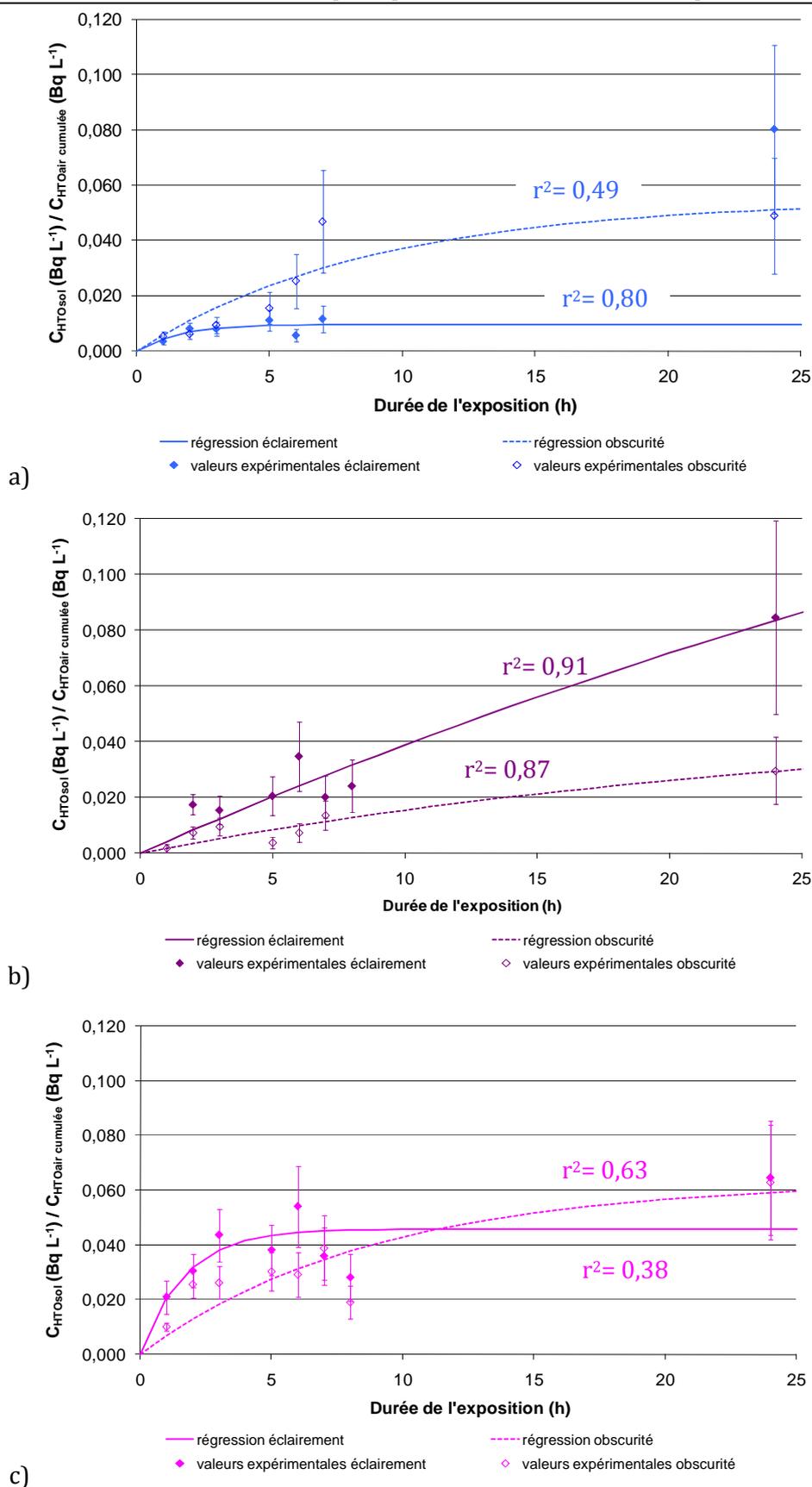


Figure 32 : Rapport des activités HTO mesurées dans l'eau du sol de culture de plants de laitue jeunes (a), matures (b) et en phase de pré-montaison (c) et des activités HTO dans l'eau de l'air « cumulées » depuis le début de l'exposition ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$), après 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h et 24 h d'exposition en conditions d'éclaircissement ou d'obscurité, et fonctions d'ajustement associées, estimées pour un modèle cinétique du premier ordre.

1.2.3 DISCUSSION

1.2.3.1 Discussion générale

Pour toutes les expériences, le rapport entre les activités HTO de l'eau du sol et de la vapeur d'eau de l'air ($C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$) augmente avec le temps d'exposition, mais n'atteint l'état d'équilibre au terme de l'expérience que dans le cas des plants jeunes et en phase de prémontaison, à l'obscurité. Dans les conditions expérimentales considérées, le temps nécessaire pour atteindre l'état stationnaire dans l'eau du sol est largement supérieur à 24 h dans la plupart des cas. La mise à l'équilibre des activités est donc nettement plus lente dans l'eau du sol que dans l'eau tissulaire des laitues. De ce fait, les activités dans le sol lors des expositions en chambre climatique se déroulant sur 24 h demeurent très faibles comparativement aux niveaux atmosphériques ; ces activités sont de l'ordre de 2 à 6 fois moins élevées que celles mesurées dans l'eau libre des plants de laitues pour des durées d'exposition identiques. L'absorption d'eau au niveau du sol par les plants conduit à un effet de « dilution » de l'activité absorbée par voie foliaire. Au contraire, les activités mesurées dans l'eau tissulaire des plants témoins résultent d'un équilibre établi sur un temps d'exposition beaucoup plus long (plusieurs semaines). L'eau du sol atteint dans ce cas l'état stationnaire et présente des activités plus importantes au regard de celles de l'air (ratio $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air cumulée}}$ compris entre 0,22 et 0,57). L'absorption de tritium par voie racinaire est alors significative, ce qui conduit à des ratios $C_{\text{TFWT}}/C_{\text{HTO air}}$ plus élevés pour les plants témoins.

1.2.3.2 Influence des conditions d'éclairement et du stade de développement des plants sur les cinétiques d'absorption dans l'eau du sol

En conditions d'obscurité, les valeurs du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air}}$ atteintes à l'équilibre convergent vers une valeur moyenne de 0,05 quel que soit le stade de développement des plants cultivés. En conditions d'éclairement, les valeurs de ce rapport sont en apparence très dispersées, s'échelonnant de 0,01 à 0,26. Néanmoins, la valeur la plus faible (0,01) a été obtenue par régression des points enregistrés pour le sol des plants jeunes durant les 7 premières heures d'exposition seulement. Les données expérimentales à 24 h pour cette série semblent indiquer une valeur du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air}}$ à l'équilibre plus élevée que celle prédite par la régression mathématique.

Les taux horaires d'absorption de l'eau tritiée par le sol (k) mesurés pour les expériences menées sur des plants jeunes et en phase de prémontaison sont très proches. Pour ces deux stades de développement, les taux horaires sont nettement supérieurs en conditions d'éclairement. En revanche, les taux mesurés sur les sols correspondant à la culture des plants matures sont inférieurs, en conditions d'éclairement comme d'obscurité. A ce stade de l'étude, nous ne disposons pas des informations biologiques nécessaires à la compréhension des phénomènes en jeu (profondeur d'enracinement, microorganismes...), qui expliqueraient ces résultats. Compte tenu de la multitude de paramètres impliqués dans l'absorption de tritium dans l'eau du sol non maîtrisés dans ces expériences, les données ne permettent pas de conclure à une influence ou non du stade de développement des plants et des conditions d'éclairement sur l'absorption de tritium par leur sol de culture.

1.2.3.3 Comparaison des résultats aux données de la littérature

Les principaux résultats obtenus au cours des différentes expériences sont comparés avec les résultats donnés dans la littérature dans le Tableau 35. Les valeurs du taux horaire d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des plants (k) et du temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$) en conditions de pseudo-équilibre sont relativement faibles comparées aux valeurs citées dans la littérature pour différents types de sol. Néanmoins, les vitesses d'absorption, liées aux vitesses de dépôt et de diffusion de HTO au sol, peuvent varier considérablement selon le type de sol (Belot et al., 1996). La vitesse moyenne de dépôt de HTO au sol est d'environ $5.10^{-4} \text{ m s}^{-1}$ pour toutes nos expériences à l'exception de celle réalisée sur des plants en prémontaison et en conditions d'éclairément, pour laquelle la vitesse de dépôt est de l'ordre de $2.10^{-3} \text{ m s}^{-1}$. Ces valeurs sont plus faibles que celles données comme références dans la littérature, de l'ordre de 10^{-1} à 10^{-3} m s^{-1} selon les conditions météorologiques et les propriétés de la surface considérée (Eisenbud et al., 1978; Garland, 1980; Belot et al., 1996; Galeriu et al., 2008). La présence des plants de laitue ainsi que d'une fine couche de terre sèche en surface du sol, du fait de l'absence d'arrosage durant toute la durée des expositions et de conditions hygrométriques relativement sèches, a pu accroître la résistance du sol à la pénétration par la vapeur. Ceci expliquerait les valeurs de dépôt relativement faibles, et de fait, le transfert limité du tritium de l'atmosphère vers l'eau du sol dans nos conditions expérimentales.

Expérience	Conditions expérimentales	$t_{eq1/2}$ (h)	k (h^{-1})	$C_{HTO\ sol} / C_{HTO\ air\ cumulé}$ (équilibre)	Coefficient de régression (r^2)
Sol brun à texture limoneuse (ce travail)	Plants jeunes / éclairement	1,11*	0,63*	0,010*	0,49*
	Plants jeunes / obscurité	6,11	0,11	0,055	0,80
	Plants matures / éclairement	42,8	0,02	0,260	0,91
	Plants matures / obscurité	18,5	0,04	0,050	0,87
	Prémontaison / éclairement	1,16	0,60	0,046	0,38
	Prémontaison / obscurité	6,10	0,11	0,063	0,63
Pas de précision sur la nature du sol. Prélèvement sur la couche 0 – 2 cm (Kline and Stewart, 1974)	-	125	0,005	-	-
Mélange 50% tourbe, 50% vermiculite (Spencer, 1984)	-	12	0,057	-	-
Sols sableux, 3 mesures réalisées en septembre (Golubev, 2003; IAEA, 2007a)	Conditions naturelles	-	-	0,13 – 0,34	-
Moyenne sur 20 mois (Täschner and Guinois, 2003; IAEA, 2007a)	Conditions naturelles	-	-	0,08 – 0,2	-
Moyenne de 7 mesures réalisées sur des sols sableux (Davis et al., 2002; IAEA, 2007a)	Conditions naturelles, période végétative	-	-	0,15 – 0,31	-

* calcul effectué sur les 7 premières heures d'exposition.

Tableau 35 : Rapport à l'équilibre des activités HTO dans l'eau du sol de culture de plants de laitue et dans la vapeur d'eau de l'air ambiant ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air\ cumulée}$), taux d'absorption horaire du tritium au sein de l'eau du sol (k) et temps de demi-équilibre ($t_{eq1/2}$) estimés par régression mathématique de données expérimentales établies pour les sols de culture de laitues jeunes, matures et en prémontaison placées en ambiance tritiée, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, et coefficient de régression associé (r^2) et comparaison avec les données de la littérature (Kline and Stewart, 1974; Spencer, 1984; Davis et al., 2002; Golubev, 2003; Täschner and Guinois, 2003; IAEA, 2007a).

1.3 LIMITES ET PERSPECTIVES

Les expériences d'exposition menées sur des plants de maturité différentes, en conditions d'éclairage ou d'obscurité, ont permis d'établir les cinétiques de transfert du tritium vers l'eau tissulaire du végétal cible en réponse à une exposition de courte durée, en conditions contrôlées. Néanmoins, certaines limites existent quant à l'interprétation de ces résultats.

En premier lieu, les conditions expérimentales imposées ne correspondent pas aux conditions environnementales naturelles. En effet, les conditions expérimentales ont été axées sur l'étude de l'influence du stade de développement et des conditions d'éclairage sur l'absorption du tritium dans l'eau des plantes et de leur sol de culture. A l'exception des conditions d'éclairage, les conditions climatiques imposées étaient les mêmes pour toutes les expériences. Ceci n'est pas représentatif des différences observées naturellement entre le jour et la nuit, pour lesquelles la température et l'hygrométrie de l'air varient de façon importante. De ce fait, les résultats obtenus en conditions d'éclairage ou d'obscurité ne permettent pas de faire apparaître des différences d'absorption du tritium statistiquement significatives pour tous les stades de développement. En particulier, il n'a pas été possible de distinguer les résultats obtenus pour les deux modalités d'éclairage sur de jeunes plants. De plus, le décalage des heures d'éclairage ou d'obscurité par rapport au **cycle circadien** naturel a pu perturber le fonctionnement physiologique normal des plants et conduire à l'absorption de quantités de tritium plus ou moins importantes par rapport aux conditions naturelles. Ce phénomène a pu être renforcé par des conditions d'hygrométrie relativement sèches au sein du bâtiment de travail comparativement aux niveaux naturels. Compte tenu de l'humidité importante du sol, le transfert de l'eau du sol vers la plante a probablement été favorisé par rapport à la voie foliaire. De nouvelles expériences développant de façon plus réaliste les différences climatiques entre les conditions « diurnes » et « nocturnes » permettraient probablement d'obtenir des résultats plus différenciés.

Outre les conditions expérimentales, il est possible que l'influence du stade de développement et des conditions d'éclairage ait parfois été masquée par la variabilité biologique des plants en réponse à des conditions de culture en extérieur différentes selon les lots. À ce stade de l'étude, nous ne disposons pas des informations biologiques nécessaires à la quantification de cette variabilité. Il serait intéressant à l'avenir de réaliser des répétitions de ces expériences en développant les mesures biologiques. Des paramètres non mesurés dans ces expériences, tels que la concentration en dioxyde de carbone de l'air, la profondeur d'enracinement des plants ou leur activité photosynthétique, apporteraient sans doute des éléments d'appréciation du stade de développement et de l'activité métabolique des plants complémentaires des indicateurs utilisés dans nos expériences. Ces données pourraient permettre d'évaluer l'écart de certains lots de plants par rapport à la croissance et au développement « moyens » attendus au regard de l'âge, de la masse et de la surface foliaire. Un développement ou une activité métabolique ralentis pourraient en effet expliquer certains phénomènes tels que l'absorption de tritium plus faible observée pour les plants matures et leur sol de culture par rapport aux autres stades de développement.

La comparaison des résultats obtenus pour nos conditions expérimentales à ceux de la littérature confirment que l'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des végétaux dépend fortement de l'espèce végétale, et des conditions expérimentales imposées. L'extrapolation des résultats obtenus dans le cadre de ces études cinétiques sur la laitue à d'autres espèces végétales demeure donc délicate. Dans le futur, des expériences d'exposition simultanée de différents végétaux, en conditions contrôlées, pourraient permettre d'apprécier la variabilité biologique entre espèces et, le cas échéant, les possibilités d'extrapolation de résultats.

Les cinétiques d'absorption du tritium dans l'eau du sol font apparaître des temps théoriques de mise à l'équilibre largement supérieurs à 24 heures dans la plupart des cas. Les

expériences réalisées dans le cadre de cette étude n'ont donc pas été menées sur des temps suffisamment longs pour atteindre l'état stationnaire. Les valeurs du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air}}$ à l'équilibre, du taux d'absorption et du temps de demi-équilibre sont de ce fait des valeurs extrapolées qu'ils convient de considérer avec prudence. Afin d'affiner ces paramètres, de nouvelles études cinétiques devront être menées pour des temps d'exposition plus longs, permettant d'observer l'absorption du tritium dans le sol depuis le début de l'exposition et jusqu'à la mise en place de l'équilibre.

Enfin, des critiques concernant le modèle mathématique utilisé pour l'exploitation des résultats peuvent également être formulées. Ce type de modèle est applicable à un grand nombre de distribution de données, mais d'autres fonctions mathématiques pourraient également être appliquées, notamment pour les mesures effectuées dans l'eau tissulaire des plants jeunes ou dans l'eau du sol. Une régression linéaire des résultats obtenus sur les plants jeunes donne par exemple de très bons résultats ($r^2 = 0,93$ et $0,95$ en conditions d'éclairement et d'obscurité respectivement). De plus, les coefficients de régression obtenus avec le modèle cinétique du premier ordre employé ne permettent pas de conclure d'un point de vue statistique pour toutes les séries d'expérience.

2 ACTIVITE DU TRITIUM DANS L'EAU TISSULAIRE DES PLANTS DE LAITUE ET DANS LEUR SOL DE CULTURE EN SITUATION D'EQUILIBRE

Le modèle cinétique considéré précédemment a permis d'estimer les niveaux d'équilibre entre les activités de l'eau tissulaire des plants de laitues, de leur sol de culture et les niveaux atmosphériques. Ces prédictions vont à présent être comparées aux résultats obtenus en situation d'équilibre vrai, lors d'expositions de longue durée afin de caractériser l'état stationnaire.

2.1 PRESENTATION DES RESULTATS

Les résultats obtenus au cours des différentes expositions à long terme en conditions contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) selon le protocole décrit au paragraphe 4 du Chapitre I, sont présentés dans les Tableau 36, Tableau 37, Tableau 38 et Tableau 39.

Pour chaque série expérimentale, les échantillons de laitue présentent des teneurs en eau comparables. De ce fait, pour chaque expérience, les activités tritium mesurées dans l'eau tissulaire des plants de laitue (notées « TFWT » pour « Tissue Free Water Tritium ») peuvent être comparées aux activités relevées dans la vapeur d'eau de l'air (notées « HTO air »). Les activités sont exprimées en Bq m^{-3} d'air ou en Bq L^{-1} d'eau contenu dans l'air en se basant sur les relations (56) et (57), données en Annexe B.2.2.1.1, qui permettent de calculer la teneur en eau de l'air à partir des conditions de température et d'hygrométrie moyenne sur les périodes de temps considérées.

Pour toutes les expériences, réalisées en chambre climatique ou en extérieur, des fluctuations importantes de l'activité en tritium de l'air (HTO) sont observées au cours du temps. Ces fluctuations sont liées aux activités irrégulières du bâtiment dans lequel se trouve la chambre climatique, situé à proximité des cultures extérieures. Afin de s'affranchir de ces variations et de pouvoir comparer les résultats de ces expériences aux valeurs d'équilibre obtenues à l'issue des études cinétiques, les ratios des activités du tritium de l'eau tissulaire des laitues et de leur sol de culture à celles de la vapeur d'eau de l'air ($C_{\text{TFWT}}/C_{\text{HTO air}}$ et $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air}}$) sont établis pour chaque point de mesure (cf. Tableau 37 et Tableau 39).

Il a été établi dans le paragraphe 1.1 de ce chapitre que l'équilibre des activités au sein de l'eau tissulaire des laitues est atteint en quelques heures. Pour cette raison, les mesures d'activité dans l'air pour les expériences réalisées en conditions contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2), présentées dans le Tableau 36 et utilisées pour le calcul des ratios du Tableau 37, correspondent au fonctionnement des systèmes de barbotage durant les 24 heures qui précèdent le prélèvement, comprenant une période d'éclairement (de 6 h à 21 h) et une période d'obscurité (de 21 h à 6 h). Ces valeurs d'activité dans l'air sont néanmoins représentatives des niveaux d'exposition tout au long des expositions, et peuvent être également considérées pour l'étude de l'état stationnaire dans le sol, dont la mise en place dépasse généralement 24 h (cf. paragraphe 1.2). En revanche, en raison des faibles niveaux d'exposition dans le cas des expériences réalisées en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2), les activités du tritium atmosphérique présentées et utilisées dans les Tableau 38 et Tableau 39 sont mesurées sur des

périodes d'une semaine. Le lecteur intéressé trouvera le détail des relevés climatiques et des mesures d'activité du tritium dans l'air tout au long de ces expériences en Annexe C.

2.1.1 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CONTROLEES

Durée d'exposition j	C _{HTO air}			C _{TFWT}		C _{HTO sol} 5 cm supérieurs		C _{HTO sol} 5 cm inférieurs	
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)
CLIM-1									
9	168	13719	25	5609	5	1221	7	-	-
16	175	14795	27	7488	7	5153	5	-	-
23	201	15396	27	6961	9	-		-	-
27	175	16171	30	6169	9	3181	6	-	-
30	270	20630	28	7100	9	5176	5	-	-
34	198	15833	28	7446	10	4612	6	2065	5
37	164	11967	26	7564	5	1972	6	6529	8
41	235	17103	25	7713	10	3839	6	1228	6
44	197	14207	25	7337	9	3111	6	-	-
48	176	12269	31	4296	9	3622	5	1047	6
55	135	12717	46	4951	9	2142	5	663	6
62	137	12762	40	5107	9	-	-	-	-
Témoin 1 (arrosé)						2190	5	521	7
Témoin 2 (non arrosé)						sec	-	sec	-
CLIM-2									
18	1780	8724	13	4388	11	2426	6	1252	7
21	168	10051	13	5480	11	2330	5	704	6
25	240	14100	13	5486	9	1251	6	3320	5
32	100	6693	13	3863	10	2284	5	786	7
35	144	8787	13	3110	7	2054	5	705	5
39	91	6447	13	4420	9	2336	5	1674	5
42	53	3696	13	1218	10	1771	5	851	5
45	46	3417	13	2343	9	1443	5	555	6
54	108	6977	13	2756	7	1535	5	343	7

Tableau 36 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO air}), dans l'eau tissulaire des plants (C_{TFWT}) et dans l'eau du sol de culture (C_{HTO sol}) en surface (5 cm supérieurs) et au fond des pots (5 cm inférieurs) lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et incertitudes associées (U). Les mesures de l'activité dans l'air correspondent au fonctionnement des systèmes de barbotage durant les 24 heures qui précèdent le prélèvement, comprenant une période d'éclaircissement (de 6 h à 21 h) et une période d'obscurité (de 21 h à 6 h).

Durée d'exposition	$C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$		$C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$				$C_{TFWT}/C_{HTO\ sol}$			
			5 cm supérieurs		5 cm inférieurs		5 cm supérieurs		5 cm inférieurs	
j	-	U (%)	-	U (%)	-	U (%)	-	U (%)	-	U (%)
CLIM-1										
9	0,41	26	0,09	26	-	-	4,59	9	-	-
16	0,51	28	0,35	28	-	-	1,45	9	-	-
23	0,45	28	-	-	-	-	-	-	-	-
27	0,38	31	0,20	30	-	-	1,94	11	-	-
30	0,34	29	0,25	28	-	-	1,37	10	-	-
34	0,47	29	0,29	28	0,13	28	1,61	12	3,60	11
37	0,63	27	0,16	27	0,55	27	3,84	8	1,16	9
41	0,45	27	0,22	26	0,07	26	2,01	12	6,28	12
44	0,52	27	0,22	26	-	-	2,36	11	-	-
48	0,35	32	0,30	32	0,09	32	1,19	10	4,10	11
55	0,39	47	0,17	47	0,05	47	2,31	10	7,46	11
62	0,40	41	0,03	41	0,01	41	13,87	11	73,74	12
Moyenne	0,44	-	0,21	-	0,15	-	2,3	-	4,5	-
Ecart-type	0,08	-	0,09	-	0,20	-	1,1	-	2,5	-
CLIM-2										
18	0,50	17	0,28	13	0,14	13	1,8	11	3,5	11
21	0,55	17	0,23	13	0,07	13	2,4	11	7,8	11
25	0,39	16	0,09	13	0,24	13	4,4	9	1,7	9
32	0,58	16	0,34	13	0,12	13	1,7	10	4,9	10
35	0,35	15	0,23	13	0,08	13	1,5	7	4,4	7
39	0,69	16	0,36	13	0,26	13	1,9	9	2,6	9
42	0,33	17	0,48	13	0,23	13	0,7	10	1,4	10
45	0,69	16	0,42	13	0,16	13	1,6	9	4,2	9
54	0,40	15	0,22	13	0,05	13	1,8	7	8,0	7
Moyenne	0,50	-	0,30	-	0,15	-	2,0	-	4,3	-
Ecart-type	0,14	-	0,12	-	0,08	-	1,0	-	2,4	-

Tableau 37 : Rapports des activités HTO de l'eau tissulaire des plants à celle de l'eau du sol de culture ($C_{TFWT}/C_{HTO\ sol}$) et rapports des activités HTO de ces deux fractions à celle de la vapeur d'eau de l'air ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ et $C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$), mesurés lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et incertitudes associées (U).

2.1.2 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES

Durée d'exposition j	$C_{\text{HTO air}}$			C_{TFWT}		$C_{\text{HTO sol}}$	
	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)
EXT-1							
13	8,7	778	13	586	8	173	18
18	16,3	1468	14	389	9	155	11
26	8,7	667	15	160	15	98	7
33	11,8	1104	21	320	6	361	5
40	4,1	343	13	64	15	54	9
47	8,5	595	12	401	7	283	6
54	14,4	1101	12	341	5	354	5
61	18,9	1647	12	742	5	400	5
76	17,0	1570	14	494	5	-	-
EXT-2							
7	3,1	320	17	111	16	69	19
14	9,6	1058	14	240	11	81	6
21	14,4	1608	13	304	6	144	6
27	7,1	690	15	216	6	147	5
34	5,4	469	12	136	10	102	7
42	5,0	516	12	572	5	80	7
48	3,7	544	14	139	6	80	7
55	3,0	404	13	361	5	82	7
Témoin 1 (arrosé, couvert)						-	-
Témoin 2 (arrosé, non couvert)						211	5
Témoin 3 (non arrosé, couvert)						sec	-
Témoin 4 (non arrosé, non couvert)						sec	-

Tableau 38 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air ($C_{\text{HTO air}}$), dans l'eau tissulaire des plants (C_{TFWT}) et dans l'eau du sol de culture ($C_{\text{HTO sol}}$) lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) et incertitudes associées (U). Les mesures de l'activité dans l'air correspondent au fonctionnement des systèmes de barbotage durant la semaine précédant le prélèvement.

Durée d'exposition j	$C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$		$C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$		$C_{TFWT}/C_{HTO\ sol}$	
	-	U (%)	-	U (%)	-	U (%)
EXT-1						
13	0,75	15	0,22	22	3,4	20
18	0,26	17	0,11	18	2,5	14
26	0,24	21	0,15	16	1,6	17
33	0,29	22	0,33	22	0,9	8
40	0,19	20	0,16	16	1,2	17
47	0,67	14	0,48	14	1,4	9
54	0,31	13	0,32	13	1,0	7
61	0,45	13	0,24	13	1,9	7
76	0,31	14	-	-	-	-
Moyenne	0,39	-	0,25	-	1,7	-
Ecart-type	0,20	-	0,12	-	0,8	-
EXT-2						
7	0,35	23	0,22	25	1,6	25
14	0,23	18	0,08	15	3,0	13
21	0,19	14	0,09	14	2,1	8
27	0,31	16	0,21	16	1,5	8
34	0,29	16	0,22	14	1,3	12
42	1,11	13	0,15	14	7,2	9
48	0,26	15	0,15	16	1,7	9
55	0,89	14	0,20	15	4,4	9
Moyenne	0,45	-	0,16	-	2,8	-
Ecart-type	0,35	-	0,06	-	2,0	-

Tableau 39 : Rapports des activités HTO de l'eau tissulaire des plants à celle de l'eau du sol de culture ($C_{TFWT}/C_{HTO\ sol}$) et rapports des activités HTO de ces deux fractions à celle de la vapeur d'eau de l'air ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ et $C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$), mesurés lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) et incertitudes associées (U).

2.2 TRAITEMENT DES RESULTATS

Des modèles statiques ont été proposés dans la littérature pour décrire les activités dans l'eau tissulaire des plantes en cas d'exposition chronique. Quelques-uns de ces modèles sont détaillés dans le paragraphe 4.3.1 du chapitre de synthèse bibliographique. Deux modèles sont ici appliqués aux données obtenues au cours des expositions de longue durée, en conditions climatiques contrôlées ou réelles. Il s'agit du modèle de Belot (Belot, 1986) rappelé par la relation (27) et d'une variante de ce modèle définie par la relation (28), tenant compte du rapport isotopique entre ^3H et ^1H à l'équilibre dans l'eau et dans la vapeur, à travers le facteur de séparation isotopique β (Belot et al., 1979; Garland, 1982; Couchat et al., 1983; Murphy, 1984; Amano and Kasai, 1988; Amano and Garten, 1991; IAEA, 2007a). Ce modèle a notamment été retenu dans le document technique faisant suite au programme EMRAS de l'AIEA (IAEA, 2007a).

$$C_{TFWT}^{plante} = (1 - H) \times C_{HTO}^{sol} + C_{HTO}^{air} \quad (27)$$

Avec:

H	humidité relative de l'air (%)
C_{TFWT}^{plante}	activité de l'eau tissulaire de la plante (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{sol}	activité de l'eau du sol (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{air}	activité de la vapeur d'eau de l'air (Bq L ⁻¹)

$$C_{TFWT}^{plante} = \beta \times \left(H \times \frac{C_{HTO}^{air}}{H_a} + (1 - H) \times C_{HTO}^{sol} \right) \quad (28)$$

Avec:

β	facteur de séparation isotopique ($^3\text{H}/^1\text{H}$) ; $\beta = 1,1$
H	humidité relative de l'air (%)
H_a	humidité absolue de l'air (L m ⁻³)
C_{TFWT}^{plante}	activité de l'eau tissulaire de la plante (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{sol}	activité de l'eau du sol (Bq L ⁻¹)
C_{HTO}^{air}	activité de la vapeur d'eau de l'air (Bq L ⁻¹)

Les modèles utilisés font appel aux valeurs d'activité mesurées dans l'eau du sol. Afin de considérer les mêmes paramètres pour le calcul à partir des expériences en conditions contrôlées et réelles, une moyenne des activités mesurées en surface (5 cm supérieurs) et au fond des pots (5 cm inférieurs) est considérée pour les expériences en conditions contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2). Le rapport des activités prédites par les modèles aux activités réellement mesurées dans l'eau tissulaire des plants, moyenné sur l'ensemble des points de chaque série

expérimentale en conditions climatiques contrôlées ou réelles, ainsi que les valeurs des écarts-types associés, sont présentés dans le Tableau 40.

	rapport prédiction / mesure	
	Modèle de Belot	Modèle TRS-364
CLIM-1	2,5 ± 0,5	1,7 ± 0,4
CLIM-2	2,2 ± 0,6	1,9 ± 0,5
EXT-1	3,4 ± 1,4	2,5 ± 1,1
EXT-2	3,3 ± 1,6	2,3 ± 1,0

Tableau 40 : Rapport moyen des activités prédites par les modèles aux activités mesurées dans l'eau tissulaire des plants lors des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et réelles (EXT-1 et EXT-2) et valeurs des écarts-types associés.

2.3 DISCUSSION

2.3.1 DISCUSSION GENERALE

Les ratios de l'activité en tritium de l'eau tissulaire des plants à celle de l'atmosphère ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$) ou à celle de l'eau du sol ($C_{TFWT}/C_{HTO\ sol}$) présentent respectivement des valeurs identiques en conditions contrôlées (expériences CLIM-1 et CLIM-2) et en conditions climatiques réelles (expériences EXT-1 et EXT-2), et ce malgré des niveaux d'exposition variant d'un facteur 10 environ entre les deux types d'expérience. Le niveau d'activité atmosphérique ne semble donc pas avoir d'influence sur les valeurs d'équilibre des activités du tritium au sein de l'eau tissulaire des plants.

Pour les quatre expériences, la valeur du rapport des activités de l'eau tissulaire des plants et de la vapeur d'eau de l'air ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$) est globalement constante et égale tout au long de la période d'exposition, ce qui valide l'hypothèse d'un état stationnaire. La valeur moyenne de ce rapport est de l'ordre de 0,47 en conditions contrôlées (0,44 pour l'expérience CLIM-1, 0,50 pour l'expérience CLIM-2) et de 0,40 en conditions climatiques réelles (0,39 pour l'expérience EXT-1, 0,45 pour l'expérience EXT-2). Les variations de température ou d'hygrométrie enregistrées pendant les expositions sont probablement à l'origine des fluctuations autour de ces valeurs moyennes, et des valeurs du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ plus élevées obtenues pour les plants témoins des études cinétiques (comprises entre 0,7 et 0,93). D'autre part, les valeurs moyennes du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ confirment la valeur prédite par le modèle cinétique pour l'état d'équilibre dans le paragraphe 1.1 (0,40). Les valeurs de ce rapport à l'équilibre sont également de l'ordre de grandeur de ceux donnés dans la littérature (cf. Tableau 31, paragraphe 1.1.3.4).

Des fluctuations plus importantes sont observées concernant le rapport des activités de l'eau du sol et de la vapeur d'eau de l'air ($C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$). Les moyennes de ce rapport obtenues

en conditions contrôlées sont de 0,15 pour la partie inférieure du sol, et comprises entre 0,21 et 0,30 pour la partie supérieure. Ces valeurs sont en cohérence avec celles obtenues en conditions climatiques réelles, sur des échantillons représentatifs du sol dans sa globalité, comprises entre 0,16 et 0,25. En outre, elles sont globalement en accord avec les valeurs obtenues sur les pots témoins lors des études cinétiques (comprises entre 0,22 et 0,57) et avec les données de la littérature à l'état d'équilibre (Tableau 35, paragraphe 1.2.3.3). En revanche, les valeurs moyennes du rapport $C_{\text{HTO sol}}/C_{\text{HTO air}}$ sont plus élevées que les valeurs prédites par le modèle cinétique pour les différents stades de développement et conditions d'éclairement considérés (cf. Tableau 35, paragraphe 1.2.3.3), à l'exception du cas des plants matures en conditions d'éclairement. Les temps d'exposition considérés lors des études cinétiques, relativement courts comparativement aux temps nécessaires pour atteindre l'équilibre, sont probablement à l'origine de la sous-estimation des valeurs d'équilibre par le modèle cinétique (cf. paragraphe 1.3).

D'autre part, la diffusion du tritium atmosphérique à la surface du sol explique probablement les valeurs du ratio plus importantes dans les premiers centimètres de terre que dans le fond des pots. L'arrosage quotidien des plants à l'eau de Volvic, présentant une activité en tritium extrêmement faible, entraîne une dilution importante du tritium déposé et conduit à des activités en tritium de l'eau du sol relativement faibles par rapport à celles mesurées dans l'air. Ceci a pour effet de limiter l'apport de tritium via les racines et conduit à des activités dans l'eau tissulaire de la plante plus faibles qu'elles ne le seraient en cas d'équilibre vrai entre l'eau de l'air et l'eau du sol. Ainsi, pour nos conditions expérimentales, les activités HTO mesurées dans l'eau tissulaire des plants sont supérieures d'un facteur 1,7 à 4,5 en moyenne à celles mesurées dans l'eau du sol de culture. Malgré un flux hydrique au sein des plants principalement dirigé des racines vers les feuilles, l'activité HTO mesurée dans l'eau des feuilles provient en majeure partie de la vapeur d'eau de l'air. La voie foliaire joue donc un rôle primordial dans l'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des plants, quantitativement au moins aussi important que la voie racinaire, ce qui corrobore les observations faites lors des expositions de courte durée.

2.3.2 COMPARAISON DES RESULTATS AUX VALEURS ESTIMEES PAR LES MODELES

Les prédictions des deux modèles utilisés pour estimer les activités de l'eau libre des laitues à partir des activités HTO mesurées dans l'air et dans le sol et des conditions d'hygrométrie (modèle de Belot (Belot, 1986) et modèle présenté dans le rapport TRS-364 de l'AIEA (Belot et al., 1979; Garland, 1982; Couchat et al., 1983; Murphy, 1984; Amano and Kasai, 1988; Amano and Garten, 1991; IAEA, 2007a)) sont globalement en bon accord avec les valeurs d'activité mesurées, malgré une faible surestimation d'un facteur 2,2 à 3,4 pour le modèle de Belot, et d'un facteur 1,7 à 2,5 pour le modèle utilisé dans le TRS-364. Toutefois, compte tenu des incertitudes importantes associées aux mesures expérimentales, les estimations des modèles sont très satisfaisantes.

Pour les deux modèles, la surestimation est plus importante pour les expériences réalisées en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) qu'en conditions contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2). L'incertitude statistique (évaluée via l'écart-type) est également plus importante pour les séries EXT-1 et EXT-2. Les prédictions meilleures pour les expériences CLIM-1 et CLIM-2 peuvent s'expliquer par une plus grande stabilité des conditions climatiques, qui limite les variations de l'activité HTO dans l'eau tissulaire des plants et par conséquent, les écarts avec les prédictions des modèles.

CONCLUSIONS

Le travail présenté dans ce chapitre a permis d'étudier les transferts du tritium de l'air sous forme HTO vers le végétal cible, la laitue, selon les deux approches dynamique et statique.

Les cinétiques d'absorption du tritium sous forme d'eau tissulaire au sein de plants de laitue, en réponse à une exposition atmosphérique de courte durée ont été établies, en considérant deux paramètres d'influence : le stade de développement et les conditions d'éclairement. Pour cela, plusieurs séries d'expériences, mettant en jeu des conditions climatiques connues et stables, ont été réalisées sur des plants de laitue jeunes, matures ou en phase de prémontaison, en conditions d'éclairement ou d'obscurité, placés dans une ambiance fortement tritiée pendant 24 heures. Il ressort de ces expériences que le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre des activités présentes dans l'eau tissulaire des plants et dans la vapeur d'eau de l'air est de plusieurs heures quels que soient le stade de développement et les conditions d'éclairement. Le temps de mise à l'équilibre de l'eau du sol dépasse 24 heures dans la plupart des cas. De ce fait, pour des conditions d'exposition considérées, la contribution du sol au transfert de tritium vers la plante est très limitée et l'activité HTO dans l'eau des feuilles provient en majeure partie de l'air. Le rapport des activités dans l'eau tissulaire de la plante et dans la vapeur d'eau de l'air ($C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$), calculé à l'équilibre via un modèle mathématique du premier ordre, est de l'ordre de 0,4 quelque soit les modalités expérimentales. Le rapport des activités de l'eau du sol à celle de la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre ($C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$) est estimé par le modèle à des valeurs comprises entre 0,01 et 0,26.

Les valeurs d'équilibre prédites par le modèle cinétique ont été confrontées à des résultats expérimentaux obtenus à l'état stationnaire, lors d'expositions de longue durée. Pour cela, des expositions de plusieurs semaines ont été réalisées en conditions climatiques contrôlées ou réelles. Les résultats de ces expériences ont confirmé la valeur moyenne du rapport $C_{TFWT}/C_{HTO\ air}$ de 0,4 à l'équilibre. En revanche, elles ont fait apparaître des valeurs plus élevées pour le rapport $C_{HTO\ sol}/C_{HTO\ air}$ que celles calculées par le modèle mathématique. Les temps d'exposition considérés lors de l'étude dynamique, relativement courts comparativement aux temps nécessaires pour atteindre l'état stationnaire dans l'eau du sol, expliquent vraisemblablement la sous-estimation des valeurs d'équilibre par le modèle. Les mesures réalisées à l'état stationnaire ont d'autre part permis de tester deux modèles statiques proposés dans la littérature (modèle de Belot et modèle retenu par le programme EMRAS de l'AIEA). Les prédictions des deux modèles surestiment les activités dans l'eau tissulaire des plants d'un facteur 2 à 3 environ, ce qui est satisfaisant compte tenu des incertitudes importantes associées aux mesures expérimentales, notamment en conditions climatiques réelles.

Les deux types d'approche dynamique et statique ont montré que la voie foliaire joue un rôle primordial dans l'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des plants. L'influence des phénomènes physiologiques et des conditions environnementales sur les phénomènes d'absorption a été mise en évidence, mais demeure difficile à interpréter par manque d'informations biologiques. De nouvelles expériences accentuant les différences de conditions climatiques entre les périodes d'éclairement et d'obscurité pourraient permettre d'obtenir des résultats plus différenciés en fonction du stade de développement et des conditions d'éclairement. Ces expériences devront être menées pour des temps d'exposition plus longs, permettant d'observer la mise en place de l'équilibre des activités dans le sol, afin d'affiner les paramètres du modèle cinétique. Le développement des mesures biologiques (mesures d'enracinement, de l'activité photosynthétique...) apporterait sans doute des éléments

permettant de quantifier l'incidence de la variabilité biologique sur l'absorption du tritium et la possibilité de transposer éventuellement les résultats obtenus à d'autres espèces végétales.

CHAPITRE IV :

ETUDE DE L'INTEGRATION DU TRITIUM SOUS FORME ORGANIQUE CHEZ LA LAITUE LORS D'UNE EXPOSITION ATMOSPHERIQUE CONTINUE

Introduction	199
1 Intégration du tritium sous forme organique chez la laitue lors d'expositions atmosphériques continues	200
1.1 <i>Présentation des résultats</i>	200
1.1.1 Introduction	200
1.1.1.1 Mesures tritium	200
1.1.1.2 Mesures biologiques	201
1.1.2 Expositions en conditions climatiques contrôlées	202
1.1.2.1 Mesures à l'échelle de la plante	202
1.1.2.2 Mesures à l'échelle de la feuille	204
1.1.3 Expositions en conditions climatiques réelles	205
1.2 <i>Analyse des résultats bruts</i>	207
1.3 <i>Traitement des résultats</i>	209
1.3.1 Calcul du taux d'incorporation du tritium organique moyen	209
1.3.2 Calcul du taux d'incorporation du tritium organique instantané	210
1.4 <i>Discussion</i>	213
1.4.1 Expositions en conditions climatiques contrôlées	213
1.4.1.1 Etude des facteurs expérimentaux	213
1.4.1.2 Perspectives	215
1.4.2 Expositions en conditions climatiques réelles	216
1.4.2.1 Approche statique	216
1.4.2.2 Approche dynamique : taux d'incorporation du tritium organique instantané	217
1.4.3 Mesures biologiques	218
2 Intégration du tritium organique dans le sol de culture lors d'expositions atmosphériques continues	220
2.1 <i>Présentation des résultats</i>	220
2.1.1 Expositions en conditions contrôlées	221
2.1.2 Expositions en conditions climatiques réelles	223
2.2 <i>Traitement des résultats</i>	224
2.3 <i>Discussion</i>	225
2.3.1 Intégration du tritium organique dans le sol	225
2.3.2 Remarques sur la méthode analytique	227
Conclusions	228

INTRODUCTION

Les transferts du tritium atmosphérique vers l'eau tissulaire du végétal cible et la mise en place de l'équilibre ont été étudiés au chapitre précédent. Nous allons à présent nous intéresser aux mécanismes d'incorporation du tritium à la matière organique des plantes, qui correspondent à une intégration progressive dans le temps d'une faible fraction du tritium présent dans l'eau tissulaire. En cas d'exposition à long terme, la croissance et le développement du végétal s'accompagnent de modifications de la physiologie et du métabolisme qui peuvent influencer sur les mécanismes associés à la formation de matière organique, et de ce fait à l'intégration du tritium dans cette fraction. L'objectif de ce chapitre est précisément de caractériser l'intégration biologique du tritium sous forme organique dans le végétal d'étude, la laitue, à l'échelle de la plante et de la feuille, et d'étudier l'évolution de cette intégration au cours de la croissance des plants, en réponse à une exposition continue. Dans ce but, deux types d'expositions à long terme (plusieurs semaines) ont été réalisées, dans la chambre de culture permettant de contrôler les paramètres climatiques et les niveaux de tritium atmosphérique, et en conditions climatiques réelles sur le site de Valduc. Outre les conditions climatiques, les niveaux d'activité du tritium dans l'air étaient différents pour les deux types d'expériences : l'activité atmosphérique était relativement élevée lors des expositions en chambre climatique et très faible lors des expériences en extérieur. Afin de comprendre les mécanismes biologiques en jeu dans l'incorporation du tritium organique, deux indicateurs ont été testés au cours de ces expériences : la concentration en **protéines** totales et la mesure des échanges gazeux photosynthétiques.

1 INTEGRATION DU TRITIUM SOUS FORME ORGANIQUE CHEZ LA LAITUE LORS D'EXPOSITIONS ATMOSPHERIQUES CONTINUES

1.1 PRESENTATION DES RESULTATS

1.1.1 INTRODUCTION

Pour rappel, le protocole expérimental dédié aux expositions atmosphériques à long terme est présenté dans le paragraphe 4 du Chapitre I.

1.1.1.1 Mesures tritium

Pour chaque prélèvement de plants des expériences CLIM-1, CLIM-2, CLIM-3, EXT-1 et EXT-2, l'activité du tritium présent dans la matière organique a été mesurée selon le protocole opératoire et la méthode de calcul décrits dans le Chapitre II et en Annexe B.3. Les procédures d'extraction à froid (expérience EXT-1 et EXT-2) et à chaud (expérience CLIM-1 et CLIM-2) du **tritium organiquement lié échangeable** (cf. paragraphe 2.2.4.1 et 2.2.4.2 du Chapitre II) testées dans le cadre de cette étude n'ont cependant pas permis de dissocier les activités du tritium dans les deux fractions organique totale et non-échangeable de façon statistiquement significative. Les mesures d'activités des deux fractions ont donné des résultats globalement similaires, à l'exception de quelques valeurs incohérentes (activité mesurée plus importante dans la fraction non-échangeable que dans la fraction totale), seulement explicables par les incertitudes de mesure très importantes. En l'absence de référence permettant de valider les méthodes d'extraction du tritium échangeable, il n'est donc pas possible de considérer ces résultats comme représentatifs du tritium organiquement lié non-échangeable. Nous avons donc choisi de considérer ces données comme des répétitions de mesure du tritium organique « total », et de présenter pour chaque point la valeur moyenne obtenue, en gardant toutefois à l'esprit que certains échantillons ont été lavés une fois. Les mesures correspondant aux expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3 sont données dans le Tableau 41 et le Tableau 43 ; les mesures correspondant aux expériences EXT-1 et EXT-2 dans le Tableau 44.

Pour chaque expérience, les résultats des mesures d'OBT « total » sont présentés en Bq L⁻¹ d'eau de combustion de la matière sèche. Cette unité permet de comparer les activités en tritium dans la fraction organique avec celle de l'eau tissulaire des plants ou de la vapeur d'eau de l'air, via l'utilisation de ratios d'activité massique, et de mettre ainsi en évidence des phénomènes d'accumulation (ou non) du tritium dans la matière organique. L'unité Bq L⁻¹, conventionnellement utilisée dans la littérature, est cependant difficile à appréhender d'un point de vue physique. De manière à disposer d'une information plus concrète, les activités du tritium organique sont également présentées en termes d'activité par kilogramme de matière fraîche (Bq kg_{fr}⁻¹) dans les Tableau 41, Tableau 43 et Tableau 44.

L'incorporation du tritium sous forme organique est a priori différente selon le stade de développement de la plante. Néanmoins, la moyenne des ratios d'activité massique et l'écart-type associé sont indiqués pour chaque expérience à titre indicatif, considérant que ces données peuvent apporter une information globale sur l'incorporation de l'OBT dans le végétal cible.

Le tritium étant incorporé sous forme organique tout au long de la vie des plants, les activités dans l'eau tissulaire et dans l'air (en Bq L⁻¹) présentées dans les Tableau 41 et Tableau 44 sont des moyennes établies entre le début de l'exposition et l'instant du prélèvement de manière à se placer sur une échelle de temps comparable. Ces activités moyennes (notées C_{TFWT} moyen et C_{HTO} air moyen) sont calculées à partir des valeurs mesurées pendant la durée totale d'exposition, incluant les périodes d'éclairement et d'obscurité. L'établissement des activités moyennes sur plusieurs semaines prend en compte un nombre important de mesures et conduit ainsi à des incertitudes importantes. Pour rappel, les mesures « instantanées » dans l'eau tissulaire des plants, obtenues à l'issue de chaque prélèvement pour les expériences CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2, ont été présentées au Chapitre III (Tableau 36 et Tableau 38). Dans le cas particulier de l'expérience CLIM-3 (cf. Tableau 43), le temps d'exposition est évalué pour chaque feuille à partir de l'estimation de son âge (cf. paragraphe 1.1.2 du Chapitre II). Le détail des relevés climatiques et des mesures d'activité du tritium dans l'air tout au long des expériences est présenté en Annexe C.

Les incertitudes indiquées pour les mesures du tritium organique « total » dans ces tableaux (notées U, pour k = 2) sont associées aux activités en Bq L⁻¹. Elles prennent en compte l'erreur de mesure sur les masses et sur le comptage par scintillation liquide, les pertes éventuelles d'eau de combustion et l'erreur de reproductibilité de la phase de brûlage. Cette dernière est évaluée à partir des données correspondant à toutes les expériences, considérées comme des reproductions de mesure sur la même matrice. En faisant l'hypothèse que la combustion est totale, les différentes mesures permettent d'obtenir la fonction linéaire qui relie la quantité d'eau recueillie à l'issue de la combustion à la masse d'échantillon sec brûlé. Les droites correspondantes permettent également d'estimer les quantités d'eau de combustion théoriquement formées à partir de la masse d'échantillon brûlé, et d'accéder ainsi aux activités du tritium organique théoriques en cas de pertes importantes au cours de la combustion. Le détail du calcul est présenté en Annexe B.3.3.

1.1.1.2 Mesures biologiques

Les résultats des mesures de **protéines** totales, exprimées en $\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$ pour les expériences CLIM-1, CLIM-2 et EXT-2 sont présentées dans les Tableau 42 et Tableau 45. Les valeurs considérées comme moyennes sont obtenues à partir du broyat de plants entiers, englobant l'ensemble des parties aériennes des laitues. Au contraire, les mesures effectuées sur des feuilles jeunes ou matures correspondent à des analyses réalisées sur le limbe de feuilles sélectionnées en fonction de leur âge. Dans l'expérience CLIM-3, la concentration en **protéines** totales a été mesurée dans toutes les feuilles d'une laitue représentative du lot. Des mesures des échanges gazeux représentatifs de la photosynthèse ont également été effectuées sur ces feuilles et sont présentées dans le Tableau 43.

1.1.2 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES CONTROLEES

1.1.2.1 Mesures à l'échelle de la plante

durée d'exposition	C _{HTO} air moyen		C _{TFWT} moyen		C _{OBT} « total »			C _{OBT} « total » / C _{HTO} air moyen	C _{OBT} « total » / C _{TFWT} moyen
	j	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹		
CLIM-1									
9	7437	28	5609	5	33233	981	184	4,5	5,9
16	10928	34	6549	9	25718	1069	122	2,4	3,9
23	12461	41	6686	12	29679	1370	44	2,4	4,4
27	12959	43	6557	15	65854	1105	70	5,1	10,0
30	13493	46	6666	17	54240	1289	92	4,0	8,1
34	13786	48	6796	20	69445	1151	27	5,0	10,2
37	13737	51	6905	21	67271	1376	36	4,9	9,7
41	13720	53	7006	23	68029	1657	133	5,0	9,7
44	13815	55	7043	24	69220	1516	24	5,0	9,8
48	13665	57	6768	26	71267	1962	25	5,2	10,5
55	13440	60	6603	27	73355	1186	20	5,5	11,1
62	13373	61	6479	29	71518	1822	11	5,3	11,0
					Moyenne			4,5	8,7
					Ecart-type			1,1	2,5
CLIM-2									
21	8799	38	4934	16	73137	2419	30	8,3	14,8
25	9293	41	5118	18	56460	1666	16	6,1	11,0
32	9348	46	4805	21	54664	1489	32	5,8	11,4
35	9196	49	4466	22	36043	1106	17	3,9	8,1
39	8914	50	4458	23	38336	1474	15	4,3	8,6
42	8653	53	3995	26	34979	1144	11	4,0	8,8
45	8302	54	3789	27	36465	1803	14	4,4	9,6
54	7999	59	3674	28	39208	1581	15	4,9	10,7
					Moyenne			5,2	10,4
					Ecart-type			1,6	2,2

Tableau 41 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO} air moyen), dans l'eau tissulaire de plants de laitue (C_{TFWT} moyen) et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale de ces plants (C_{OBT} « total ») lors de différents prélèvements au cours des expériences d'exposition en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2); rapports des activités du tritium organique à celles de la vapeur d'eau de l'air (C_{OBT} « total »/C_{HTO} air moyen) et de l'eau tissulaire (C_{OBT} « total »/C_{TFWT} moyen). Les activités dans l'eau tissulaire et dans l'air sont des moyennes établies entre le début de l'exposition et l'instant du prélèvement.

Temps depuis la germination	durée d'exposition	Concentration en protéines totales					
		Moyenne plant entier		Feuilles jeunes		Feuilles matures	
j	j	$\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$	U (%)	$\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$	U (%)	$\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$	U (%)
CLIM-1							
38	9	5,3	8	7,4	14	6,2	5
45	16	4,3	9	2,0	6	5,3	5
52	23	3,6	9	9,5	22	5,2	7
56	27	5,3	16	12,6	32	10,6	17
59	30	4,6	5	14,4	20	7,8	5
63	34	8,8	15	17,8	17	5,6	8
66	37	5,7	10	16,7	11	10,3	15
70	41	3,1	5	10,6	7	6,5	9
73	44	4,9	8	14,9	10	5,5	8
77	48	4,3	8	12,8	9	5,8	8
85	55	3,4	6	10,7	8	5,0	7
92	62	4,1	7	11,1	18	4,0	7
Moyenne		4,7		11,7		6,5	
Ecart-type		1,1		4,3		2,1	
CLIM-2							
27	12	2,7	9	-	-	-	-
33	18	2,9	5	-	-	-	-
37	21	8,2	16	-	-	-	-
41	25	5,8	17	12,8	10	3,0	5
48	32	6,0	22	12,4	11	3,9	14
51	35	9,5	37	14,5	15	4,3	5
55	39	10,0	26	16,1	10	5,0	5
70	54	5,2	14	7,4	5	2,9	5
Moyenne		6,3		12,6		3,8	
Ecart-type		2,6		2,9		0,8	

Tableau 42 : Concentrations en protéines totales ($\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$) mesurées dans des feuilles jeunes, dans des feuilles matures et dans le broyat de plants de laitue entiers au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-1 et CLIM-2.

1.1.2.2 Mesures à l'échelle de la feuille

Feuille N°	Age estimé j	durée d' exposition estimée J	C _{HTO} air moyen		C _{OBT} « total »			Teneur en protéines		Photo synthèse μmol _{CO2} m ⁻² s ⁻¹
			Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹	U (%)	μg mg ⁻¹	U (%)	
1	2	2	222739	27	-	-	-	11,2	9	
2	4	4	226704	33	79753	10592	92	8,8	5	
3	5	5	239362	38	106953	9656	109	8,8	6	
4	7	7	229258	42	99172	10199	60	11,1	7	
5	9	9	181355	49	135486	12636	60	10,2	5	3,65
6	12	12	140601	52	418543	11291	212	9,8	7	
7	14	14	122429	62	110992	10216	34	11,7	5	
8	17	17	107593	68	529568	10417	173	8,6	7	4,5
9	19	19	91428	71	534429	12212	116	8,6	7	5,3
10	22	22	79510	78	587848	6731	146	8,3	5	
11	25	25	67679	81	122513	7670	40	6,1	10	4,5
12	29	28	63463	86	124480	6194	35	7,2	14	
13	33	28	53864	87	152966	8096	32	6,0	9	
14	37	28	53864	87	192782	8108	38	5,3	16	1,05
15	42	28	43365	93	316065	7279	64	5,2	12	
16	47	28	43365	93	211157	6836	41	4,8	18	
17	53	28	33038	94	300342	8572	39	5,1	15	0,75
18	59	28	33038	94	214937	8305	38	4,0	25	
19	65	28	27883	97	134210	6922	10	3,7	24	

Tableau 43 : Activité moyenne de la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO} air moyen) vue par chaque lot de feuilles du même âge lors de l'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-3 ; activités OBT « total » dans l'eau de combustion de la matière organique (C_{OBT} « total »), concentration en protéines totales et mesure des échanges gazeux photosynthétiques associées à chaque lot de feuilles. Les feuilles sont numérotées à partir de la dernière formée.

1.1.3 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES

durée d'exposition j	C _{HTO air moyen}		C _{TFWT moyen}		C _{OBT « total »}			C _{OBT « total »} / C _{HTO air moyen}	C _{OBT « total »} / C _{TFWT moyen}
	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹	U (%)		
EXT-1									
13	876	18	586	6	196	10,3	40	0,22	0,33
18	1017	22	539	9	511	15,5	19	0,50	0,95
26	920	25	434	11	431	19,2	14	0,47	0,99
33	956	32	412	13	1031	63,2	19	1,08	2,50
40	856	34	355	15	1019	68,5	9	1,19	2,87
47	820	36	362	16	1000	70,9	11	1,22	2,76
54	854	37	359	17	1505	80,3	11	1,76	4,19
61	941	38	401	18	724	49,7	27	0,77	1,81
76	1080	42	369	18	907	53,1	40	0,84	2,46
					Moyenne			0,9	2,1
					Ecart-type			0,5	1,2
EXT-2									
7	320	17	111	16	290	7,3	53	0,9	2,6
14	689	22	175	19	595	10,6	100	0,9	3,4
21	995	25	218	20	479	21,4	12	0,5	2,2
27	919	29	218	21	592	21,4	12	0,6	2,7
34	829	32	201	23	136	4,1	20	0,2	0,7
42	777	34	263	24	598	31,5	35	0,8	2,3
48	744	37	245	25	362	24,4	36	0,5	1,5
55	701	39	260	25	462	25,5	9	0,7	1,8
68	-	-	266	26	439	21,1	9	-	1,6
					Moyenne			0,6	2,1
					Ecart-type			0,2	0,8

Tableau 44 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO air moyen}), dans l'eau tissulaire de plants de laitue (C_{TFWT moyen}) et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale de ces plants (C_{OBT « total »}) lors de différents prélèvements au cours des expériences d'exposition en conditions climatiques contrôlées (EXT-1 et EXT-2); rapports des activités du tritium organique à celles de la vapeur d'eau de l'air (C_{OBT « total »}/C_{HTO air moyen}) et de l'eau tissulaire (C_{OBT « total »}/C_{TFWT moyen}). Les activités dans l'eau tissulaire et dans l'air sont des moyennes établies entre le début de l'exposition et l'instant du prélèvement.

Temps depuis la germination	durée d'exposition	Concentration en protéines totales	
		Moyenne plant entier	
j	j	$\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$	U (%)
40	7	7,1	9
47	14	7,4	11
54	21	7,2	10
60	27	7,0	11
67	34	7,3	12
75	42	8,9	14
81	48	9,7	16
88	55	7,7	12
101	68	5,4	8
Moyenne		7,5	
Ecart-type		1,2	

Tableau 45 : Concentrations en protéines totales ($\mu\text{g}_{\text{protéines}} \text{mg}_{\text{frais}}^{-1}$) mesurées dans le broyat de plants de laitue entiers au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques réelles EXT-2.

1.2 ANALYSE DES RESULTATS BRUTS

Les résultats des mesures tritium dans la vapeur d'eau de l'air ($C_{\text{HTO air moyen}}$), l'eau tissulaire ($C_{\text{TFWT moyen}}$) et la fraction organique « totale » ($C_{\text{OBT «total»}}$) des plants de laitue pour les expériences CLIM-1, CLIM-2, EXT-1 et EXT-2 sont présentés graphiquement sur la Figure 33. Par soucis de clarté, les incertitudes correspondantes, données dans les Tableau 41 et Tableau 44, n'ont pas été figurées. En outre, tous les graphes ont été tracés selon la même échelle de façon à faciliter la comparaison des résultats obtenus pour les quatre expériences.

Dans toutes les expériences, l'activité moyenne dans l'eau tissulaire demeure inférieure d'un facteur 2 environ à celle de la vapeur d'eau de l'air tout au long de l'exposition. Cet aspect, en cohérence avec les données de la littérature (cf. Tableau 8 de la partie « Etude bibliographique »), a été largement décrit dans le paragraphe 2 du Chapitre III.

En conditions climatiques réelles, l'activité de l'eau libre des plants suit une évolution comparable à celle de la vapeur d'eau de l'air mais présente des valeurs inférieures d'un facteur 2 environ en raison de la dilution des activités résultant de l'arrosage avec de l'eau de Volvic, très faiblement tritiée. A l'exception d'une activité OBT très faible mesurée après 34 jours d'exposition lors de l'expérience CLIM-2, l'activité de l'eau de combustion de la matière organique des laitues sèches augmente progressivement pour atteindre un niveau proche de l'activité moyenne de la vapeur d'eau de l'air. Bien qu'aucun biais de mesure n'ait pu être identifié, cette valeur très faible après 34 jours d'exposition lors de l'expérience CLIM-2 est difficilement explicable par un phénomène de formation naturel du tritium organique dans la plante. Cette valeur anormalement faible ne sera donc pas considérée pour l'exploitation des résultats.

Les mesures du tritium organique réalisées lors des expériences en conditions climatiques contrôlées sont très supérieures aux niveaux atmosphériques, ce qui ne semble pas cohérent. En effet, si des phénomènes de bio-concentration ont pu être observés dans certains cas de fonctionnement biologique particulier tel que celui des lichens (Ichimasa et al., 1989; Golubev et al., 2002a; Daillant et al., 2004a; Daillant et al., 2004b), le métabolisme de la laitue, utilisant des molécules d'eau tissulaire pour la formation de sa matière organique, ne permet a priori pas ce genre de phénomène d'accumulation. Par conséquent les valeurs mesurées pour le rapport $C_{\text{OBT «total»}}/C_{\text{HTO air moyen}}$, globalement comprises entre 4 et 5 dans le cas des expériences CLIM-1 et CLIM-2 (cf. Tableau 41), sont très peu probables.

Les activités OBT mesurées dans la fraction organique lors de l'expérience CLIM-3 sont également très élevées par rapport aux activités dans l'air moyennées sur la durée d'exposition de chaque feuille. Pour les trois expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3, le calcul des quantités de tritium pouvant être théoriquement incorporées sous forme organique, effectué à partir de la courbe de croissance des plants et de l'activité moyenne dans l'air à laquelle ils sont exposés, indique que les activités OBT mesurées sont trop élevées d'un facteur 5 à 20. Ainsi, malgré la répétition des résultats sur trois expériences différentes, les valeurs d'activités en tritium organique « total » mesurées dans les feuilles de laitues suite à une exposition de longue durée en conditions climatiques contrôlées semblent incohérentes au regard des niveaux d'exposition et ne peuvent donc être validées en l'état. En conséquence, l'exploitation des résultats, en termes de calcul des taux d'incorporation du tritium au sein de la matière organique, ne concernera pas ces données et sera réservée aux résultats obtenus au cours des expériences en conditions climatiques réelles, EXT-1 et EXT-2. Néanmoins, une étude des différents facteurs expérimentaux ayant pu conduire aux activités OBT très élevées des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3 sera abordée dans le paragraphe de discussion.

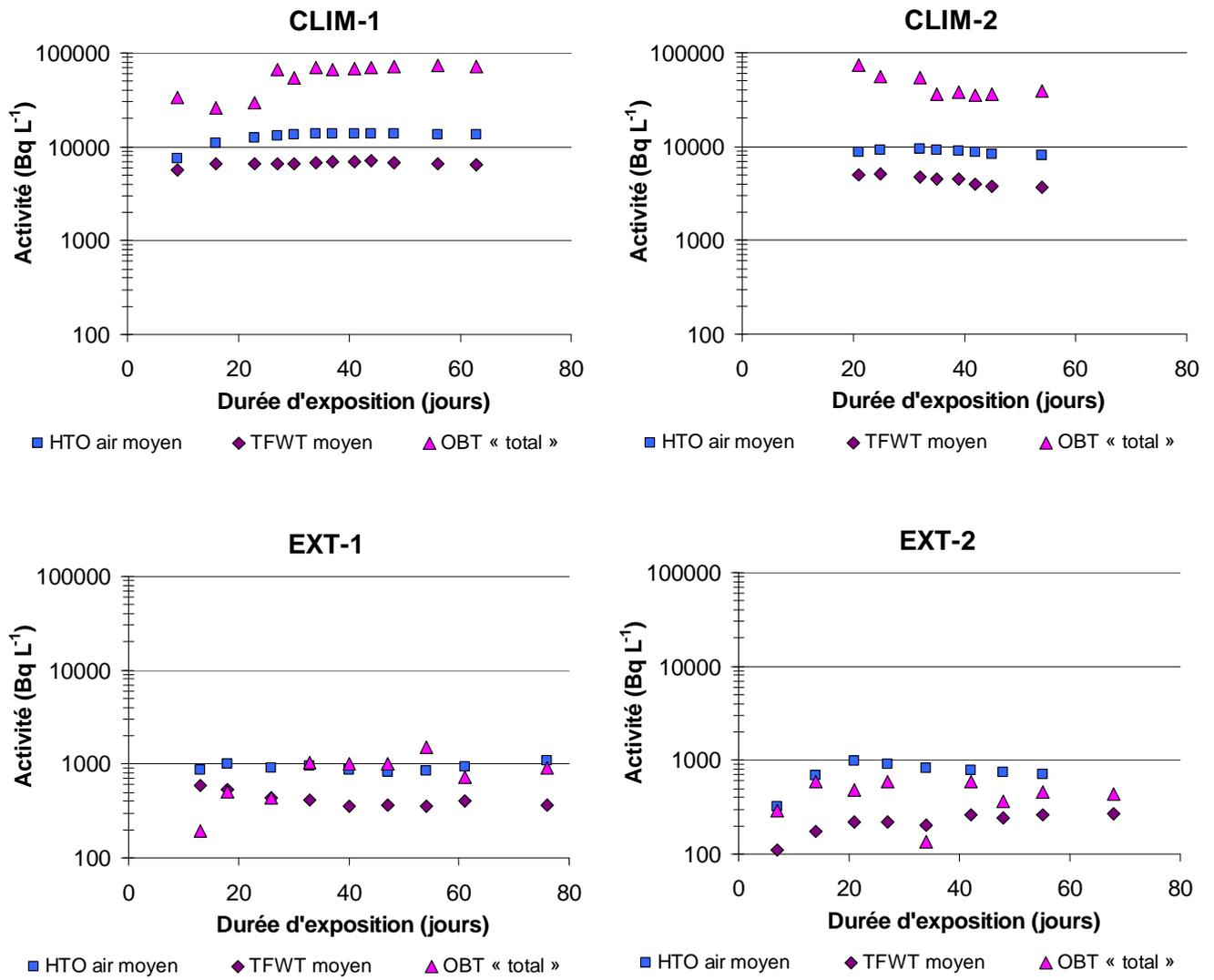


Figure 33 : Représentation graphique (échelle logarithmique) des activités HTO moyennes mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (HTO air moyen) et dans l'eau tissulaire de plants de laitue (TFWT moyen) sur la période d'exposition ainsi que des activités OBT dans l'eau de combustion de la matière organique (OBT « total ») mesurées au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) et réelles (EXT-1 et EXT-2).

1.3 TRAITEMENT DES RESULTATS

1.3.1 CALCUL DU TAUX D'INCORPORATION DU TRITIUM ORGANIQUE MOYEN

Le taux d'incorporation correspond à la quantification horaire de l'intégration du tritium présent dans l'eau tissulaire de la plante sous forme de tritium organique. Il est généralement défini mathématiquement comme le ratio de l'activité en tritium dans la fraction organique à celle de l'eau tissulaire intégrée au cours du temps d'exposition. Le taux d'incorporation du tritium dans la fraction organique totale peut ainsi être défini selon les relations (36) et (37).

$$\tau_{OBT\ total / TFWT} = \frac{C_{OBT\ total}}{C_{TFWT, intégrée}} \quad (36)$$

$$C_{TFWT, intégrée} = \int_{t=0}^t C_{TFWT} \quad (37)$$

Avec :

$\tau_{OBT\ total / TFWT}$	taux d'incorporation horaire du tritium de l'eau tissulaire dans la fraction organique totale (h^{-1})
$C_{OBT\ total}$	concentration en tritium organique total ($Bq\ L^{-1}$)
C_{TFWT}	concentration en tritium dans l'eau tissulaire ($Bq\ L^{-1}$)
$C_{TFWT, intégrée}$	concentration en tritium dans l'eau tissulaire, intégrée par rapport au temps ($Bq\ h\ L^{-1}$)

Il est également pertinent de calculer le taux d'incorporation du tritium organique total par rapport à l'activité présente dans la vapeur d'eau de l'air. Ce taux est défini de façon similaire au taux calculé par rapport à l'activité de l'eau libre, suivant les relations (38) et (39):

$$\tau_{OBT\ total / HTO\ air} = \frac{C_{OBT\ total}}{C_{HTO\ air, intégrée}} \quad (38)$$

$$C_{HTO\ air, intégrée} = \int_{t=0}^t C_{HTO\ air} \quad (39)$$

Avec :

$\tau_{OBT\ total / HTO\ air}$	taux d'incorporation horaire du tritium de la vapeur d'eau de l'air dans la fraction organique totale (h^{-1})
$C_{HTO\ air}$	concentration en tritium de la vapeur d'eau de l'air ($Bq\ L^{-1}$)
$C_{HTO\ air, intégrée}$	concentration en tritium de la vapeur d'eau de l'air, intégrée par rapport au temps ($Bq\ h\ L^{-1}$)

En première approximation, des taux d'incorporation moyens peuvent être calculés pour chaque point de mesure en considérant les activités de l'eau tissulaire ou de la vapeur d'eau de l'air intégrées depuis le début de l'exposition. Les taux d'incorporation du tritium organique total ainsi calculés pour les deux expériences EXT-1 et EXT-2 sont regroupés dans le Tableau 46.

1.3.2 CALCUL DU TAUX D'INCORPORATION DU TRITIUM ORGANIQUE INSTANTANE

Les équations du paragraphe précédent sont à nouveau considérées pour le calcul des taux d'incorporation instantanés. Les activités de l'eau tissulaire ou de la vapeur d'eau de l'air sont dans ce cas intégrées non plus sur la durée totale d'exposition atteinte à chaque prélèvement, mais sur le temps écoulé entre deux prélèvements successifs. Le principe du calcul repose sur la quantification du tritium intégré dans la matière organique entre les deux mesures, en lien avec l'accroissement de masse. L'explication détaillée du calcul est présentée en Annexe B.4.

Afin de pouvoir comparer les résultats des expériences EXT-1 et EXT-2 indépendamment des conditions de culture, l'évolution des taux d'incorporation instantanés obtenus pour les deux expériences est présentée en Figure 34 en fonction du temps (en $\% h^{-1}$) et en fonction de l'énergie disponible (en $\% lx^{-1} °C^{-1}$) (cf. paragraphe 1.1.1 du Chapitre II). Les courbes de croissance associées aux deux expériences sont également présentées.

Temps d'exposition (jours)	Temps depuis la germination (jours)	$\tau_{\text{OBT total/HTO air moyen}}$ (% h ⁻¹)	U (%)	$\tau_{\text{OBT total/TFWT moyen}}$ (% h ⁻¹)	U (%)
EXT-1					
13	27	0,03%	44	0,05%	41
18	32	0,07%	30	0,12%	22
26	40	0,05%	29	0,10%	18
33	47	0,10%	37	0,22%	23
40	54	0,09%	35	0,22%	18
47	61	0,08%	38	0,19%	20
54	68	0,11%	39	0,26%	20
61	75	0,04%	47	0,10%	33
76	90	0,04%	58	0,11%	44
Moyenne		0,07%	-	0,16%	-
Ecart-type		0,03%	-	0,07%	-
EXT-2					
7	40	0,09%	56	0,27%	56
14	47	0,08%	102	0,22%	102
21	54	0,04%	28	0,12%	24
27	60	0,04%	32	0,19%	24
42	75	0,04%	49	0,06%	43
48	81	0,02%	52	0,13%	44
55	88	0,03%	40	0,06%	27
68	101	-	-	0,07%	28
Moyenne		0,04%	-	0,13%	-
Ecart-type		0,03%	-	0,08%	-

Tableau 46 : Taux d'incorporation moyens (en % h⁻¹) du tritium organique « total » calculé par rapport à l'activité de l'eau tissulaire ($\tau_{\text{OBT total/TFWT moyen}}$) et à l'activité présente dans la vapeur d'eau de l'air ($\tau_{\text{OBT total/HTO air moyen}}$) intégrées au cours du temps d'exposition pour les expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2).

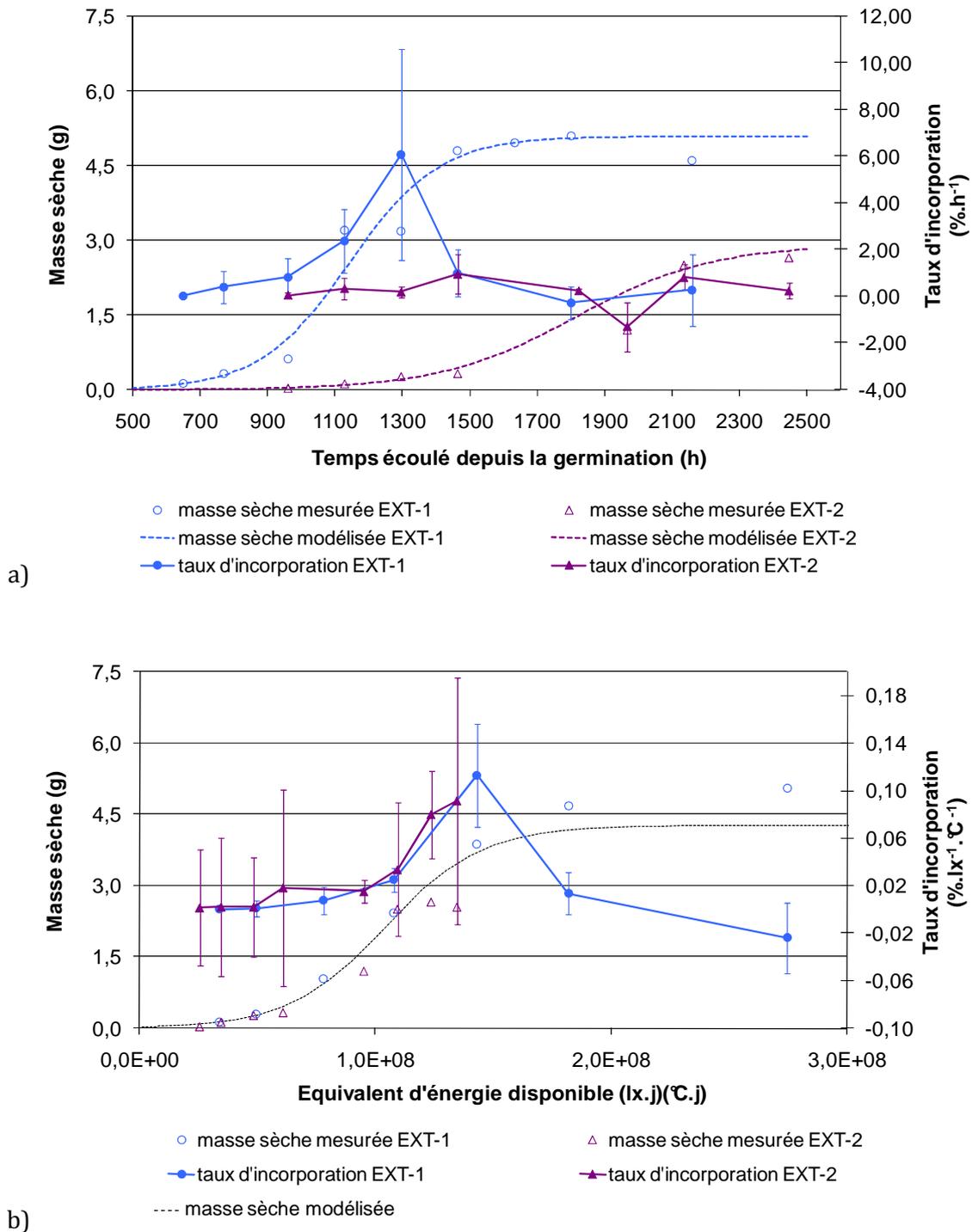


Figure 34 : Evolution en fonction du temps (a) et de l'énergie disponible (b) des taux d'incorporation instantanés du tritium de l'eau tissulaire vers la fraction organique « totale » pour les expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2).

1.4 DISCUSSION

1.4.1 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES CONTRÔLÉES

1.4.1.1 Etude des facteurs expérimentaux

Les valeurs d'activités mesurées dans la fraction organique totale des laitues au cours des expériences en conditions climatiques contrôlées semblent anormalement élevées au regard des niveaux d'exposition dans l'air et des activités mesurées dans l'eau tissulaire des plants. Les ratios d'activité massique $C_{\text{OBT total}}/C_{\text{TFWT moyen}}$ ou $C_{\text{OBT total}}/C_{\text{HTO air moyen}}$ présentent des valeurs très supérieures à l'unité (cf. Tableau 41 et Tableau 43) qui vont à l'encontre des données de la littérature (McFarlane, 1976, 1978; Garland and Ameen, 1979; Spencer, 1984; Hisamatsu et al., 1987; Hisamatsu et al., 1989; Takashima et al., 1989; Inoue and Iwakura, 1990; Hisamatsu et al., 1991; Diabaté and Strack, 1993; Kim and Baumgärtner, 1994; Davis et al., 2002; Davis et al., 2005b). Ces résultats surprenants ont toutefois été obtenus pour trois expériences différentes (CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3). Il s'agit donc de comprendre s'ils correspondent à une ou plusieurs erreurs expérimentales, ou s'ils traduisent un réel phénomène d'« accumulation » du tritium au sein du compartiment organique, dont la cause pourrait être autre que biologique. Pour cela, il est nécessaire d'étudier un à un les différents éléments expérimentaux qui ont pu conduire à des sources d'erreur, en particulier les paramètres qui ont différencié entre les expériences réalisées en conditions contrôlées et celles réalisées en conditions réelles, pour lesquelles le phénomène d'« accumulation » n'est pas observé.

Par définition même du protocole expérimental, les conditions climatiques constituent l'une des différences majeures entre les expériences en chambre climatique et en extérieur. La chambre climatique de culture qui a accueilli les expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3 a fonctionné de manière globalement satisfaisante par rapport aux paramètres imposés, néanmoins certaines critiques peuvent être formulées. Les températures de consigne imposées en période d'éclairement et d'obscurité n'étaient peut-être pas assez différentes comparativement aux variations diurnes et nocturnes des températures naturelles. D'autre part, dans les trois expériences, l'humidité relative enregistrée était relativement faible et a sûrement favorisé les transferts hydriques du sol vers la plante. Enfin, l'intensité lumineuse de l'éclairement artificiel était relativement faible par rapport au niveau extérieur. Ces différents paramètres ont pu conduire à ralentir la vitesse de formation de matière organique en fonction du temps (cf. Chapitre II, Figure 17 a). Néanmoins, les courbes d'accroissement de masse établies pour les différentes expériences réalisées en conditions contrôlées et en conditions réelles, en fonction de l'énergie disponible, font apparaître une croissance des laitues comparable pour toutes les expériences (cf. Chapitre II, Figure 17 b). En outre, les concentrations en **protéines** totales, représentatives de l'activité biologique de feuilles d'âges différents ou de plants entiers, sont du même ordre de grandeur pour toutes les séries expérimentales, en conditions contrôlées et réelles. De ce fait, si les conditions climatiques plus défavorables en conditions contrôlées ont pu avoir une influence sur la croissance et le métabolisme de la plante, celle-ci était trop limitée pour s'exprimer au niveau macroscopique et ne peut expliquer à elle seule les valeurs d'activité OBT très élevées mesurées dans les trois expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3. Toutefois, d'autres paramètres physiologiques ou environnementaux tels que la concentration en dioxyde de carbone de l'air, le développement racinaire des plants ou leur activité photosynthétique, n'ont pas été mesurés de façon systématique dans ces expériences. Il reste donc difficile de quantifier l'importance des

conditions climatiques sur les mécanismes biologiques d'incorporation du tritium sous forme organique en conditions contrôlées.

Les différentes étapes de la méthode analytique de mesure du tritium ont pu engendrer un grand nombre d'erreurs qu'il s'agit de quantifier. L'ensemble des mesures tritium (dans l'air et dans les échantillons de laitues) a été réalisée par trois opérateurs, ce qui exclut a priori une erreur potentielle autre que systématique. Les comptages de toutes les fractions par scintillation liquide ont été effectués sur cinq appareils différents, étalonnés de façon hebdomadaire, ce qui écarte l'hypothèse d'une erreur à ce niveau. Les appareils destinés à l'extraction du tritium de la vapeur d'eau dans l'air (barboteurs) ou de l'eau tissulaire des plants (cryodessicateurs) ne semblent pas induire d'erreur significative puisque les activités mesurées dans ces deux fractions présentent un ratio cohérent et constant à l'équilibre, quelles que soient les conditions climatiques considérées, contrôlées ou réelles (cf. Chapitre III). Néanmoins, certaines formes chimiques tritiées potentiellement présentes en faibles quantités dans l'atmosphère du bâtiment dans lequel ont été menées les expériences en conditions contrôlées, telles que des poussières d'hydrures métalliques ou des vapeurs de solvants organiques tritiés, sont difficilement détectables par les barboteurs. Il est relativement peu probable que ces espèces aient pu jouer un rôle significatif sur l'intégration du tritium sous forme organique dans les plantes, mais en l'absence d'expérimentations complémentaires sur ce point, cette hypothèse ne peut être formellement exclue à ce stade de l'étude et devra faire l'objet d'investigations ultérieures. D'autre part, concernant la phase de cryodessiccation, le phénomène de discrimination isotopique parfois observé au cours du procédé a pu entraîner une légère concentration du tritium dans la matière sèche. Cependant, le facteur de séparation isotopique ($^3\text{H}/^1\text{H}$) donné dans la littérature est de l'ordre de 1,1 à 1,4 (Belot et al., 1996; Baumgärtner and Kim, 1990), et ne peut pas être à l'origine du phénomène d'« accumulation » du tritium sous forme organique observé en conditions climatiques contrôlées, qui fait apparaître un facteur 8 à 10 entre les concentrations de l'eau tissulaire des plants et de l'air (cf. Tableau 41). En outre, les mêmes appareils de cryodessiccation ont été utilisés pour le traitement des échantillons des expériences EXT-1 et EXT-2, qui ne font pas apparaître ce phénomène.

L'hypothèse la plus probable est donc celle d'une erreur expérimentale systématique au niveau de la mesure du tritium organique lors du traitement des échantillons des trois expériences effectuées en conditions contrôlées. Deux biais principaux ont été identifiés dans le protocole analytique correspondant à cette mesure; il s'agit des faibles quantités de matières utilisées pour la combustion, et de l'ajout d'eau nécessaire qui en résulte. Néanmoins, dans la mesure du possible, les quantités d'échantillons des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3 brûlés étaient de l'ordre ou supérieures à 1 g, masse au-delà de laquelle la réponse du système est considérée comme fiable (cf. paragraphe 2.2.5.5 du Chapitre II), avec ou sans ajout d'eau. De plus, l'erreur de reproductibilité de la phase de brûlage, en lien avec la masse d'échantillon brûlé, est considérée dans le calcul d'incertitude de l'activité OBT (cf. Annexe B.3.3). Les quelques mesures présentant une incertitude supérieure à un facteur 2 ont ainsi été éliminées. L'incertitude de mesure sur l'eau de combustion propre à l'échantillon, une fois l'eau d'entraînement déduite, n'explique donc pas le facteur 5 observé en moyenne entre les activités de l'OBT et de la vapeur d'eau de l'air. Le calcul des activités OBT en $\text{Bq kg}_{\text{frais}}^{-1}$ ou $\text{Bq kg}_{\text{sec}}^{-1}$ le confirme. En effet, ce calcul est établi directement à partir de l'activité mesurée dans l'eau de combustion totale en sortie du four (eau de combustion de l'échantillon et eau d'entraînement confondues) et ne prend pas en compte l'estimation de la quantité d'eau de combustion propre à l'échantillon. Les activités ainsi obtenues demeurent 50 fois plus élevées en moyenne dans les expériences en conditions climatiques contrôlées qu'en conditions réelles, alors que les niveaux d'exposition ne sont que 10 à 20 fois plus forts.

L'activité dans le sol est un autre point à considérer. Les résultats obtenus au cours des expériences en chambre climatique et en extérieur sont détaillés dans les Tableau 48, Tableau 49 et Tableau 50 au paragraphe 2. Les valeurs d'activités dans l'eau du sol sont inférieures à celles dans l'eau tissulaire de la plante, et ne peuvent être à l'origine de la formation d'OBT

« total » à un niveau jusqu'à 20 fois supérieur. D'autre part, les activités en tritium organique mesurées dans le sol en conditions climatiques contrôlées sont cohérentes avec les niveaux d'exposition et les résultats obtenus en extérieur. Ceci tend à montrer que la méthode analytique du tritium organique n'est pas en cause dans les mesures d'OBT « total » très élevées obtenues pour les laitues.

Au bilan, aucun élément expérimental considéré isolément ne permet d'expliquer les activités élevées en tritium organique mesurées dans les plants de laitues lors des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3. Il n'est cependant pas exclu que la conjonction de ces éléments, ou qu'un autre élément, non identifié, aient pu concourir à des conditions expérimentales particulières entraînant un biais de mesure important. Les trois répétitions de l'expérience ont par principe même été réalisées dans des conditions similaires, ce qui ne permet pas d'identifier une erreur systématique potentielle. A ce stade de l'étude, les mesures d'OBT anormalement élevées pour ces trois expériences ne peuvent pas être écartées, mais doivent être validées par de nouvelles expériences. Il n'est pas possible de conclure à une discrimination du tritium favorisant l'accumulation d'OBT « total », mais cette hypothèse ne peut être formellement exclue pour nos conditions expérimentales particulières sur la laitue.

1.4.1.2 Perspectives

Les principales différences entre les expériences réalisées en conditions contrôlées et réelles résidaient dans les conditions climatiques et les niveaux d'exposition. Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus en OBT au cours des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3, de nouvelles expériences devront être menées à l'avenir en faisant varier ces deux paramètres. Il s'agira d'une part de travailler à des niveaux d'activité faibles et en conditions climatiques contrôlées, et d'autre part, à des niveaux d'activité plus importants en conditions climatiques réelles. Dans le premier cas, la chambre climatique pourrait être placée dans un bâtiment du site de Valduc présentant des activités en tritium atmosphérique proches de celles mesurées en extérieur. Ces nouvelles expériences pourraient accentuer les différences de conditions climatiques entre les périodes d'éclairement et d'obscurité afin d'obtenir des résultats plus différenciés. Dans le deuxième cas, la chambre climatique placée en extérieur pourrait être utilisée comme serre dans laquelle l'activité du tritium dans l'air serait maintenue à un niveau relativement élevé, par exemple grâce à un système de bullage dans de l'eau tritiée.

Dans tous les cas, le développement des mesures biologiques (cf. paragraphe 1.4.3) apporterait sans doute des éléments permettant de quantifier la variabilité biologique des échantillons entre les différentes expériences et de relier l'intégration du tritium organique à l'activité biologique des plants. L'analyse des différents tissus ou organes de la plante (**limbe** des feuilles, vaisseaux conducteurs...) pourrait également permettre d'identifier de potentielles différences de concentration locales en tritium (eau libre et OBT) au sein de la plante.

D'autre part, des expériences complémentaires concernant la mesure des espèces chimiques tritiées présentes en faibles quantités dans les installations (hydrures métalliques, solvants organiques tritiés) pourraient peut être apporter de nouveaux éléments de réponse. Bien que cette fraction soit a priori extrêmement faible, il s'agirait notamment de mesurer précisément les quantités de tritium déposé sous forme de poussières au niveau des feuilles des végétaux étudiés.

Enfin, de façon à écarter tout biais de mesure lors de la phase de combustion des échantillons secs, les expériences futures devront fournir des quantités de matière plus importantes, ne nécessitant pas d'ajout d'eau pour le brûlage. Plusieurs solutions peuvent être mises en œuvre pour parvenir à ce résultat :

- l'utilisation d'un autre sol, plus riche en azote, ou d'engrais (après avoir vérifié que cela n'induit pas de modifications des mécanismes d'intégration du tritium sous forme OBT),
- l'augmentation de l'espace de culture afin de pouvoir prélever des quantités de matière plus importantes tout en conservant un nombre de points suffisant,
- le prélèvement de quantités de matière plus importantes sur un nombre de points réduit lorsque l'espace de culture ne peut être élargi (cas de la chambre climatique).

1.4.2 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES

1.4.2.1 Approche statique

L'activité de l'eau de combustion de la matière organique des laitues sèches augmente progressivement pour atteindre un niveau proche de l'activité moyenne de la vapeur d'eau de l'air, tandis que l'activité dans l'eau tissulaire demeure à une concentration environ deux fois inférieure. Les rapports $C_{OBT\ total}/C_{TFWT\ moyen}$ mesurés au cours des expériences EXT-1 et EXT-2 sont donc proches de 2 ; néanmoins, il n'est pas possible de conclure à une discrimination du tritium par rapport à l'hydrogène lors de son incorporation à la matière organique des plantes. En effet, il est probable que les concentrations du tritium dans l'eau libre des feuilles, en contact presque direct avec l'atmosphère, soient sensiblement plus élevées que celles de l'eau circulant dans les vaisseaux véhiculant de l'eau en provenance du sol, arrosé avec de l'eau non tritiée. Par effet de dilution, la mesure globale du tritium libre à l'échelle de la plante ne rend pas compte des éventuelles disparités locales de concentration. Or, les feuilles sont le lieu de la photosynthèse ; les molécules d'eau tritiées qui s'y trouvent peuvent être incorporées à des molécules organiques. De ce fait, une concentration en tritium en apparence plus élevée peut être mesurée dans l'eau de combustion issue de la matière organique que dans l'eau libre de la plante entière.

Le calcul du taux d'incorporation moyen du tritium sous forme organique pour les deux expériences réalisées en conditions climatiques réelles oscille autour d'une moyenne et ne fait pas apparaître d'évolution caractéristique au cours du temps. Les valeurs moyennes de ce taux d'incorporation calculées pour les deux expériences EXT-1 et EXT-2, mettant en jeu des niveaux de tritium atmosphériques comparables, sont du même ordre de grandeur (cf. Tableau 47). Ces valeurs moyennes confirment les résultats obtenus au Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement (CEA Valduc) en 2006 sur de la laitue feuille de chêne « Rouge de Grenoble » en deux points géographiques éloignés l'un de l'autre sur le site de Valduc (Vichot et al., 2008a; Vichot et al., 2008b). Malgré des conditions environnementales variables d'une expérience à l'autre, les résultats obtenus présentent donc une bonne reproductibilité.

De plus, ces valeurs moyennes du taux d'incorporation sont en accord avec les données de la littérature présentées dans le Tableau 47. Néanmoins, les taux d'incorporation du tritium sous forme organique proposés dans la littérature et utilisés dans les modèles sont généralement considérés comme constants. Cependant, des travaux récents montrent que ces facteurs sont très variables avec l'espèce végétale et le stade de développement des plantes (Atarashi-Andoh et al., 2002; Choi et al., 2005; Guétat et al., 2008b; IAEA, 2008). Il s'agit donc à présent de considérer des facteurs de transfert dynamiques, représentatifs de la capacité d'incorporation instantanée de la plante à différents stades de sa croissance.

Référence	Plante	Conditions de culture	Taux d'incorporation (% h ⁻¹)
(Atarashi-Andoh et al., 2002)	Feuilles de komatsuna		0,20 – 0,32
	Feuilles de radis	Extérieur, période estivale, 12 jours d'exposition	0,21
	Racines de radis		0,07
	Feuilles de tomate cerise		0,13 – 0,19
	Fruit de tomate cerise		0,05
(Vichot et al., 2008a; Vichot et al., 2008b)	Feuilles de laitues		Extérieur, période estivale
EXT-1 et EXT-2 (Boyer et al., 2009)	Feuilles de laitues	Extérieur, période estivale	0,13 - 0,16

Tableau 47 : Taux d'incorporation moyens du tritium organique pour différentes espèces végétales exposées de façon continue à de la vapeur d'eau tritiée par voie atmosphérique.

1.4.2.2 Approche dynamique : taux d'incorporation du tritium organique instantané

Afin de pouvoir comparer les résultats des expériences EXT-1 et EXT-2 indépendamment des conditions de culture, l'évolution des taux d'incorporation instantanés obtenus pour les deux expériences a été présentée en Figure 34 en fonction du temps et en fonction de l'énergie disponible.

Les résultats de l'expérience EXT-1 exprimés en fonction du temps montrent que la période de plus forte intégration du tritium sous forme organique correspond à la phase de croissance exponentielle des végétaux étudiés (cf. Figure 34 a). La valeur du taux d'incorporation du tritium sous forme organique (en % h⁻¹) présente une augmentation importante durant cette phase, puis diminue lors de la stabilisation de la masse des plants. En revanche, l'expression des résultats en fonction du temps ne permet pas de faire apparaître de tendance significative du taux d'incorporation instantané pour l'expérience EXT-2 (cf. Figure 34 a).

Au contraire, l'expression des résultats en fonction de l'énergie disponible (lx j)(°C j) permet de mettre en évidence une évolution très similaire du taux d'incorporation instantané du tritium sous forme organique (en % lx⁻¹ °C⁻¹) pour les deux séries d'expériences EXT-1 et EXT-2 (cf. Figure 34 b). Concernant les résultats de l'expérience EXT-1, le taux d'incorporation maximal est à nouveau observé au stade de croissance exponentielle. Les données de l'expérience EXT-2 suivent la même tendance, mais la courbe s'arrête avant d'avoir atteint un maximum. L'explication réside dans les quantités d'énergie disponible pour les plantes au cours de leur croissance. Pour une durée totale d'exposition comparable, l'énergie disponible en conditions automnales (EXT-2) était moins importante qu'en conditions estivales (EXT-1). De ce fait, les laitues cultivées lors de l'expérience EXT-2 n'ont pas reçu une quantité d'énergie suffisante pour que les plants atteignent la phase de croissance exponentielle s'accompagnant d'un taux d'incorporation maximal du tritium au sein de la matière organique. Ainsi, les expériences EXT-1 et EXT-2 font clairement apparaître que l'incorporation de l'OBT dépend fortement du stade de développement du végétal, qui est étroitement lié à l'énergie reçue par le plant au cours de sa

croissance. Ces résultats confortent ceux obtenus sur différents organes de plants de soja (*Glycine max*), présentés au paragraphe 3.3.6.2 de la partie de synthèse bibliographique (Guétat et al., 2008b; IAEA, 2008). A la différence des expériences que nous présentons ici, ces résultats font suite à des expositions de courte durée (1h). Néanmoins, les expositions réalisées sur le soja à des niveaux atmosphériques élevés de tritium, en conditions de culture artificielles et à divers stades de développement, ont montré une variation du taux d'incorporation d'un facteur 10^3 selon l'organe et le stade de développement du végétal considéré.

1.4.3 MESURES BIOLOGIQUES

Les mesures de la concentration en **protéines** totales effectuées sur des plants entiers de laitue au cours des expériences CLIM-1, CLIM-2 et EXT-2, donnent une information globale sur l'activité biologique de la plante à la même échelle que les mesures du tritium, libre ou organique, réalisées sur l'intégralité des parties aériennes. Les teneurs mesurées, comprises entre 10 et 20 % de la matière sèche, sont en accord avec les données de la littérature (Douillard and Godon, 1985). Néanmoins, compte tenu des incertitudes associées, les mesures de **protéines** conduisent à des valeurs moyennes relativement constantes tout au long de la durée de vie des laitues qui ne peuvent être reliées aux variations des taux d'incorporation du tritium organique. Ces résultats globaux ne permettent donc pas de mettre en évidence le rôle des mécanismes biologiques dans l'absorption et l'incorporation du tritium au sein des plantes.

En revanche, les mesures de la concentration en **protéines** réalisées sur des feuilles jeunes ou matures au cours des expériences CLIM-1, CLIM-2 et CLIM-3 montrent une activité biologique différente selon le stade de développement de la feuille. Les feuilles les plus jeunes présentent une concentration en **protéines** totales de l'ordre de 2 à 3 fois plus élevée que dans les feuilles les plus âgées. Les mesures de **protéines** totales et de photosynthèse réalisées sur toutes les feuilles de plusieurs laitues au cours des expériences CLIM-2 et CLIM-3 confirment qu'il existe une corrélation nette entre, d'une part, la concentration en **protéines** totales et l'âge biologique des feuilles, et d'autre part l'activité photosynthétique et l'âge biologique des feuilles. A titre d'exemple, les résultats des mesures des échanges gazeux de CO_2 , représentatifs de la photosynthèse, réalisées sur toutes les feuilles d'un même plant âgé de 51 jours lors de l'expérience CLIM-2, sont représentés sur la Figure 35. Malgré une incertitude associée aux mesures des échanges gazeux photosynthétique très importante (de l'ordre de 50 %, cf. paragraphe 1.2.4 du Chapitre II), une tendance similaire est remarquable entre l'activité photosynthétique et la concentration en **protéines** totales mesurée dans chaque feuille. Les deux indicateurs biologiques **protéines** et photosynthèse sont à leur maximum dans les feuilles jeunes puis diminuent de manière régulière au cours du vieillissement.

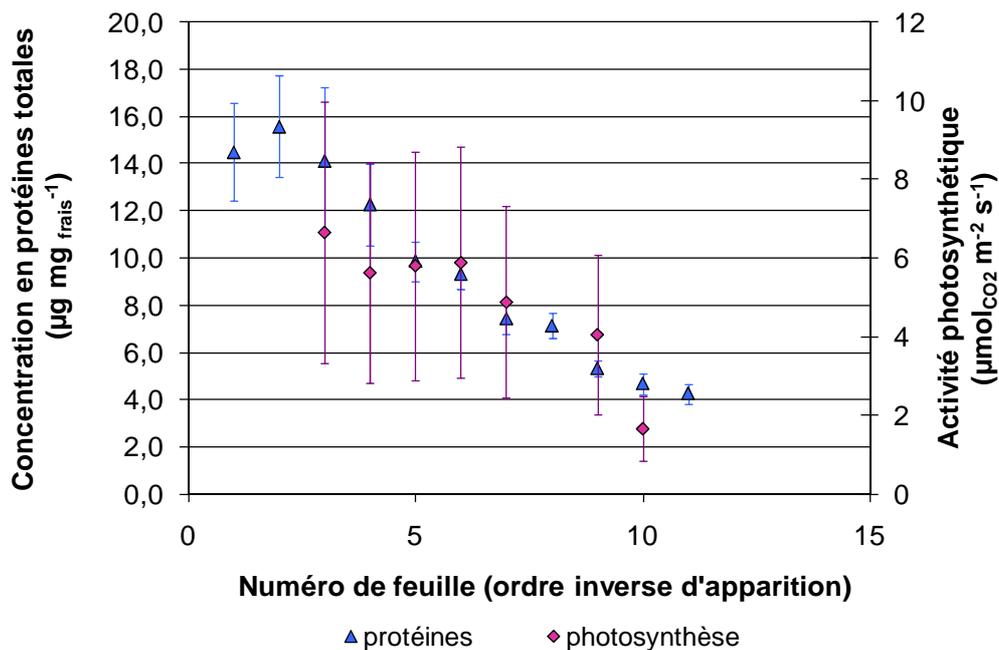


Figure 35 : Mesures de la concentration en protéines totales et des échanges de CO₂, représentatifs de la photosynthèse, sur toutes les feuilles d'un même plant âgé de 51 jours lors de l'expérience CLIM-2.

Ceci semble indiquer que pour être pertinents, ces indicateurs doivent être considérés à l'échelle de la feuille et non du plant entier, ce qui a été réalisé au cours de l'expérience CLIM-3. Les activités très élevées en OBT « total » pour cette expérience ne peuvent cependant pas être validées en l'état et faire l'objet d'une exploitation mathématique au regard des mesures biologiques. A titre seulement indicatif, les concentrations en OBT (en Bq kg_{frais}⁻¹) dans chaque feuille peuvent être comparées à l'activité HTO de l'air moyenne durant la période de vie de la feuille (en Bq L⁻¹) et à la teneur en **protéines** totales (g kg_{frais}⁻¹). Une tendance à la baisse de la concentration de l'OBT (en Bq kg_{frais}⁻¹) avec l'augmentation de l'âge de la feuille est observée, mais ne peut être considérée comme significative compte tenu des incertitudes très importantes associées aux mesures. L'activité HTO de l'air moyenne durant la période de vie de la feuille et la teneur en **protéines** totales présentent également une tendance à la baisse entre les feuilles les plus jeunes et les feuilles les plus âgées. Néanmoins, les activités HTO dans l'air du bâtiment d'accueil enregistrées au cours de cette expérience ont varié d'un facteur 100 entre le début et la fin de l'exposition. Dans ces conditions, les activités moyennes vues par les différentes feuilles diffèrent d'un facteur 10 environ. Il n'est donc pas possible de déterminer si la diminution des activités de l'OBT avec l'âge de la feuille peut être imputable à l'activité biologique plus faible des feuilles âgées ou à des niveaux d'exposition plus forts en fin d'expérience.

Pour répondre à cette question, il serait intéressant à l'avenir de suivre la concentration en **protéines** dans chaque feuille tout au long de la croissance des plants afin de disposer d'une information intégrée sur le temps comparable à l'activité en tritium organique. D'autre part, le dosage de **protéines** particulières, telle que la RuBisCO (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygénase) qui catalyse l'étape initiale de la fixation photosynthétique du CO₂, permettrait d'obtenir une information plus précise en lien avec l'incorporation du tritium sous forme organique.

2 INTEGRATION DU TRITIUM ORGANIQUE DANS LE SOL DE CULTURE LORS D'EXPOSITIONS ATMOSPHERIQUES CONTINUES

Le tritium organique formé dans le sol par les microorganismes n'est pas absorbable sous cette forme par les végétaux. De ce fait, la formation d'OBT dans le sol de culture n'est pas l'objet principal de notre étude. Néanmoins, il nous a paru intéressant de mesurer cette fraction au fil du temps d'exposition afin d'évaluer les transferts de tritium de l'air vers le sol et d'éprouver les techniques analytiques sur une autre matrice que la laitue.

2.1 PRESENTATION DES RESULTATS

Pour chaque prélèvement de sols des expériences CLIM-1 et CLIM-2 deux analyses complémentaires ont été réalisées selon le protocole opératoire décrit dans le Chapitre II afin de mesurer les activités de la fraction du tritium organique total et du tritium organiquement lié non-échangeable. Afin d'accéder à cette dernière fraction, la technique d'extraction à froid du tritium échangeable a été testée (cf. Chapitre II, paragraphe 2.2.4.1). Les résultats de ces analyses sur le sol de surface (5 cm supérieurs) et sur le sol situé en profondeur (5 cm inférieurs) sont présentés dans le Tableau 48 et le Tableau 49. Lors des expériences EXT-1 et EXT-2, seule la fraction OBT non échangeable a été mesurée dans des échantillons représentatifs de l'ensemble des différentes couches du sol ; les résultats sont donnés dans le Tableau 50.

Pour chaque expérience, les résultats des mesures d'OBT sont présentés en Bq L^{-1} d'eau de combustion de la matière sèche et en $\text{Bq kg}_{\text{frais}}^{-1}$. Afin de comparer les activités en tritium dans la fraction organique avec celle de l'eau du sol ou de la vapeur d'eau de l'air, on considère les activités moyennes dans ces deux compartiments établies entre le début de l'exposition et l'instant de chaque prélèvement. Ces activités moyennes (notées $C_{\text{HTO sol moyen}}$ et $C_{\text{HTO air moyen}}$) sont calculées à partir des valeurs mesurées pendant la durée totale d'exposition, incluant les périodes d'éclairement et d'obscurité. Pour rappel, les mesures « instantanées » dans l'eau tissulaire des plants, obtenues à l'issue de chaque prélèvement, ont été présentées au Chapitre II (Tableau 36 et Tableau 38) et le détail des relevés climatiques et des mesures d'activité du tritium dans l'air tout au long des expériences figure en Annexe C. Les incertitudes indiquées dans les tableaux de résultats (notées U) sont calculées selon le même principe que celles associées aux mesures dans les échantillons de laitue (voir détail du calcul en Annexe B.3.3).

2.1.1 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CONTROLEES

5 cm supérieurs										
durée d'exposition	C _{HTO} air moyen		C _{HTO} sol moyen		OBT non échangeable			OBT total		
	j	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹
9	7437	28	1221	7	314	14,9	21	778	32,1	12
16	10928	34	3187	9	244	10,7	23	-	-	-
23	12461	41	-	-	378	-	19	746	-	16
27	12959	43	3185	10	251	12,7	33	1191	53,6	17
30	13493	46	3683	12	347	18,6	16	605	33,9	12
34	13786	48	3869	13	295	14,3	15	762	40,2	13
37	13737	51	3552	14	464	24,2	15	1140	52,9	15
41	13720	53	3593	16	366	17,6	15	937	36,7	18
44	13815	55	3533	17	782	41,8	13	1002	51,9	14
48	13665	57	3543	17	623	27,8	14	965	52,8	13
55	13440	60	3403	18	522	27,6	12	477	26,4	13
62	13373	61	3127	19	380	20,9	16	-	-	-
Moyenne					414	21,0	-	857	42,3	-
Ecart-type					160	9,0	-	229	10,6	-
Témoin 1 (arrosé)					1100	51,7	17	-	-	-
Témoin 2 (non arrosé)					1763	117,1	13	8380	630	10
5 cm inférieurs										
9	7437	28	-	-	211	9,6	24	492	17,5	14
16	10928	34	-	-	248	8,8	33	-	-	-
23	12461	41	-	-	54	-	23	688	-	18
27	12959	43	-	-	185	8,2	32	511	28,3	12
30	13493	46	-	-	371	18,6	25	562	30,3	12
34	13786	48	2065	5	223	12,0	15	673	31,1	14
37	13737	51	4297	9	228	11,1	16	655	29,7	19
41	13720	53	3274	11	237	9,3	13	606	17,3	15
44	13815	55	-	-	228	12,5	14	624	29,3	14
48	13665	57	2717	13	164	9,7	16	783	31,8	16
55	13440	60	2306	14	749	40,2	12	264	-	13
Moyenne					263	14,0	-	574	26,8	-
Ecart-type					178	9,7	-	146	5,9	-
Témoin 1 (arrosé)					119	5,9	21	-	-	-
Témoin 2 (non arrosé)					477	28,6	16	5740	432	11

Tableau 48 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO} air moyen), dans l'eau du sol de culture de plants de laitue (C_{HTO} sol moyen) et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale (OBT total) ou non-échangeable (OBT non-échangeable) d'échantillons de sol secs (5 cm supérieurs et 5 cm inférieurs), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-1.

5 cm supérieurs										
durée d'exposition	C _{HTO} air moyen		C _{HTO} sol moyen		OBT non échangeable			OBT total		
	j	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹
18	8550	38	2426	6	504	21,5	24	526	26,7	13
21	8799	41	2378	8	255	11,4	15	704	34,9	13
25	9293	46	2003	10	341	13,8	21	790	36,6	15
32	9348	49	2073	11	307	15,3	17	810	41,4	13
35	9196	50	2069	12	161	6,8	18	760	35,7	14
39	8914	53	2113	13	412	19,7	18	795	40,3	12
42	8653	54	2065	14	358	14,9	20	809	39,6	14
45	8302	59	1987	15	260	10,3	20	557	26,1	13
54	7999	38	1937	16	418	17,3	17	451	21,3	17
Moyenne					335	14,6		689	33,6	
Ecart-type					103	4,6		140	7,2	
5 cm inférieurs										
18	8550	38	1252	7	87	3,1	30	270	11,3	13
21	8799	41	978	9	1566	67,2	16	299	15,9	12
25	9293	46	1759	10	183	7,5	22	410	21,2	13
32	9348	49	1516	13	211	10,9	16	381	19,9	13
35	9196	50	1353	14	87	3,5	22	444	21,9	14
39	8914	53	1407	14	112	5,0	19	377	16,0	16
42	8653	54	1327	15	84	3,9	20	343	17,0	13
45	8302	59	1231	16	338	14,7	19	390	16,6	15
54	7999	38	1132	18	78	4,2	18	143	6,1	15
Moyenne					148*	6,6*		340	16,2	
Ecart-type					92*	4,2*		91	5,0	

* calculé sur l'ensemble des données exceptée la valeur à 21 jours.

Tableau 49 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO} air moyen), dans l'eau du sol de culture de plants de laitue (C_{HTO} sol moyen) et dans l'eau de combustion de la fraction organique totale (OBT total) ou non-échangeable (OBT non-échangeable) d'échantillons de sol secs (5 cm supérieurs et 5 cm inférieurs), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées CLIM-2.

2.1.2 EXPOSITIONS EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES

durée d'exposition j	C _{HTO} air moyen		C _{HTO} sol moyen		OBT non échangeable		
	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	U (%)	Bq L ⁻¹	Bq kg frais ⁻¹	U (%)
EXT-1							
13	876	18	173	18	124	5,5	12
18	1017	22	164	21	81	3,9	13
26	920	25	142	22	47	2,8	13
33	956	32	197	22	567	13,5	15
40	856	34	168	24	28	1,8	16
47	820	36	187	25	28	1,5	16
54	854	37	211	25	109	4,1	19
61	941	38	235	26	153	6,5	35
Moyenne					81*	3,7*	
Ecart-type					49*	1,9*	
EXT-2							
7	320	17	69	19	145	7,4	40
14	689	22	75	20	246	10,7	48
21	995	25	98	21	265	10,5	56
27	919	29	110	21	134	3,0	44
34	829	32	109	23	1032	44,2	14
42	777	34	104	24	149	6,5	21
55	701	39	98	26	176	7,7	21
Moyenne					186**	7,6**	
Ecart-type					56**	2,8**	
Témoin 1 (arrosé, couvert)					59	2,7	28
Témoin 2 (arrosé, non couvert)					564	17,8	13
Témoin 3 (non arrosé, couvert)					498	25,4	23
Témoin 4 (non arrosé, non couvert)					232	12,3	22

* calculé sur l'ensemble des données exceptée la valeur à 33 jours.

** calculé sur l'ensemble des données exceptée la valeur à 34 jours.

Tableau 50 : Activités HTO mesurées dans la vapeur d'eau de l'air (C_{HTO} air moyen), dans l'eau du sol de culture de plants de laitue (C_{HTO} sol moyen) et dans l'eau de combustion de la fraction organique non-échangeable (OBT non-échangeable) d'échantillons de sol secs (échantillons représentatifs des différentes couches du sol), lors de différents prélèvements au cours de l'expérience d'exposition continue en conditions climatiques réelles EXT-1 et EXT-2.

2.2 TRAITEMENT DES RESULTATS

A l'exception de quelques valeurs très élevées, les activités en tritium organique total ou non échangeable mesurées dans le sol sont relativement stables tout au long de chacune des différentes expériences. Bien qu'aucun biais de mesure n'ait pu être identifié concernant les quelques valeurs très élevées (à 21 jours pour CLIM-2, à 33 jours pour EXT-1 et à 34 jours pour EXT-2), ces mesures sont difficilement explicables par un phénomène de formation naturel du tritium organique dans le sol, d'autant qu'elles sont isolées. Ces valeurs anormalement élevées ne sont pas considérées pour l'exploitation des résultats. Celle-ci repose sur l'estimation des taux d'incorporation moyens du tritium sous forme organique dans le sol, suivant un calcul similaire à celui réalisé pour les échantillons de laitue (cf. paragraphe 1.3.1). Les résultats obtenus à partir des mesures de la fraction organique non-échangeable pour les différentes séries expérimentales sont présentés dans les Tableau 51 et Tableau 52.

$\tau_{\text{OBT-NE/HTO sol moyen}} (\% \text{ h}^{-1})$									
CLIM-1					CLIM-2				
Durée d'exposition (jours)	5 cm supérieurs	U (%)	5 cm inférieurs	U (%)	Durée d'exposition (jours)	5 cm supérieurs	U (%)	5 cm inférieurs	U (%)
9	0,119%	31	-	-	18	0,048%	27	0,016%	33
16	0,020%	28	-	-	21	0,021%	19	-	-
27	0,012%	35	-	-	25	0,028%	25	0,017%	25
30	0,013%	21	-	-	32	0,019%	21	0,018%	22
34	0,009%	21	0,013%	17	35	0,009%	22	0,008%	27
37	0,015%	21	0,006%	19	39	0,021%	23	0,009%	24
41	0,010%	22	0,007%	18	42	0,017%	25	0,006%	25
44	0,021%	22	-	-	45	0,012%	25	0,025%	25
48	0,015%	22	0,005%	21	54	0,017%	24	0,005%	26
55	0,011%	22	0,024%	19					
62	0,008%	25	-	-					
Moyenne	0,023%		0,011%		Moyenne	0,021%		0,013%	
Ecart-type	0,032%		0,008%		Ecart-type	0,011%		0,007%	

Tableau 51 : Taux d'incorporation moyen du tritium de l'eau du sol en tritium organique non échangeable ($\tau_{\text{OBT-NE/HTO sol moyen}}$) au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2), pour des échantillons représentatifs du sol de surface (5 cm supérieurs) ou du fond du pot (5 cm inférieurs).

$\tau_{\text{OBT-NE/HTO sol moyen}} (\% \text{ h}^{-1})$					
EXT-1			EXT-2		
Durée d'exposition (jours)	U (%)		Durée d'exposition (jours)	U (%)	
13	0,111%	23	7	0,219%	45
18	0,064%	25	14	0,291%	52
26	0,034%	26	21	0,209%	60
40	0,012%	29	27	0,085%	49
47	0,010%	30	42	0,080%	32
54	0,032%	32	55	0,085%	33
61	0,036%	44			
Moyenne	0,043%		Moyenne	0,177%	
Ecart-type	0,035%		Ecart-type	0,092%	

Tableau 52 : Taux d'incorporation moyen du tritium de l'eau du sol en tritium organique non échangeable ($\tau_{\text{OBT-NE/HTO sol moyen}}$) au cours des expériences d'exposition continue en conditions climatiques réelles (EXT-1 et EXT-2) pour des échantillons représentatifs de l'ensemble des différentes couches du sol.

2.3 DISCUSSION

2.3.1 INTEGRATION DU TRITIUM ORGANIQUE DANS LE SOL

L'origine du **tritium organiquement lié non-échangeable** dans le sol est liée à la synthèse de biomasse par les microorganismes, qui intègre partiellement le tritium présent sous forme d'eau. Des atomes de tritium peuvent également être incorporés à la fraction organique échangeable du sol par échange isotopique avec des atomes d'hydrogène labiles. Les différentes expériences d'exposition à long terme, en conditions climatiques contrôlées (CLIM-1 et CLIM-2) ou réelles (EXT-1 et EXT-2) font apparaître des concentrations significatives en OBT (total et non-échangeable) dans le sol. Le phénomène de formation du tritium organique dans le sol n'est donc pas négligeable, surtout dans le cas des pots témoins non arrosés, pour lesquels le développement et l'activité biologique des microorganismes devraient théoriquement être moindres.

Globalement, les activités du tritium organique mesurées dans le sol sont très inférieures à celles de l'eau interstitielle et aux activités du tritium organique mesurées dans les feuilles de laitues. Ceci confirme que malgré la permanente dégradation et réutilisation de la matière organique du sol par les microorganismes, le tritium présent sous cette forme ne peut pas être à l'origine des valeurs très élevées trouvées dans les feuilles de laitues lors des expériences en chambre climatique.

Les activités du tritium organique mesurées dans les couches supérieures du sol lors des expériences CLIM-1 et CLIM-2 sont généralement plus élevées que celles mesurées dans les couches inférieures. Cette observation semble en accord avec les concentrations HTO plus importantes dans les premiers centimètres du sol que dans le fond des pots, et s'explique par la diffusion du tritium dans les premiers centimètres du sol.

En conditions climatiques contrôlées, les mesures d'OBT réalisées sur les pots témoin font apparaître des activités très élevées comparativement à celles mesurées tout au long de l'exposition, en particulier dans la fraction organique totale des sols non arrosés. Dans ce cas, la formation de matière organique par les microorganismes a été défavorisée par la sécheresse du sol, mais l'absence d'arrosage a évité le lessivage du tritium déposé en surface du sol. Après plusieurs semaines d'exposition à l'ambiance relativement élevée du bâtiment d'accueil, le tritium a ainsi pu diffuser profondément dans le sol et des quantités importantes de tritium organique échangeable ont été formées dans les pots témoins non arrosés. Compte tenu du faible niveau d'activité biologique au sein des sols non arrosés, il n'est pas étonnant d'obtenir des activités en tritium organique total, formé principalement par échange isotopique entre le tritium de l'air et des atomes d'hydrogène du sol, très supérieures à celles du tritium organique non-échangeable, nécessitant l'action biologique de microorganismes pour la formation de liaisons carbonées. Au contraire, les activités OBT plus faibles obtenues dans les plants témoins arrosés à l'eau de Volvic mettent en évidence le phénomène de lessivage du à l'arrosage.

En extérieur, les différences d'activités OBT entre les différents pots témoins sont moins marquées. L'humidité plus importante de l'air et l'inévitable formation de rosée sur les pots a probablement augmenté le taux d'humidité des pots « secs », et favorisé de ce fait le développement de microorganismes. Il est de ce fait difficile de conclure pour ces expériences à une influence ou non de l'arrosage sur la formation d'OBT dans le sol. D'autre part, la couverture vinyle utilisée pour deux des pots témoins lors de l'expérience EXT-2 n'a pas eu d'influence significative. Cette barrière n'est manifestement pas suffisante pour arrêter le dépôt et la diffusion de tritium dans le sol.

Les niveaux d'exposition atmosphérique, de l'ordre de 10 fois plus importants en chambre climatique qu'en extérieur, ne semblent pas avoir d'influence sur les taux d'incorporation du tritium dans la fraction organique non échangeable du sol (cf. Tableau 51 et Tableau 52). En revanche, ces taux diffèrent fortement en fonction des conditions d'exposition (contrôlées ou réelles), et dans une moindre mesure selon la fraction considérée (centimètres supérieurs ou inférieurs). Ainsi, les taux d'incorporation déterminés dans la fraction supérieure du sol en conditions contrôlées sont environ 2 fois plus élevés que les taux calculés pour la fraction inférieure dans les mêmes conditions, mais 2 à 8 fois inférieurs aux taux observés en conditions climatiques réelles en moyenne. L'explication de ces taux plus élevés en extérieur est probablement liée aux conditions climatiques plus favorables par certains aspects à la formation de matière organique dans le sol, tels qu'une humidité relative plus importante. La présence de vers et d'insectes permet également une meilleure aération du sol en extérieur comparativement aux expériences menées en chambre climatique. De plus, les taux d'incorporation moyens plus importants lors de l'expérience EXT-2 que lors de l'expérience EXT-1 sont peut-être à relier aux saisons différentes auxquelles se sont déroulées ces expériences.

Quelle que soit l'expérience considérée, le taux d'incorporation du tritium organique dans le sol présente des valeurs élevées comparativement aux données de la littérature. Dans leur étude menée sur cinq sols différents, Papke and Förstel (Papke and Foerstel, 1991) ont par exemple déterminé des taux d'incorporation de l'eau tritiée du sol sous forme organique compris entre 0,0002% h⁻¹ pour des **sols bruns** lessivés et des sols forestiers et 0,0003 % h⁻¹ pour des **rendzines** et des **sols bruns**, soit des valeurs 100 à 1000 fois inférieures à celles obtenues dans nos expériences. Néanmoins, les sols utilisés dans leur étude par Papke and Förstel présentaient des taux de matière organique particulièrement bas, de l'ordre de 0,04 à

0,09 % de la matière sèche, alors que ce paramètre est d'environ 0,25 % dans notre sol d'étude. Ceci laisse supposer une activité biologique plus importante du sol dans nos expériences, conduisant logiquement à la formation de quantités de tritium organique plus importantes. Afin de compléter ces données, il serait intéressant dans les expériences à venir de quantifier le nombre et l'activité biologique des microorganismes présents dans le sol de culture, ainsi que les variations au cours du temps de la teneur en matière organique et de la fraction massique en hydrogène dans ce sol.

2.3.2 REMARQUES SUR LA METHODE ANALYTIQUE

D'un point de vue métrologique, les analyses d'OBT dans les sols de culture ont permis d'obtenir des résultats différents pour les deux fractions du tritium organique, total et non échangeable, ce qui n'avait pas été possible pour les échantillons de laitue. La méthode d'extraction à froid du tritium organique échangeable testée dans le cadre de cette étude donne donc des résultats intéressants. Néanmoins, il n'existe pas, à ce jour, de procédure validée pour la mesure de cette fraction, ce qui rend difficile la validation de la technique analytique. De façon à s'assurer de la pertinence des résultats obtenus, il faudrait à l'avenir pourvoir réaliser des exercices d'intercomparaisons avec d'autres laboratoires. Le travail sur des molécules organiques marquées, présentant un pourcentage connu d'atomes de tritium en position échangeable et non-échangeable, permettrait également de tester la fiabilité de la procédure d'extraction des deux fractions.

Les activités du tritium organique, non-échangeable et total, mesurées dans les sols de culture, sont inférieures à celles mesurées dans l'air ambiant et dans l'eau du sol sur la période d'exposition. L'éventuelle erreur systématique entraînant des activités OBT très importantes dans les laitues ne semble pas commise lors de l'analyse des terres. La comparaison des procédures utilisées pour l'analyse des deux matrices est de ce fait une piste pour tenter d'identifier l'erreur. Les principales différences résident dans la quantité de matière utilisée pour le brûlage et dans l'ajout d'eau de référence lors de la combustion des échantillons de laitue. Il a cependant été montré précédemment que ces éléments ne peuvent expliquer à eux seuls les activités tritium obtenues dans la fraction organique des laitues.

CONCLUSIONS

Le travail présenté dans ce chapitre a permis d'étudier l'évolution de l'intégration du tritium sous forme organique au cours de la croissance de plants de laitue, en réponse à une exposition continue, en conditions climatiques réelles. Les expériences réalisées dans ces conditions font clairement apparaître que l'incorporation de l'OBT dépend fortement du stade de développement du végétal, qui est étroitement lié à l'énergie reçue par le plant au cours de sa croissance. Ainsi, la période de plus forte intégration du tritium sous forme organique correspond à la phase de croissance exponentielle des végétaux.

D'autre part, les résultats obtenus vont globalement dans le sens d'une mise à l'équilibre des concentrations du tritium dans le végétal (eau libre et tritium organique) avec celles de l'environnement (atmosphère, sol). Les expériences réalisées en conditions climatiques contrôlées, pour des niveaux atmosphériques relativement importants, ont néanmoins révélé des activités OBT anormalement élevées dans les laitues au regard des niveaux d'exposition. Ces résultats laissent supposer une erreur expérimentale systématique qui n'a cependant pas pu être identifiée, et posent de ce fait la question d'un possible phénomène d'accumulation locale du tritium dans la matière organique pour des conditions particulières d'exposition. Afin d'infirmer ou de valider ces résultats, de nouvelles expériences pourraient être menées en faisant varier les paramètres climatiques et les niveaux d'exposition. Pour écarter tout biais de mesure potentiel, les quantités de laitue sèche destinées à la combustion devront être de l'ordre de quelques grammes et les ajouts d'eau évités.

En attente de la validation des mesures du tritium organique en conditions contrôlées, la caractérisation biologique de l'incorporation du tritium sous forme organique demeure difficile. Néanmoins, ces expériences ont permis d'amorcer une réflexion sur deux indicateurs biologiques qui pourraient par la suite être reliés aux mesures du tritium organique : la teneur en **protéines** totales et l'activité photosynthétique via la mesure des échanges gazeux. Des corrélations entre, d'une part, la concentration en **protéines** totales et l'âge biologique des feuilles, et d'autre part l'activité photosynthétique et l'âge biologique des feuilles ont ainsi été mises en évidence. Les deux indicateurs biologiques **protéines** et photosynthèse sont à leur maximum dans les feuilles jeunes puis diminuent de manière régulière au cours du vieillissement. Compte tenu de ces variations, ces indicateurs devront à l'avenir être considérés à l'échelle de la feuille (et non du plant entier) et être mesurés tout au long de la croissance des plants afin de disposer d'une information intégrée sur le temps comparable à l'activité en tritium organique.

Les activités en tritium organique mesurées dans le sol sont significatives, bien que nettement inférieures à celles présentes dans les laitues. Le dépôt et la diffusion du tritium dans le sol suffisent à entraîner des activités élevées dans la fraction organique échangeable, même dans un sol très sec. Au contraire, l'arrosage avec de l'eau quasiment dépourvue de tritium lessive les activités présentes dans l'eau du sol et empêche la formation de quantités d'OBT importantes par les microorganismes.

Enfin, ces expériences ont apporté un certain nombre d'informations pertinentes d'un point de vue métrologique. La technique analytique d'extraction à froid du tritium échangeable utilisée pour les échantillons de sols donne des résultats intéressants qu'il conviendra de confirmer par des mesures sur des molécules marquées ou grâce à des exercices d'intercomparaisons avec d'autres laboratoires. En revanche, l'extraction à chaud utilisée pour

Résultats :

Chapitre IV, étude de l'intégration du tritium sous forme organique chez la laitue lors d'une exposition atmosphérique continue

229

les laitues ne permet pas de dissocier les fractions organiques non-échangeable et totale, et devra être reconsidérée.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES



CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Trois objectifs majeurs, définis dans l'introduction de ce manuscrit, constituaient le projet initial de notre étude sur la laitue (*Lactuca sativa* L.):

- acquérir une maîtrise optimale des mécanismes de transfert du tritium des différents compartiments environnementaux vers la plante, à travers l'identification des voies de transfert et l'étude biocinétique de ces transferts,
- comprendre et quantifier les mécanismes biologiques impliqués dans l'incorporation sous forme organique du tritium,
- modéliser les résultats obtenus dans le but de caractériser un matériel biologique de référence pour les modèles dosimétriques prédictifs.

Notre étude apporte des éléments de réponses à chacun de ces objectifs et ouvre de nouvelles perspectives.

Concernant les transferts du tritium vers la plante, des expositions de courte durée (24 h) de plants à une atmosphère tritiée en conditions climatiques contrôlées ont montré que la voie foliaire joue un rôle primordial dans l'absorption du tritium au sein du végétal. Pour les conditions d'exposition considérées, la contribution du sol au transfert de tritium vers la plante est très limitée et l'activité HTO dans l'eau des feuilles provient en majeure partie de l'air. Les cinétiques d'absorption du tritium sous forme d'eau tissulaire ont été établies pour ces expériences. Elles font apparaître que le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre des activités présentes dans l'eau tissulaire et dans la vapeur d'eau de l'air est de plusieurs heures quels que soient le stade de développement des plants et les conditions d'éclairement. Le temps de mise à l'équilibre de l'eau du sol en réponse au même type d'exposition dépasse 24 heures dans la plupart des cas.

Sur la base des données cinétiques, le rapport des activités dans l'eau tissulaire de la plante et dans la vapeur d'eau de l'air à l'équilibre a été estimé par un modèle mathématique du premier ordre à environ 0,4 quelles que soient les modalités expérimentales. Cette valeur a été confirmée pour des expositions de longue durée (plusieurs semaines), en conditions climatiques contrôlées et réelles. Le même modèle mathématique a permis d'estimer le rapport à l'équilibre des activités de l'eau du sol à celle de la vapeur d'eau de l'air à des valeurs comprises entre 0,01 et 0,26. Ces valeurs sont légèrement plus faibles que celles mesurées expérimentalement lors des expositions de longue durée, de l'ordre de 0,2 à 0,3. Afin d'observer la mise en place de l'équilibre des activités dans le sol, et d'affiner les paramètres du modèle cinétique, de nouvelles expériences se déroulant sur de plus longues durées pourraient être réalisées.

L'influence des phénomènes physiologiques et des conditions d'éclairement sur les vitesses d'absorption du tritium au sein des plantes et de leur sol de culture a été mise en évidence. Néanmoins, cette influence demeure difficile à interpréter par manque d'informations biologiques et du fait de conditions climatiques (température, hygrométrie) peu différentes entre les périodes d'éclairement et les périodes d'obscurité dans nos expériences. Le développement des mesures biologiques et l'augmentation du contraste diurne/nocturne des conditions climatiques pourraient permettre d'obtenir des résultats plus différenciés en fonction du stade de maturité et des conditions d'éclairement.

Concernant l'intégration du tritium sous forme organique, les expériences réalisées en conditions climatiques réelles ont permis de calculer un taux d'incorporation du tritium de l'eau tissulaire sous forme organique, de l'ordre de 0,13 à 0,16 % h⁻¹ en moyenne sur la durée de vie entière de la plante. Ces expériences ont par ailleurs montré que l'incorporation de l'OBT dépend fortement du stade de développement du végétal. La période de plus forte intégration du tritium sous forme organique correspond à la phase de croissance exponentielle des végétaux.

A ce stade de l'étude, la caractérisation biologique de la formation d'OBT demeure cependant difficile. Deux indicateurs pourraient à l'avenir permettre de relier l'intégration organique du tritium à l'activité biologique des plants : la teneur en **protéines** totales et l'activité photosynthétique via la mesure des échanges gazeux. Ces deux indicateurs sont à leur maximum dans les feuilles jeunes puis diminuent de manière régulière au cours du vieillissement. Ils pourraient donc permettre une caractérisation de l'incorporation du tritium organique à l'échelle de la feuille et/ou en fonction de l'âge des plants. De plus, le développement de ces mesures biologiques apporterait sans doute des éléments permettant de quantifier l'incidence de la variabilité biologique sur l'intégration organique du tritium, et la possibilité de transposer éventuellement les résultats obtenus à d'autres espèces végétales.

Les résultats obtenus pour les expositions continues réalisées en conditions extérieures et pour de faibles niveaux d'activité atmosphérique (quelques Bq m⁻³) rejoignent les données de la littérature et vont dans le sens d'une mise à l'équilibre des concentrations du tritium entre les différents compartiments environnementaux (atmosphère, sol, plante). Ceci se traduit notamment par un ratio des activités spécifiques du tritium de la matière organique et de l'eau tissulaire des plants exposés proche de l'unité. En revanche, les expériences réalisées en conditions climatiques contrôlées et pour des niveaux d'activités plus importants (quelques centaines de Bq m⁻³) ont révélé des activités dans la matière organique des plants anormalement élevées au regard des niveaux d'exposition. Ces derniers résultats posent la question d'un possible biais de mesure systématique ou d'un réel phénomène d'accumulation du tritium dans la matière organique des laitues. Aucun biais de mesure n'a pu être mise en évidence mais il n'est cependant pas exclu qu'un élément non identifié ait pu créer des conditions expérimentales particulières entraînant un biais de mesure important. D'un autre côté, les mécanismes d'intégration du tritium au sein d'une plante se déroulent dans un système ouvert, fonctionnant dans la durée. Il n'est de ce fait pas impossible d'imaginer des processus fixant du tritium dans des molécules organiques en cours d'élaboration, conduisant, sur le long terme, à des discriminations au niveau d'un organe particulier ou d'une phase de développement de la plante entière. Toutefois, compte tenu des incertitudes de mesure importantes associées aux résultats obtenus en conditions contrôlées, et du faible nombre de répétitions de ces expériences, il n'est pas possible de conclure avec ces données seules à une discrimination du tritium par rapport à l'hydrogène pouvant favoriser l'accumulation d'OBT. Il semble donc prudent dans l'état actuel des connaissances de conserver l'hypothèse d'une équivalence des comportements de l'hydrogène et du tritium impliqués dans les réactions métaboliques des végétaux. Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus en chambre climatique, il faudrait mener de nouvelles expériences d'exposition continue en faisant varier les paramètres climatiques et les niveaux d'exposition, et en développant les mesures biologiques associées.

En outre, les éventuels phénomènes de discrimination sont d'autant plus difficiles à appréhender dans le cadre de nos expériences que la formation de l'OBT n'a pu être étudiée que de façon discontinue sur le long terme (prélèvements à intervalles de quelques jours durant plusieurs semaines). En raison d'activités atmosphériques intégrées sur quelques heures lors de l'exposition en chambre climatique faibles par rapport à celles mesurées en extérieur lors de la croissance des plants, les expériences à court-terme n'ont pas permis d'établir les cinétiques d'intégration du tritium sous forme organique dans les premières heures d'exposition. Il serait intéressant à l'avenir d'obtenir cette donnée afin de mieux comprendre les mécanismes de formation du tritium organique, et de mettre en évidence (ou non) d'éventuels phénomènes de discrimination par rapport à l'hydrogène au cours de ces processus. Pour cela, il s'agirait de

disposer d'activités intégrées durant l'exposition en chambre climatique significativement supérieures à celles intégrées durant la période de croissance des plants en extérieur. Une approche consisterait à réaliser cette phase de croissance des plants en dehors du site de Valduc, dans une ambiance présentant des niveaux de tritium naturels. Une autre solution serait de placer la chambre climatique dans une ambiance présentant des activités HTO au moins 100 fois plus élevées que celles considérées dans nos expériences. D'autre part, compte tenu des faibles quantités de matière produite par les plants en 24 h, il faudrait également envisager d'exposer les plants sur des périodes plus longues, de l'ordre de quelques jours.

La formation du tritium organique dans le sol ne constituait pas l'objectif principal de notre étude mais quelques résultats ont été obtenus sur cette question. Les différentes expériences réalisées dans le cadre de cette étude ont en effet montré que le dépôt et la diffusion du tritium dans le sol suffisent à entraîner des activités significatives dans la fraction organique via les phénomènes d'échange. De plus, les microorganismes présents dans le sol semblent produire, de par leur activité biologique, de faibles quantités de **tritium organiquement lié non échangeable**. Néanmoins cet aspect n'a pas été approfondi et pourrait l'être lors d'études futures.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont été partiellement modélisés. Ainsi, l'établissement des courbes cinétiques d'absorption du tritium dans l'eau tissulaire des plants et dans leur sol de culture, la confrontation des concentrations mesurées en situation d'équilibre aux prédictions de modèles et la détermination des taux d'incorporation du tritium au sein de la matière organique, ont permis d'initier la caractérisation de la laitue comme matériel biologique de référence pour les modèles dosimétriques prédictifs. A l'avenir, cette caractérisation devra être complétée par la quantification et la modélisation des mécanismes biologiques impliqués dans l'intégration sous forme organique du tritium.

Enfin, au-delà des objectifs initiaux, notre travail apporte un certain nombre d'éléments intéressants à prendre en compte pour les recherches futures du point de vue expérimental. En premier lieu, les conditions environnementales auxquelles les plants de laitue ont été soumis se sont avérées relativement particulières, et globalement peu réalistes du point de vue agricole. En particulier, le choix a été fait lors de l'établissement du protocole expérimental de ne pas ajouter de fertilisants azotés afin de ne pas fausser le modèle établi et rendre les différentes séries d'expérimentations incomparables, mais l'utilisation d'un sol relativement pauvre en azote a vraisemblablement entraîné un développement limité des plants. Lors des prochaines expérimentations, l'emploi d'un autre sol de culture et/ou de fertilisants azotés pourrait permettre d'obtenir des plants de laitue plus représentatifs de situations normales de culture en plein champ. Des expériences spécifiques devront dans ce cas être menées au préalable afin d'étudier l'influence ou non du paramètre « azote » dans les transferts du tritium aux végétaux, notamment concernant l'incorporation du tritium organique.

Du point de vue métrologique, la technique analytique d'extraction à froid du tritium échangeable utilisée pour les échantillons de sols a apporté des résultats intéressants qu'il conviendra de confirmer par la suite. En revanche, les deux techniques d'extraction à froid et à chaud testées pour les échantillons secs de laitue n'ont pas permis de dissocier les fractions organiques non-échangeable et totale, et devront donc être revues. Il serait instructif d'identifier les molécules organiques extraites au cours du processus d'échange afin de repenser la définition même de la fraction échangeable, en termes non pas chimiques, mais biologiques.

Enfin, les incertitudes associées aux mesures du tritium organique total demeurent très importantes, et conduisent, associées à la grande variabilité biologique du végétal d'étude, à des variations de mesure d'un facteur 2 à 3. Afin d'écartier tout biais de mesure lors de la phase de combustion des échantillons secs, les expériences futures devront fournir des quantités de matière plus importantes, ne nécessitant pas d'ajout d'eau pour le brûlage. Cette nécessité peut

rejoindre celle de disposer de plants de laitue de taille plus importante afin d'être plus représentatif des pratiques agricoles.

Pour conclure, les résultats obtenus au cours de notre étude sont très spécifiques de l'espèce végétale utilisée (la laitue) et des conditions expérimentales particulières mises en œuvre. Qu'en serait-il pour d'autres végétaux et d'autres conditions de culture ? Des études similaires pourraient être menées sur d'autres plantes représentatives d'un groupe de végétaux aux caractéristiques et fonctionnement biologiques proches, tels que les plantes formant des tubercules, des fruits, ou encore des graines consommés par l'homme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Directive n° 98/83/CE** du 03/11/98 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. JOCE n° L 330 du 5 décembre 1998 et rectific. JOCE n° L 111 du 20 avril 2001.
- AFNOR, 1994.** NF X 07-001: Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie.
- AFNOR, 1999a.** NF ENV 13005: Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure.
- AFNOR, 1999b.** NF M 60-312: Mesure de la radioactivité dans l'environnement - Air. Détermination par scintillation liquide de l'activité volumique du tritium atmosphérique prélevé par la technique de barbotage de l'air dans l'eau.
- AFNOR, 2000.** NF M 60 802-1: Mesure de la radioactivité dans l'environnement - eau- Partie 1: Mesurage de l'activité des émetteurs Bêta par scintillation liquide - Cas particulier du tritium.
- AFNOR, 2005.** NF ISO 17126: Qualité du sol - Détermination des effets des polluants sur la flore du sol - Essai de détection de l'émergence des plantules de laitue (*Lactuca sativa* L.).
- AFNOR, 2006.** NF ISO 11269-2: Qualité du sol - Détermination des effets des polluants sur la flore du sol - Partie 2: Effets des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs.
- Alvarez, L.W., Cornog, R., 1939.** Helium and hydrogen of mass three. *Physical Review*, **56**: 613.
- Amano, H., 1995.** Preliminary measurement on uptake of tritiated methane by plants. *Fusion Science and Technology*, **28**: 797-802.
- Amano, H., Kasai, A., 1988.** The transfer of atmospheric HTO released from nuclear facilities during normal operation. *Journal of Environmental Radioactivity*, **8**: 239-253.
- Amano, H., Garten, C.T., 1991.** Uptake of tritium by plants from atmosphere and soil. *Environment International*, **17**: 23-29.
- Amano, H., Atarashi, M., Noguchi, H., Yokoyama, S., Ichimasa, Y., Ichimasa, M., 1995.** Formation of organically bound tritium in plants during the 1994 chronic HT release experiment at Chalk River. *Fusion Science and Technology*, **28**: 803-808.
- Anspaugh, L.R., Koranda, J.J., Robinson, W.L., Martin, J.R., 1973.** The dose to man via food-chain transfer resulting from exposure to tritiated water vapour, in "Tritium", pp. 405-422, Moghissi, A.A. & Carter, M.W. ed., Phoenix, AZ, Messenger Graphics.
- Arai, K., Takeda, H., Iwakura, T., 1985.** Studies of the tritium Uptake in Some Edible Plants and Transfer to the Rat, rapport NIRS-M-52, p. 35-49.
- Aronoff, S., Choi, I.C., 1963.** Specific activity of photosynthetic sugars in soybean leaves equilibrated with tritiated water. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **102**: 159-160.
- Atarashi-Andoh, M., Amano, H., Ichimasa, M., Ichimasa, Y., 2002.** Conversion rate of HTO to OBT in plants. *Fusion Science and Technology*, **41 (3)**: 427-431.
- Baglan, N., Alanic, G., Pointurier, F., 2005.** Tritium determination at trace level: which strategy to determine accurately HTO and OBT in environmental samples? *Fusion Science and Technology*, **48**: 749-754.

- Banik, S.P., Pal, S., Ghorai, S., Chowdhury, S., Khowala, S., 2009.** Interference of sugars in the Coomassie Blue G dye binding assay of proteins. *Analytical Biochemistry*, **386**: 113-115.
- Bargel, H., Barthlott, W., Koch, K., Schreiber, L., Neinhuis, C., 2004.** Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment. *The Evolution of Plant Physiology*, 171-197.
- Barry, P.J., Watkins, B.M., Belot, Y., Davis, P.A., Edlund, O., Galeriu, D., Raskob, W., Russell, S., Togawa, O., 1999.** Intercomparison of model predictions of tritium concentrations in soil and foods following acute airborne HTO exposure. *Journal of Environmental Radioactivity*, **42**: 191-207.
- Baumgartner, F., Kim, M.-A., 1990.** Isotope effects in the equilibrium and non-equilibrium vaporization of tritiated water and ice. *Applied Radiation and Isotopes*, **41(4)** : 395-399.
- Baumgartner, F., Kim, M.-A., 1995.** Kinetic studies of tritium incorporation in plants. *Fusion Science and Technology*, **28**: 814-820.
- Baumgartner, F., Donhaerl, W., 2004.** Non-exchangeable organically bound tritium (OBT) : Its real nature. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **379 (2)**: 204-209.
- Bé, M.M., Blanchis, P., Dulieu, C., 2004.** Note technique LNHB/04-13: Arrondissement des résultats de mesure – Nombre de chiffres significatifs, Laboratoire National Henri Becquerel.
- Belot, Y., 1986.** Tritium in plants : a review. *Radiation Protection Dosimetry*, **16 (1-2)**: 101-105.
- Belot, Y., Caput, C., Gauthier, D., 1986.** Distribution of the organically bound tritium in vegetation exposed to fall-out. *Radiation Protection Dosimetry*, **16 (1-2)**: 111-113.
- Belot, Y., Guenot, J., Caput, C., 1988.** Emission to atmosphere of tritiated water formed at soil surface by oxidation of HT. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1231-1234.
- Belot, Y., Roy, M., Métivier, H., 1996.** *Le tritium de l'environnement à l'homme*. Collection IPSN, les Editions de Physique, Les Ulis.
- Belot, Y., Gauthier, D., Camus, H., Caput, C., 1979.** Prediction of the flux of tritiated water from air to plant leaves. *Health Physics*, **37**: 575-583.
- Belot, Y., Guenot, J., Caput, C., Bourdeau, F., 1984.** Modelling of tritiated water movement in a soil-plant-atmosphere system, in "Congress of the International Radiation Protection Association", Berlin, Germany.
- Bensink, J., 1971.** On morphogenesis of lettuce leaves in relation to light and temperature. Meded, Landbouwhogeschool Wageningen ed.
- Biddulph, O., Cory, R., 1957.** An analysis of translocation in the phloem of the bean plant using THO, P³², and C^{14,12}. *Plant Physiology*, **32**: 608-619.
- Bierhuizen, J.F., Ebbens, J.L., Koomen, N.C.A., 1973.** Effects of temperature and radiation on lettuce growing. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **21**: 110-116.
- Bogen, D.C., Henkel, C.A., White, C.G.C., Welford, A., 1973.** A method for the determination of tritium distribution in the environment and biological samples. *Journal of Radioanalytical Chemistry*, **13**: 335-341.
- Boivin, A., Amellal, S., Schiavon, M., van Genuchten, M.T., 2005.** 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Environmental Pollution*, **138**: 92-99.
- Bonhomme, R., 1996.** Fondements et limites de l'utilisation des "sommes de degré.jour", in "La température et le fonctionnement des couverts végétaux - Actes des journées du département de Bioclimatologie". INRA, p.138-151.

- Boyer, C., Vichot, L., Boissieux, T., Losset, Y., Mavon, C., Tatin-Froux, F., Fromm, M., Badot, P.M., 2009.** Variations of conversion rate from Tissue Free Water Tritium to Organically-Bound Tritium in lettuces continuously exposed to atmospheric HT and HTO. *Radioprotection*, **44 (5)**:671-676.
- Bradford, M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
- Browne, E., Firestone, R., 1986.** *Table of radioactive isotopes*. Shirley, Wiley Interscience Publication.
- Brudenell, A.J.P., Collins, C.D., Shaw, G., 1997.** Dynamics of tritiated water (HTO) uptake and loss by crops after short-term atmospheric release. *Journal of Environmental Radioactivity*, **36 (2-3)**: 197-218.
- Bruno, J.F., Papy, F., 1992.** Mieux gérer la sole de laitue dans la vallée de la Seine. *Cahiers Agricultures*, **1**: 95-100.
- Bunnenberg, C., Feinhals, J., Wiener, B., 1986.** Differences in the behaviour of HTO and H₂O in soil after condensation from the atmosphere and conversion of HT to HTO and OBT in soil relative to moisture content and pore volume. *Radiation Protection Dosimetry*, **16 (1-2)**: 83-87.
- CARMIN, 2008a.** <http://www-carmin.cea.fr/espace-pedagogique/rayonnements-ionisants-et-sante/fiches-de-synthese/effets-aleatoires-tardifs/les-faibles-doses>.
- CARMIN, 2008b.** <http://www-carmin.cea.fr/espace-pedagogique/rayonnements-ionisants-et-sante/les-radionucleides/le-tritium-3h>.
- Cassette, P., 2004.** Mesures de radioactivité par scintillation liquide. *Techniques de l'ingénieur*, **P2552**: 1-19.
- Choi, I.C., Aronoff, S., 1966.** Photosynthate transport using tritiated water. *Plant Physiology*, **41**: 1119-1129.
- Choi, Y.H., Kim, K.M., Park, H.K., Lee, W.Y., 2000.** Incorporation into organically bound tritium and the underground distribution of HTO applied to a simulated rice field. *Journal of Environmental Radioactivity*, **47**: 279-290.
- Choi, Y.H., Lim, K.M., Lee, W.Y., Diabaté, S., Strack, S., 2002.** Tissue free water tritium and organically bound tritium in the rice plant acutely exposed to atmospheric HTO vapor under semi-outdoor conditions. *Journal of Environmental Radioactivity*, **58**: 67-85.
- Choi, Y.H., Lim, K.M., Lee, W.Y., Park, H.G., Choi, G.S., Keum, D.K., Lee, H., Kim, S.B., Lee, C.W., 2005.** Tritium levels in Chinese cabbage and radish plants acutely exposed to HTO vapor at different growth stages. *Journal of Environmental Radioactivity*, **84**: 79-94.
- Cline, J.F., 1953.** Absorption and metabolism of tritium oxide and tritium gas by bean plants. *Plant Physiology*, **28**: 717-723.
- Couchat, P., Puard, M., Lasceve, G., 1983.** Tritiated water vapor exchange in sunflowers. *Health Physics*, **45 (3)**: 757-764.
- Daillant, O., Boilley, D., Gerzabek, M., Porstendörfer, J., Tesch, R., 2004a.** Metabolised tritium and radiocarbon in lichens and their use as biomonitors. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **49**: 329-341.
- Daillant, O., Kirchner, G., Pigrée, G., Porstendörfer, J., 2004b.** Lichens as indicators of tritium and radiocarbon contamination. *Science of the Total Environment*, **323**: 253-262.

- Dapoigny, L., Fleury, A., Robin, P., 1997.** Relation entre la vitesse relative de croissance et la teneur en azote chez la laitue (*Lactuca sativa* L.) - Effets du rayonnement et de la température. *Agronomie*, **17**: 35-41.
- Davis, P.A., Kotzer, T.G., Workman, W.J.G., 2002.** Environmental Tritium Concentrations due to continuous atmospheric sources. *Fusion Science and Technology*, **41**: 453-457.
- Davis, P.A., Balonov, M., Venter, A., 2005a.** Activities of the EMRAS tritium/C¹⁴ working group. *Fusion Science and Technology*, **48 (1)**: 423-430.
- Davis, P.A., Kim, S.B., Chouhan, S.L., Workman, W.J.G., 2005b.** Observed and modeled tritium concentrations in the terrestrial food chain near a continuous atmospheric source. *Fusion Science and Technology*, **48 (1)**: 504-507.
- Delrot, S., 2000.** Les sèves et leur circulation, in "De la graine à la plante". *Pour la science*, dossier hors-série, janvier 2000 : 28-33.
- Deriot, D., 1986.** Rapport interne CEA/BIII/SPR.
- Diabaté, S., Honig, D., 1988.** Conversion of molecular tritium to HTO and OBT in plants and soils. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1235-1240.
- Diabaté, S., Strack, S., 1990.** Doses due to tritium release by NET- Data base and relevant parameters on biological tritium behaviour. KfK 4713, Kernforschungszentrum Karlsruhe.
- Diabaté, S., Strack, S., 1992.** Studies on translocation of tritiated assimilates into potatoes and wheat grains, in "Symposium on Radioecology, Chemical Speciation-Hot Particles". Znojmo, CSFR.
- Diabaté, S., Strack, S., 1993.** Organically bound tritium. *Health Physics*, **65 (6)**: 698-712.
- Diabaté, S., Strack, S., 1997.** Organically bound tritium in wheat after short-term exposure to atmospheric tritium under laboratory conditions. *Journal of Environmental Radioactivity*, **36 (2-3)**: 157-175.
- Dinner, P.J., Gorman, D.J., Spencer, F.S., 1980.** Tritium dynamics in vegetables: Experimental results. *Applied Radiation and Isotopes*, **31 (8)**: 460-465.
- Douillard, R., Godon, B., 1985.** *Protéines végétales*, Lavoisier, Paris.
- Doury, A., 1982.** Operational calculation aids for atmospheric dispersion, *The Science of the Total Environment*, **25 (1)**: 3-17.
- Doury, A., 1988.** A design basis for the operational modelling of atmospheric dispersion, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, **1 (3)**: 156-163.
- Dunstall, T.G., Ogram, G.L., 1990.** Diffusion and biological oxidation as component processes regulating the deposition of tritiated hydrogen to soils. Ontario Hydro Research Division, rapport 90-235-K.
- Eisenbud, M., Bennett, B., Blanco, R., Compere, E., Goldberg, E., Jacobs, D., Koranda, J., Moghisi, A., Rust, J., Soldat, J., Crandell, J., Bailey, C., Reinig, W., Grimes, W., Fearon, T., 1978.** Tritium in the environment. National Council on Radiation Protection and Measurements, rapport NCRP 62.
- Elwood, J.W., 1971.** Ecological aspects of tritium behavior in the environment. *Nuclear Safety*, **12 (4)**: 326-337.
- Erickson, R.O., 1976.** Modeling of plant growth. *Annals Review of Plant Physiology*, **27**: 407-434.
- Evenden, W.G., Sheppard, S.C., Killey, R.W.D., 1998.** Carbon-14 and tritium in plants of a wetland containing contaminated groundwater. *Applied Geochemistry*, **13**: 17-21.

- Foerstel, H., 1986.** Uptake of elementary tritium by the soil. *Radiation Protection Dosimetry*, **16 (1-2)**: 75-81.
- Foerstel, H., 1988.** HT to HTO conversion in the soil and subsequent tritium pathway : field release data and laboratory experiments. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1241-1246.
- Foerstel, H., Trierweiler, H., Lepa, K., 1987.** Confirmation of laboratory results by HT releases under field conditions: HT deposition velocity and reemission rate, in "Reliability of radioactive transfer models" (workshop), Athens. Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- Foulquier, L., Pally, M., 1982.** Données sur la teneur en tritium lié de poissons des grands fleuves français. *Annales de l'association belge de radioprotection*, **7 (3-4)**: 259-281.
- Fuma, S., Inoue, Y., 1995.** Simplified and sensitive analysis of organically bound in tree rings to prospect environmental tritium levels. *Applied Radiation Isotopes*, **46 (10)**: 991-997.
- Gage, R.S., Aronoff, S., 1960.** Translocation III. Experiments with carbon 14, chlorine 36, and hydrogen 3. *Plant Physiology*, **35**: 53-64.
- Galeriu, D., 1994.** Transfer Parameters for Routine Release of HTO - incorporation of OBT. Atomic Energy of Canada, rapport AECL 11052, COG -94-76.
- Galeriu, D., Davis, P., Chouhan, S., Raskob, W., 1995.** Uncertainty and sensitivity analysis for the environmental tritium code UFOTRI. *Fusion Science and Technology*, **28 (issue 3 pt 1)**: 853-858.
- Galeriu, D., Paunescu, N., Raskob, W., 1998.** Review of processes and parameter uncertainties of present tritium modelling. RODOS (WG3) – TN (98) - 08.
- Galeriu, D., Davis, P., Raskob, W., Melintescu, A., 2008.** Recent progresses in tritium radioecology and dosimetry. *Fusion Science and Technology*, **54 (1)**: 237-242.
- Gallien, A., 2005.** <http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/>.
- Garland, J.A., 1980.** The absorption and evaporation of tritiated water vapor by soil and grassland. *Water, Air and Soil Pollution*, **13**: 317-333.
- Garland, J.A., Ameen, M., 1979.** Incorporation of tritium in grain plants. *Health Physics*, **36**: 35-38.
- Garland, J.A., Cox, L.C., 1980.** The absorption of tritium gas by English soils and plants and the sea. *Water, Air and Soil Pollution*, **14**: 103-114.
- Garland, J.A., Cox, L.C., 1982.** Uptake of tritiated water vapor by bean leaves. *Water, Air and Soil Pollution*, **17**: 207-212.
- Glugla, M., Antipenkov, A., Beloglazov, S., Caldwell-Nichols, C., Cristescu, I.R., Cristescu, I., Day, C., Doerr, L., Girard, J.-P., Tada, E., 2007.** The ITER tritium systems, *Fusion Engineering and Design*, **82 (5-14)**: 472-487.
- Golubev, A.V., 2003.** A test of atmospheric release models using Russian data, in "Modeling the environmental transport of tritium in the vicinity of long-term atmospheric and sub-surface sources", Part C, IAEA-BIOMASS-3. IAEA ed., Vienna.
- Golubev, A.V., Belovodsky, L.F., Golubeva, V.N., Kosheleva, T.A., Kuznetsova, V.F., Mavrin, S.V., Surano, K., Hoppes, W., 2002a.** Application of lichens for assessment of atmospheric pollution by tritium. *Fusion Science and Technology*, **41 (3)**: 409-412.
- Golubev, A.V., Belovodsky, L.F., Mavrin, S.V., Aleinikov, A.Y., Stengach, A.V., Khabibulin, M.M., Vereshchaga, A.N., Kharkhordin, I.L., Rumynin, V.G., 2002b.** Complex model to study long term environmental tritium behavior. *Fusion Science and Technology*, **41 (3)**: 458-463.

- Golubev, A.V., Golubeva, V.N., Kosheleva, T.A., Kuznetsova, V.F., Mavrin, S.V., Aleinikov, A.Y., Stengach, A.V., Hoppes, W., Surano, K., 2003.** Using lichens to monitor Contamination of atmosphere. *Environmental Archives*, **1**: 619-625.
- Grosse, A.V., Johnston, W.M., Wolfgang, R.L., Libby, W.F., 1951.** Tritium in Nature. *Science*, **113** (1-2).
- Guenot, J., 1984.** Comportement du tritium dans les végétaux supérieurs, thèse CEA-R-5269.
- Guenot, J., Belot, Y., 1984.** Assimilation of ^3H in photosynthesizing leaves exposed to HTO. *Health Physics*, **47** (6): 849-855.
- Guétat, P., Armand, P., 2003.** Rapport technique interne CEA - Projet EDF/CIDEN - IV - Présentation du modèle et des résultats de calcul pour le tritium.
- Guétat, P., Douche, C., Hubinois, J.C., 2008a.** Le tritium et l'environnement : sources, mesures et transferts. *Radioprotection*, **43** (4): 547-569.
- Guétat, P., Douche, C., Hubinois, J.C., 2008b.** Tritium and the environment: sources, measurement and transfer, in "Radiation protection no 152: Emerging Issues on Tritium and Low Energy Beta Emitters", EU scientific seminar 2007.
- Gulden, W., Raskob, W., 2005.** Environmental release targets for fusion power plants. *Fusion engineering and Design*, **75-79**: 1211-1216.
- Hamby, D.M., Bauer, L.R., 1994.** The vegetation to air concentration ratio in a specific activity atmospheric tritium model. *Health Physics*, **66**: 339-342.
- Harms, A.V., Jerome, S.M., 2004.** Development of an organically bound tritium standard. *Applied Radiation and Isotopes*, **61**: 389-393.
- Hisamatsu, S., Katsumata, T., Takizawa, Y., 1991.** Tritium concentration in unpolished rice. *Journal of Radiation Research*, **32**: 389-394.
- Hisamatsu, S., Takizawa, Y., Abe, T., Katsumata, T., 1987.** Fallout ^3H ingestion in Akita, Japan. *Health Physics*, **53**: 287-293.
- Hisamatsu, S., Takizawa, Y., Itoh, M., Ueno, K., Katsumata, T., Sakanoue, M., 1989.** Fallout ^3H in human tissue at Akita, Japan. *Health Physics*, **57**: 559-563.
- Hisamatsu, S., Amano, H., Isogai, K., Atarashi, M., Zhu, H., Takizawa, Y., 1998.** Organically-bound ^3H concentration in rice around atomic energy facilities. *Health Physics*, **74** (4): 448-450.
- Hopkins, W.G., 1995.** *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley & Sons, Inc.
- HPA 2007,** Review of Risks from Tritium, in "Report of the independent Advisory Group on Ionising Radiation (AGIR)", Health Protection Agency, Radiation, Chemical and Environmental Hazards, United Kingdom.
- IAEA, 2003.** Modelling the environmental transport of tritium in the vicinity of long term atmospheric and sub-surface sources, in "BIOSphere Modelling and ASSEssment (BIOMASS) program". Tritium Working group. Vienna, Austria.
- IAEA, 2007a.** Definition of Organically Bound Tritium (OBT), in "Environmental Modelling for Radiation Safety (EMRAS) program". Tritium and C-14 Working Group. Vienna, Austria.
- IAEA, 2007b.** TecDoc associated to TRS 364, in "Environmental Modelling for Radiation Safety (EMRAS) program". Tritium and C-14 Working Group. Vienna, Austria.
- IAEA, 2008.** <http://www-ns.iaea.org/projects/emras/emras-tritium-wg.htm>.

- Ichimasa, M., Suzuki, M., Obayashi, H., Sakuma, Y., Ichimasa, Y., 1999.** In vitro determination of oxidation of atmospheric tritium gas in vegetation and soil in Ibaraki and Gifu, JAPAN. *Journal of Radiation Research*, **40**: 243-251.
- Ichimasa, M., Ichimasa, Y., Yagi, Y., Kou, R., Suzuki, M. Akita, Y., 1989.** Oxidation of atmospheric molecular tritium in plant leaves, lichens and mosses. *Journal of Radiation Research*, **30**: 323-329.
- ICRP, 1983.** *Radionuclide transformations, Energy and intensity of emissions*. ICRP Publication 38, International Commission on Radiological Protection.
- ICRP, 1989.** *Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides: Part 1*: ICRP Publication 56, Annals of the ICRP 20, Pergamon Press, Oxford.
- ICRP, 1993.** *Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides. Part 2: Ingestion dose coefficients*. ICRP Publication 67, Elsevier Science Ltd, Oxford.
- ICRP, 1995.** *Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides. Part 4: Inhalation dose coefficients*. ICRP Publication 71, Elsevier Science Ltd, Oxford.
- ICRP, 1996.** *Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides. Part 5: Compilation of ingestion and inhalation dose coefficients*. Annals of the ICRP, volume 26, n°1.
- ICRP, 2007.** *Recommendations of the International Commission on radiological Protection*. ICRP Publication 103, Annals of the ICRP **37 (2-4)**.
- ICRU, 1998.** *Quantities, Units and Terms in Radioecology*, International Commission on Radiation Units and Measurements, Bethesda, MD.
- Indeka, L., 1981.** Incorporation of tritiated water from the atmosphere into aqueous and organic components of plants. In: Jaworowski, Z., "Biological incorporation of tritium", pp. 21-27. CLOR-115/D, Central Laboratory for Radiological Protection, Warsaw, Poland.
- Inoue, Y., Iwakura, T., 1989.** Behavior of organically-bound tritium in some plants under equilibrium and non-equilibrium environmental conditions, in "3rd Japan-US workshop P-133 on tritium radiobiology and health physics", Kyoto, Japan.
- Inoue, Y., Iwakura, T., 1990.** Tritium concentration in Japanese rice. *Journal of Radiation Research*, **31**: 311-323.
- Iooss, B., Van Dorpe, F., Devictor, N., 2006.** Response surfaces and sensitivity analyses for an environmental model of dose calculations. *Reliability Engineering and System Safety*, **91**: 1241-1251.
- ISO, 1989.** ISO 9698 : Water quality – Determination of tritium activity concentration – Liquid scintillation counting method.
- Iyengar, T.S., Sadarangani, S.H., Vaze, P.K., Soman, S.D., 1981.** Incorporation of tritium due to foliar exposure in certain vegetation. *Current Science*, **50 (3)**: 115-118.
- Jacquin, F., Florentin, L., 1988.** Sols bruns lessivés à pseudogley, in "Atlas des sols de Lorraine", pp. 54-58, Presses Universitaires de Nancy.
- Jolivet, E., Moyse, A., 1982.** Les types métaboliques végétaux du point de vue photosynthétique, in "La Photosynthèse", CR de l'Académie d'Agriculture de France, **68 (11)**: 859-871.
- Kalin, R.M., Murphy, C.E. and Hall, G., 1995.** Reconstruction of tritium release history from contaminated groundwater using tree ring analysis. *Fusion Science and Technology*, **28**: 883-887.
- Kaufman, S., Libby, W.F., 1954.** The natural distribution of tritium. *Physical Review*, **93**: 1337-1344.

- Keller, R., 1980.** Water-balance in the Federal-Republic of Germany, Geographical Institute, University of Freiburg, Eir.
- Keum, D.K., Lee, H.S., Kang, H.S., Jun, I., Choi, Y.H., Lee, C.W., 2006.** Prediction of tritium level in agricultural plants after short term exposure to HTO vapor and its comparison with experimental results. *Health Physics*, **90 (1)**: 42-55.
- Kigoshi, K. and Tomikura, Y., 1961.** Tritium and carbon in the tree rings. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **34**: 1738-1739.
- Kilkowski, W.J., Gross, G.G., 1999.** Color reaction of hydrolyzable tannins with Bradford reagent, Coomassie brilliant blue. *Phytochemistry*, **51**: 363-366.
- Kim, M.-A., Baumgartner, F., 1988.** Validation of tritium measurements in biological materials. *Fusion Science and Technology*, **14 (2)**: 1153-1156.
- Kim, M.A., Baumgärtner, F., 1991.** Tritium Fractionation in Biological Systems and in Analytical Procedures. *Radiochimica Acta*, **54**: 121-128.
- Kim, M.A., Baumgärtner, F., 1994.** Equilibrium and non-equilibrium partition of tritium between organics and tissue water of different biological systems. *Applied Radiation and Isotopes*, **45**: 353-360.
- Kirchmann, R., Van Den Hoek, J., Lafontaine, A., 1971.** Transfert et incorporation du tritium dans les constituants de l'herbe et du lait, en conditions naturelles. *Health Physics*, **21**: 61-66.
- Kline, J.R., Stewart, M.L., 1974.** Tritium uptake and loss in grass vegetation which has been exposed to an atmospheric source of tritiated water. *Health Physics*, **26**: 576-573.
- Koarashi, J., Amano, H., Andoh, M., Lida, T., Koma, T., 2001.** A new method for determining HT deposition velocity and dependence of the velocity on environmental factors. *Radiation Protection Dosimetry*, **93 (3)**: 237-243.
- König, L.A., 1990.** Tritium in the food chain. *Radiation Protection Dosimetry*, **30 (2)**: 77-86.
- Koranda, J.J., Martin, J.R., 1971.** The movement of tritium in ecological systems, in "Tritium", pp. 430-455, Moghissi, A.A. & Carter, M.W. ed., Phoenix, AZ, Messenger Graphics.
- Kotzer, T.G., Workman, W.J.G., 1999.** Measurements of tritium (HTO, TFWT, OBT) in environmental samples at varying distances from a nuclear generating station, rapport AECL-12029.
- Kotzer, T., Trivedi, A., Waito, G., Workman, W., 1998.** Ultralow-level measurement of organically bound tritium in bioassay samples, rapport AECL-11956, COG-98-131-I.
- Kozak, K., Rank, D., Brio, T., Rajner, V., Golder, F., Staudner, F., 1993.** Retrospective evaluation of tritium fallout by the tree rings analysis. *Journal of Environmental Radioactivity*, **19 (1)**: 67-77.
- Kramer, P.J., 1969.** *Plant and soil water relationships*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Kurzeja, R.J., Murphy, C.E., Taylor, R.W., 1988.** Dispersion of HT and HTO following an unplanned release of tritium to the atmosphere. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1111-1114.
- Larcher, W., 2003.** *Physiological Plant Ecology*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Le Guen, B., 2008.** Impact du tritium autour des centrales nucléaires EDF. *Radioprotection*, **43 (2)**: 177-191.
- Little, M.P., Wakeford, R., 2008.** Systematic review of epidemiological studies of exposure to tritium. *Journal of Radiological Protection*, **28**: 9-32.

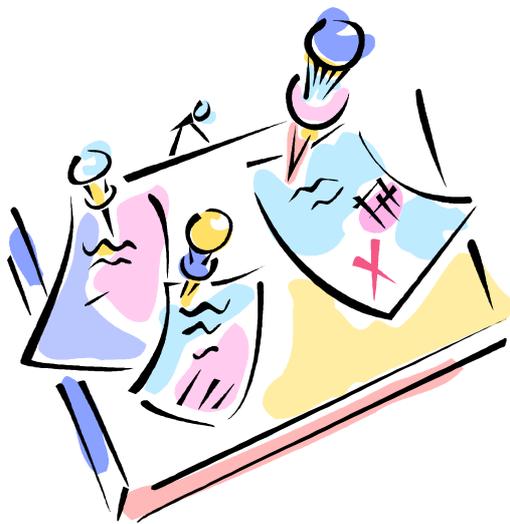
- Lockyer, J.F., Lally, A.E., 1993.** The determination of tritium, ^{14}C and ^{35}S in milk and crop samples using a combustion technique. . *The Science of the Total Environment*, **130-131**: 337-344.
- Marin, M., René, F., 2000.** Lyophilisation. *Les Techniques de l'Ingénieur*, **F3240**: 1-9.
- Mason, B.J., Hop, H.W., Miller, C.L., 1971.** Transfer of tritium from methane to vegetation, in "Tritium", pp. 455-461, Moghissi, A.A. & Carter, M.W. ed., Phoenix, AZ, Messenger Graphics.
- Mazliak, P., 1974.** *Nutrition et métabolisme - Physiologie végétale*. Hermann, Paris.
- McFarlane, J.C., 1976.** Tritium fractionation in plants. *Environmental and experimental botany*, **16**: 9-14.
- McFarlane, J.C., 1978.** Tritium Accumulation in Lettuce fumigated with elemental tritium. *Environmental and Experimental Botany*, **18**: 131-138.
- McFarlane, J.C., Rogers, R.D., Bradley, D.V., 1978.** Environmental tritium oxidation in surface soil. *Environmental Science and Technology*, **12 (5)**: 590-593.
- McFarlane, J.C., Beckert, W.F., Brown, K.W., 1979a.** Tritium in plants. *Journal of Environmental Quality*, **8**: 269-276.
- McFarlane, J.C., Rogers, R.D., Bradley, D.V., 1979b.** Tritium oxidation in surface soils, a survey of soils near five nuclear fuel reprocessing plants. *Environmental Science and Technology*, **13**: 607-608.
- Melintescu, A., Galeriu, D., 2005.** A versatile model for tritium transfer from atmosphere to plant and soil. *Radioprotection*, **40 (Suppl.1)**: 437-442.
- Melintescu, A., Galeriu, D., Takeda, H., 2007.** Reassessment of tritium dose coefficients for the general public. . *Radiation Protection Dosimetry*, **127 (1-4)**: 153-157.
- Momoshima, N., Okai, T., Kaji, T., Takashima, Y., 1991.** Distribution and transformation of various chemical forms of tritium in the environment. *Radiochimica Acta*, **54**: 129-132.
- Moses, V., Calvin, M., 1959.** Photosynthesis studies with tritiated water. *Biochimica et Biophysica Acta*, **33**: 297-312.
- Murphy, C.E., 1984.** The relationship between tritiated water activities in air, vegetation and soil under steady-state conditions. *Health Physics*, **47**: 635-639.
- Murphy, C.E., 1986.** Modeling tritium transport in the environment. *Radiation Protection Dosimetry*, **16**: 51-58.
- Murphy, C.E., 1990.** The transport, dispersion and cycling of tritium in the environment. Rapport WSRC-RP-90-462, Westinghouse Savannah River Company, Aiken, South Carolina, USA.
- Murphy, C.E., 1993.** Tritium transport and cycling in the environment. *Health Physics*, **65**: 683-697.
- Murphy, C.E., Sweet, C.W., Fallon, R.D., 1982.** Tritium transport around nuclear facilities. *Nuclear Safety*, **23 (6)**: 677-684.
- Murphy, C.E., Bauer, L.R., Zeigler, C.C., 1992.** Tritium distribution in the environment in the vicinity of a chronic atmospheric source - assessment of the steady state hypothesis. *Fusion Science and Technology*, **21**: 668-672.
- Novak, S.M., Portal, J.-M., Schiavon, M., 2001.** Effects of soil type upon metolachlor losses in subsurface drainage. *Chemosphere*, **42**: 235-244.

- Okada, S., Momoshima, N., 1993.** Overview of tritium: characteristics, sources and problems. *Health Physics*, **65**: 595-608.
- Paillard, P., Calando, J.P., Clerc, H., Gros, R., Belot, Y., 1988.** Tritium release experiment in France results concerning HT/HTO conversion in the air and soil. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1226-1230.
- Palomo, M., Peñalver, A., Aguilar, C., Borrull, F., 2007.** Tritium activity levels in environmental water samples from different origins. *Applied Radiation and Isotopes*, **65**: 1048-1056.
- Papke, H., Foerstel, H., 1991.** Formation rate of nonexchangeable organically bound tritium from tritiated soil water. *Health Physics*, **60 (6)**: 773-779.
- Pasquill, F., Smith, F.B., 1988.** *Atmospheric diffusion*. Ellis Harwood Ltd, London.
- Peterson, R.B., 1982.** Enhanced Incorporation of tritium into glycolate during photosynthesis by tobacco leaf in the presence of tritiated water. *Plant Physiology*, **69**: 192-197.
- Peterson, S.-R., Davis, P.A., 2000.** Modeled concentrations in rice and ingestion doses from chronic atmospheric releases of tritium. *Health Physics*, **78 (5)**: 533-541.
- Peterson, S.R., Davis, P.A., 2002.** Tritium doses from chronic atmospheric releases: a new approach proposed for regulatory compliance. *Health Physics*, **82**: 213-225.
- Pointurier, F. and Baglan, N., 2001.** Mesure du tritium organiquement lié dans les échantillons biologiques. *Chocs* (revue scientifique et technique de la direction des applications militaires), **25**: 81-90.
- Pointurier, F., Baglan, N., Alanic, G., 2004.** A method for the determination of low level organic bound tritium activities in the environmental samples. *Applied Radiation Isotopes*, **61**: 293-298.
- Pointurier, F., Baglan, N., Alanic, G., Chiappini, R., 2003.** Determination of organically bound tritium background level in biological samples from a wide area in the south-west of France. *Journal of Environmental Radioactivity*, **68**: 171-189.
- Radiation protection no 152, 2007.** Emerging Issues on Tritium and Low Energy Beta Emitters, *proceedings of an EU scientific seminar, Luxembourg, 13 November 2007*.
- Raney, F., Vaadia, Y., 1965.** Movement and distribution of HTO in tissue water and vapor transpired by shoots of helianthus and nicotiana. *Plant Physiology*, **40**: 383-388.
- Raskob, W., 1990.** UFOTRI: program for assessing the off-site consequences from accidental tritium releases. Rapport KfK-4605, Kernforschungszentrum, Karlsruhe, Germany.
- Raskob, W., 1993.** Description of the new version 4.0 of the tritium model UFOTRI including user guide. Rapport KfK 5194, Kernforschungszentrum, Karlsruhe, Germany.
- Raskob, W., 1995.** Assessment of the environmental impact from tritium releases under normal operation conditions and after accidents, in "*Fifth Tropical Meeting on Tritium Technology in Fission, Fusion and Isotopic Applications*", Belgirate. *Fusion Science and Technology*, **28**: 934-939.
- Rohwer, P.S., Wilcox, W.H., 1976.** Radiological aspects of environmental tritium. *Nuclear Safety*, **17 (2)**: 216-223.
- Russell, S.B., Ogram, G.L., 1992.** ETMOD: a new environment tritium model. *Fusion Science and Technology*, **21**: 645-650.
- Sabbarese, C., Stellato, L., Cotrufo, M.F., D'Onofrio, A., Ermice, A., Lubritto, C., Terrasi, F., Alfieri, S., Migliore, G., 2002.** Dependence of radionuclide transfer factor on growth stage for a soil-lettuce plant system. *Environmental Modelling and Software*, **17**: 545-551.

- Schönhofer, F., 1995.** Liquid scintillation spectrometry in environmental measurements. *The Science of the Total Environment*, **173/174**: 29-40.
- Smith, D.B., Rawson, D.S., 1962.** *The reconcentration of tritium by distillation*. IAEA. Proceeding series, Vienna.
- Spencer, F.S., 1984.** Tritiated water uptake kinetics in tissue-free water and organically-bound fractions of tomato plants. Ontario Hydro Research Division, Report 84-69-K.
- Spencer, F.S., Dunstall, T.G., 1986.** Molecular Tritium conversion in vegetation, litter and soil. *Radiation Protection Dosimetry*, **16 (1-2)**: 89-93.
- Stewart, G.L., 1971.** The Behaviour of tritium in the soil, in "Tritium", pp. 462-470, Moghissi, A.A. & Carter, M.W. ed., Phoenix, AZ, Messenger Graphics.
- Stark, S., Statham, P.J., Stanley, R., Jenkins, W.J., 2005.** Using tree ring cellulose as a tool to estimate past tritium inputs to the ocean. *Earth and Planetary. Science Letters*, **237 (3-4)**: 341-353.
- Strack, S., Koenig, L.A., 1981.** Determination of organically bound tritium in environmental samples by application of the oxidising-plasma technique. Rapport KFK 3249, Kernforschungszent, Karlsruhe.
- Strack, S., Diabaté, S., Hettinger, M., 1991.** *Tritium behaviour in the soil-plant-atmosphere continuum*. Fusion Technol. 1990, pp.1437-1441, Elsevier Science Publishers B.V, Keen, B.E., Huguet, M. and Hemsworth, R. eds., Amsterdam, The Netherlands.
- Straume, T., 1993.** Tritium risk assessment. *Health Physics*, **65 (6)**: 673-682.
- Sweet, C.W., Murphy, C.E., 1981.** Oxidation of molecular tritium by intact soils. *Environmental Science and Technology*, **15 (12)**: 1485-1487.
- Sweet, C.W., Murphy, C.E., 1984.** Tritium deposition in pine trees and soil from atmospheric releases of molecular tritium. *Environmental Science and Technology*, **18 (5)**: 358-361.
- Takashima, Y., Monoshina, N., Kaji, T., 1989.** High specific activity of organically bound tritium in pine needles and search for its cause in the environment, in: "Tritium Radiobiology and Health Physics", pp. 46-58. Rapport IPPY-REV-3, Institut of Plasma Physics, Nagoya, Japan.
- Takashima, Y., Monoshina, N., Inoue, M., Nakamura, Y., 1987.** Tritium in pine needles and its significant sources in the environment. *Applied Radiation Isotopes*, **38 (4)**: 255-261.
- Täschner, M., Bunnenberg, C., 1997.** Measurements and modeling of tritium reemission rates after HTO depositions at sunrise and sunset. *Journal of Environmental Radioactivity*, **36 (2-3)**: 219-235.
- Täschner, M., Guinois, G., 2003.** Field data for wet and dry deposition of tritium, in "Modeling the environmental transport of tritium in the vicinity of long-term atmospheric and sub-surface sources", Part G, IAEA-BIOMASS-3, IAEA, Vienna.
- Täschner, M., Wiener, B., Bunnenberg, C., 1988.** HT dispersion and deposition in soil after experimental releases of tritiated hydrogen. *Fusion Science and Technology*, **14**: 1264-1269.
- Tei, F., Scaife, A., Aikman, D.P., 1996.** Growth of Lettuce, Onion and Red Beet. 1. Growth analysis, light interception, and radiation use efficiency. *Annals of Botany*, **78**: 633-643.
- Thicoipé, J.P., Joubert, G., Hutin, C., Leteinturier, J., Moras, P., Navez, B., Odet, J., Pelletier, J., Perus, M., Stengel, B., 1997.** *Laitues : monographie*. Ctifl SERAIL.

- Thompson, R.G., Nelson, C.D., 1971.** Photosynthetic assimilation and translocation of ^3H and ^{14}C organic compounds after ^3HHO and $^{14}\text{CO}_2$ were simultaneously offered to a primary leaf of soybean. *Canadian Journal of Botany*, **49**: 757-766.
- Tort, V., Lefaure, C., Linden, G., Herbelet, J., 1997.** Le tritium dans le milieu naquatique et le rsique associé. *Radioprotection*, 501-519.
- Trip, P., Gorham, P.R., 1968a.** Bidirectional translocation of sugar in sieve tubes of squash plants. *Plant Physiology*, **43**: 877-882.
- Trip, P., Gorham, P.R., 1968b.** Translocation of sugar and tritiated water in squash plants. *Plant Physiology*, **43**: 1845-1849.
- Trivedi, A., Galeriu, D., Richardson, R.B., 1997.** Dose contribution from metabolized organically bound tritium after acute tritiated water intakes in humans. *Health Physics*, **73(4)**: 579-586.
- UNSCEAR, 2000.** Sources and effects of ionizing radiation, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, United Nations, New York.
- Vichot, L., Boyer, C., Boissieux, T., Losset, Y., Pierrat, D., 2008a.** Organically bound tritium (OBT) for various plants in the vicinity of a continuous atmospheric tritium release. *Journal of Environmental Radioactivity*, **99 (10)**: 1636-1643.
- Vichot, L., Boyer, C., Boissieux, T., Losset, Y., Pierrat, D., 2008b.** Organically-bound tritium in the environment: first investigation of environmental survey in the vicinity of a French research centre. *Fusion Science and Technology*, **54 (1)**: 253-256.
- von Caemmerer, S., Farquhar, G.D., 1981.** Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, **153 (376-387)**.
- Ware, A., Allott, R., 1999.** Review of methods for the analysis of total tritium and organically bound tritium. *Environment Agency report*.
- Weisse, J., 2000.** Fusion thermonucléaire. *Les Techniques de l'Ingénieur*, **BN 3013**: 1-21.
- Wood, M.J., McElroy, R.G.C., Surette, R.A., Brown, R.M., 1993.** Tritium sampling and measurement. *Health Physics*, **65 (6)**: 610-627.
- Workman, W.J.G., Kim, S.B., Kotzer, T.G., 2005.** Interlaboratory comparison of organically bound tritium measurements in environmental samples. *Fusion Science and Technology*, **48 (1)**: 763-766.
- Yamada, Y., Itoh, M., Kiriya, N., Komura, K., Ueno, K., 1989a.** Measurement of tritium in the tree rings: relationship between tritium concentration in pines tree rings and environmental sample. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **132 (1)**: 59-65.
- Yamada, Y., Itoh, M., Kiriya, N., Nishimoto, C., Komura, K., Ueno, K., 1989b.** Measurement of tritium in tree rings: isolation of a-cellulose from wood chips using explosive depressurization. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **130 (1)**: 169-175.
- Yamada, Y., Yasuike, K., Itoh, M., Kiriya, N., Komura, K., 2004a.** Temporal variation of tritium concentration in tree-ring cellulose. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **261 (1)**: 9-17.
- Yamada, Y., Yasuike, K., Komura, K., 2004b.** Temporal variation of tritium concentration in tree-ring cellulose over the past 50 years. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **262 (3)**: 679-683.
- Yokoyama, S., Noguchi, H., Ichimasa, Y., Ichimasa, M., 2004.** Re-emission of heavy water vapour from soil to the atmosphere. *Journal of Environmental Radioactivity*, **71 (3)**: 201-213.

ANNEXES



A EQUATIONS ASSOCIEES AUX MESURES DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE PAR LA LICOR 6400

La théorie des mesures effectuées par le système LI-6400 est dérivée des équations formulées par von Caemmerer et Farquhar (von Caemmerer and Farquhar, 1981). Cette section présente succinctement les équations permettant de relier entre eux les paramètres enregistrés par l'appareil et de fournir des valeurs synthétiques relatives à l'intensité de la transpiration, aux conductances stomatique et totale de la feuille pour la vapeur d'eau, au taux de photosynthèse net et à la concentration en CO₂ intercellulaire.

A.1 TRANSPIRATION

Le bilan de matière pour la vapeur d'eau dans un système ouvert tel que la console LI-6400 s'écrit (40) :

$$s \times E = u_s \times w_s - u_e \times w_e \quad (40)$$

Avec :

s	surface de la feuille (m ²)
E	taux de transpiration (mol m ⁻² s ⁻¹)
u_e et u_s	flux d'air entrant et sortant (mol s ⁻¹)
w_e et w_s	concentrations molaires en eau dans les flux d'air entrant et sortant (mol H ₂ O mol air ⁻¹)

En outre :

$$u_s = u_e + s \times E \quad (41)$$

Ceci conduit à l'expression du taux de transpiration E :

$$s \times E = (u_e + s \times E) \times w_s - u_e \times w_e \quad (42)$$

$$E = \frac{u_e \times (w_s - w_e)}{s \times (1 - w_s)} \quad (43)$$

La LI 6400 permet la mesure directe du flux d'air et des fractions molaires en eau en entrée et en sortie. La surface de feuille mesurée est connue (6 cm²).

A.2 CONDUCTANCE TOTALE DE LA FEUILLE POUR LA VAPEUR D'EAU

La conductance totale de la feuille pour la vapeur d'eau inclut la conductance stomatique et la conductance de la couche limite autour de la feuille. Elle s'exprime selon l'équation (44):

$$C_{tot}^{eau} = \frac{E \times \left(1000 - \frac{W_f + W_e}{2} \right)}{W_f - W_e} \quad (44)$$

Avec :

- E taux de transpiration (mol m⁻² s⁻¹)
- C_{tot}^{eau} conductance totale de la feuille pour la vapeur d'eau (mol H₂O m⁻² s⁻¹)
- W_f et W_e débits molaires en eau à travers la feuille et dans l'air (mol s⁻¹)

De plus le débit molaire en eau à travers la feuille est calculé à partir de la température de la feuille et de la pression atmosphérique selon (45) :

$$W_f = \frac{e(T_f)}{P} \times 1000 \quad (45)$$

Avec :

- $e(T_f)$ pression de vapeur saturante à la température de la feuille (kPa)
- T_f température de la feuille (°C)
- P pression atmosphérique (kPa)

A.3 CONDUCTANCE STOMATIQUE DE LA VAPEUR D'EAU

La conductance stomatique de la feuille pour la vapeur d'eau est obtenue à partir de la conductance totale à laquelle on soustrait la conductance de la couche limite pour un côté de la feuille selon l'équation (46). Si la plante possède des **stomates** des deux cotés de ses feuilles, un facteur correctif doit être appliqué à cette conductance de la couche limite.

$$C_{sto}^{eau} = \frac{1}{\frac{1}{C_{tot}^{eau}} - \frac{k_f}{C_{lim}^{eau}}} \quad (46)$$

Avec :

C_{sto}^{eau}	conductance stomatique de la feuille pour la vapeur d'eau (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
C_{tot}^{eau}	conductance totale de la feuille pour la vapeur d'eau (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
C_{lim}^{eau}	conductance de la couche limite pour un côté de la feuille (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
k_f	facteur correctif

Le facteur correctif est un facteur dérivé du ratio entre les conductances stomatiques de chaque côté de la feuille, exprimé selon l'équation (47) :

$$k_f = \frac{K^2 + 1}{(K + 1)^2} \quad (47)$$

Avec :

k_f	facteur correctif
K	ratio entre les conductances stomatiques de chaque côté de la feuille

A.4 TAUX DE PHOTOSYNTHESE NET

Le bilan de matière pour le CO₂ dans un système ouvert s'écrit (48) :

$$s \times a = u_e \times c_e - u_s \times c_s \quad (48)$$

Avec :

E	taux de transpiration (mol m ⁻² s ⁻¹)
s	surface de la feuille (m ²)
a	taux d'assimilation du CO ₂ (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)
c_e et c_s	concentrations molaires en CO ₂ dans le flux entrant et sortant (mol CO ₂ mol air ⁻¹)
u_e et u_s	flux d'air entrant et sortant (mol s ⁻¹)

En gardant les mêmes notations, on tire l'expression du taux d'assimilation du CO₂, c'est-à-dire le taux de photosynthèse net :

$$a = \frac{u_e \times (c_e - c_s)}{s} - E \times c_s \quad (49)$$

A.5 CO₂ INTERCELLULAIRE

La concentration intercellulaire en CO₂ est donnée par l'expression suivante (50) :

$$C_i = \frac{\left(C_{tot}^{CO_2} - \frac{E}{2} \right) \times c_s - a}{C_{tot}^{CO_2} + \frac{E}{2}} \quad (50)$$

Avec :

C_i	concentration intercellulaire en CO ₂ (mol CO ₂ mol air ⁻¹)
$C_{tot}^{CO_2}$	conductance stomatique totale de la feuille pour le CO ₂ (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)
E	taux de transpiration (mol m ⁻² s ⁻¹)
a	taux d'assimilation du CO ₂ (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)
c_s	concentration molaire en CO ₂ dans le flux sortant (mol CO ₂ mol air ⁻¹)

B ECHANTILLONNAGE ET MESURE DU TRITIUM

B.1 MESURE DU TRITIUM PAR SCINTILLATION LIQUIDE

La scintillation liquide est de loin la technique la plus utilisée pour la mesure des activités tritium dans l'eau des échantillons environnementaux (Bogen et al., 1973; McFarlane, 1976, 1978; Garland and Ameen, 1979; Guenot and Belot, 1984; Diabaté and Strack, 1993; Wood et al., 1993; Kim and Baumgärtner, 1994; Brudenell et al., 1997; Davis et al., 2002; Choi et al., 2005; Palomo et al., 2007). Le mode opératoire appliqué suit les procédures internes du Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, basées sur la norme NF M 60-802-1 : « *Mesure de la radioactivité dans l'environnement - Eau. Partie 1 : Mesurage de l'activité des émetteurs bêta par scintillation liquide – Cas particulier du tritium* » (AFNOR, 2000).

B.1.1 PRINCIPE DE LA MESURE D'ACTIVITE PAR SCINTILLATION LIQUIDE

Les techniques de mesure de **radioactivité** par scintillation liquide consistent à transformer le **rayonnement ionisant** consécutif à la **désintégration** ou désexcitation d'un atome **radioactif** en rayonnement lumineux détectable et quantifiable, grâce à l'ajout d'un liquide scintillant ou scintillateur. La mesure d'activité par scintillation liquide est l'une des seules méthodes permettant de mesurer l'activité de **radionucléides** bêta purs tels que le tritium. En outre, l'absence de barrière physique entre le **radionucléide** à mesurer et le détecteur autorise la détection de rayonnements de faible énergie (Cassette, 2004; Pointurier et al., 2003).

Le scintillateur est un matériau qui absorbe le rayonnement bêta émis par le tritium puis le restitue sous la forme d'une lumière fluorescente lors de sa désexcitation (cf. Figure 36). Il doit avoir une nature chimique telle qu'il est à l'état liquide dans les conditions de la mesure (conditions ambiantes) et qu'il possède des propriétés de fluorescence. En pratique, le liquide scintillant se compose essentiellement d'un solvant organique aromatique dans lequel une molécule scintillante est dissoute.

Le rayonnement fluorescent émis par le scintillateur est amplifié et détecté par deux photomultiplicateurs qui effectuent des comptages en coïncidence. Un circuit complexe de sommation et de sélecteur d'amplitude permet ensuite de reconstituer le profil du spectre d'énergie du tritium mesuré, en tenant compte notamment du mouvement propre et du rendement de détection.

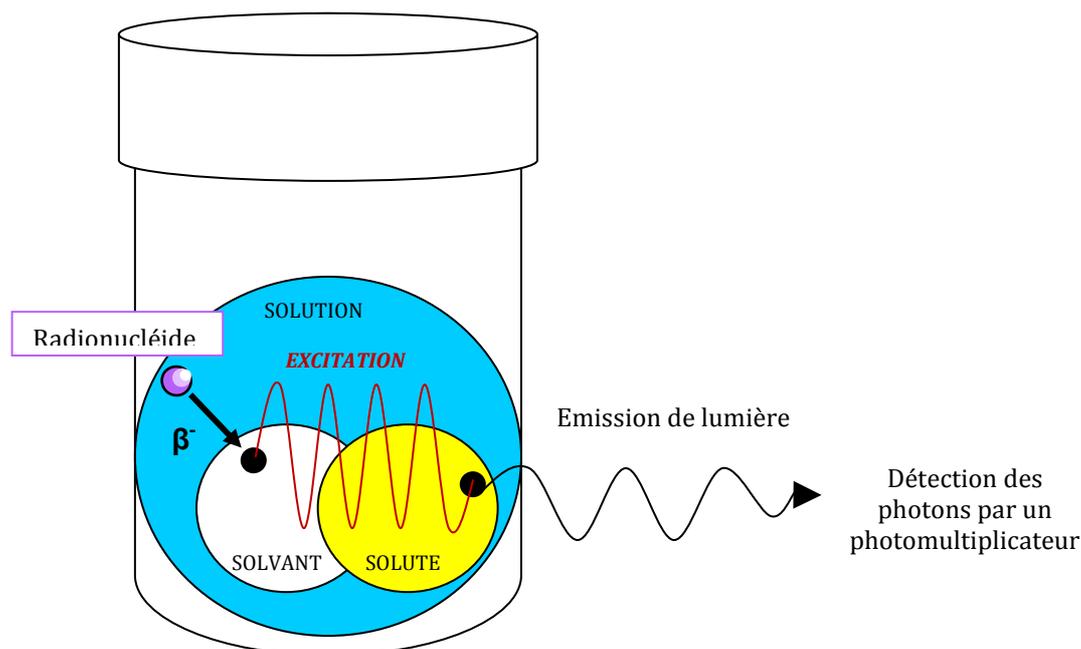


Figure 36 : Principe de la mesure de radioactivité du tritium par scintillation liquide : le scintillateur absorbe le rayonnement bêta émis par le tritium puis le restitue sous la forme d'une lumière fluorescente lors de sa désexcitation.

B.1.2 MODE OPERATOIRE

B.1.2.1 Appareillage utilisé

Un compteur à scintillation ou carbotrimètre est un appareil composé d'un puits de mesure entouré de deux photomultiplicateurs fonctionnant en coïncidence. L'appareil est équipé d'une source de référence externe et d'un dispositif antistatique. Plusieurs appareils de ce type ont été utilisés dans cette étude pour la réalisation des mesures tritium ; il s'agit des modèles Tri-Carb 2900TR et Tri-Carb 2500 TR/RB (Perkin Elmer).

B.1.2.2 Processus opératoire

Les échantillons à analyser sont préparés dans des flacons en polyéthylène à usage unique, d'une contenance supérieure à 20 cm³. 10 mL d'échantillon à mesurer sont mélangés à 10 mL de liquide scintillant « Ultima Gold LLT » (Packard, PerkinElmer) ; le mélange est agité quelques secondes de façon à obtenir un milieu homogène. Les échantillons préparés sont laissés en attente durant un minimum de trois heures avant comptage afin de stabiliser la température et d'éviter les phénomènes de chimiluminescence.

Un échantillon d'eau très faiblement tritiée (eau de Volvic) est analysé avant chaque série d'échantillons. Ce taux de comptage sert de bruit de fond qui sera déduit de toutes les valeurs

obtenue pour la série de mesure. Les échantillons sont comptés sur une durée de 200 minutes par défaut mais le temps de comptage peut être modulé en fonction de l'activité présente dans l'échantillon et de la limite de détection recherchée.

B.1.2.3 Paramètres de comptage

L'ensemble des phénomènes physico-chimiques de nature à diminuer l'efficacité lumineuse du scintillateur est appelé « **quenching** ». Ces phénomènes d'affaiblissement lumineux sont atténués par le traitement de l'échantillon avant son mélange au scintillateur (neutralisation, distillation) (Palomo et al., 2007) et pris en compte par l'établissement d'une courbe de **quenching** corrective propre à chaque appareil de mesure.

B.1.2.4 Limites de détection

Selon les procédures utilisées au Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, la limite de détection est assimilée à deux fois le seuil de décision. Pour la mesure du tritium dans les eaux, le seuil de décision est calculé suivant la norme NF M 60 802-1 (AFNOR, 2000) selon la relation (51):

$$SD = \frac{2 \times (1 + \sqrt{(1 + 2 \times N_{bdf})})}{t \times Rd \times Pe} \quad (51)$$

$$LD = 2 \times SD \quad (52)$$

Avec :

<i>SD</i>	seuil de décision (Bq L ⁻¹)
<i>LD</i>	limite de détection (Bq L ⁻¹)
<i>N_{bdf}</i>	nombre de coups enregistré pour le bruit de fond (en cpm)
<i>t</i>	temps de comptage (min)
<i>Rd</i>	rendement de mesure fonction de l'affaiblissement lumineux (en %)
<i>Pe</i>	prise d'essai (L)

La limite de détection calculée est de 5,4 Bq L⁻¹ pour un temps de comptage de 200 min et une prise d'essai de 10 mL. Le bruit de fond est typiquement de 3 cpm et le rendement de l'ordre de 25%. Cette limite peut être abaissée à 3,2 Bq L⁻¹ en augmentant la durée du comptage des échantillons à 600 min.

B.1.2.5 Calcul des activités et des incertitudes

La formule utilisée pour déterminer l'activité volumique (concentration) est donnée par l'équation (53):

$$A_{\text{comptage}} = \frac{N - N_{\text{bdf}}}{t \times Rd \times Pe} \quad (53)$$

Avec :

A_{comptage}	activité volumique (Bq L ⁻¹)
N_{bdf}	nombre de coups enregistré pour le bruit de fond (en cpm)
N	nombre de coups enregistré pour l'échantillon (en cpm)
t	temps de comptage (min)
Rd	rendement de mesure fonction de l'affaiblissement lumineux (en %)
Pe	prise d'essai (L)

L'incertitude finale sur le résultat est donnée avec un facteur d'élargissement de 2 (niveau de confiance de 95 % sur le résultat) telle que (54):

$$\frac{u(A_{\text{comptage}})}{A_{\text{comptage}}} = \sqrt{\left(\frac{\sqrt{N + N_{\text{bdf}}}}{N - N_{\text{bdf}}}\right)^2 + \left(\frac{uRd}{Rd}\right)^2 + \left(\frac{uPe}{Pe}\right)^2} \quad (54)$$

Avec $\frac{u(A_{\text{comptage}})}{A_{\text{comptage}}}$ l'incertitude-type sur l'activité volumique.

L'incertitude relative élargie est pour k=2 est donnée par l'équation (55) :

$$\frac{U(A_{\text{comptage}})}{A_{\text{comptage}}} = 2 \times \frac{u(A_{\text{comptage}})}{A_{\text{comptage}}} \quad (55)$$

Le rendement de détection est le facteur dominant lié à l'incertitude de mesure par scintillation liquide (Cassette). Compte tenu du rendement de détection des appareils utilisés au laboratoire, de l'ordre de 25%, l'incertitude relative minimale est de 5%.

B.1.2.6 Limites de la méthode

Outre les phénomènes de **quenching** et de chimiluminescence (Wood et al., 1993), la technique de mesure du tritium par scintillation liquide présente certaines limites. La première réside dans son rendement énergétique global faible. Cela impose de calculer le rendement de détection pour chaque condition de mesure (Cassette). Un bruit de fond élevé tel que celui mesuré sur le centre de Valduc constitue un autre inconvénient pour la mesure d'échantillons environnementaux présentant de très faibles activités (Schönhofer, 1995).

B.2 PRELEVEMENT ET DETERMINATION DES ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE

B.2.1 PRINCIPE DU PIEGEAGE DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE PAR BARBOTAGE

Le principe des systèmes de barbotage utilisés pour la mesure du tritium atmosphérique repose sur la capture du tritium par de l'eau présentant une activité tritium très faible (Wood et al., 1993; Belot et al., 1996). Ce type de dispositif permet de discriminer la vapeur d'eau tritiée (HTO) des autres formes chimiques du tritium contenu dans l'air (principalement HT). La Figure 37 présente le schéma de principe d'un tel système de piégeage.

L'appareil, appelé « barboteur » ou « bulleur », prélève l'air ambiant à un débit déterminé, pendant une période donnée. L'air est diffusé successivement par bullage dans quatre flacons remplis d'un volume d'eau connu à faible teneur en tritium (eau de Volvic), de façon à piéger l'eau tritiée (HTO) par affinité chimique. Les deux premiers flacons piègent la vapeur d'eau tritiée contenue dans l'air directement après l'aspiration. L'air est ensuite envoyé dans un four à catalyse porté à une température de 450°C dans lequel le reste du tritium atmosphérique (principalement sous forme de tritium HT) est oxydé en eau tritiée qui sera piégée dans les troisième et quatrième flacons. Tous les flacons sont maintenus à basse température afin d'éviter l'évaporation.

Après un temps de fonctionnement donné (variable selon le niveau d'activité tritium estimé dans l'atmosphère), l'eau tritiée contenue dans les barboteurs est récupérée et analysée par scintillation liquide. Les quantités de tritium mesurées dans les pots 1 et 2 sont additionnées et le tout est rapporté au volume d'air passé dans l'appareil afin d'établir une activité volumique en HTO (cf. B.2.2). La somme des activités des pots 3 et 4 permet de la même façon d'établir l'activité volumique en HT. Il convient de noter que les flacons 1 et 3 assurent la plus grande partie du piégeage (environ 90%); les flacons 2 et 4 sont des pots de garde permettant de s'assurer d'une perte de tritium minimale au cours du piégeage.

Les appareils utilisés dans cette étude pour le piégeage du tritium atmosphérique par barbotage sont des systèmes « MARC 7000 » (cf. Figure 38), commercialisés par la société SDEC (Reignac sur Indre, France). Pour ce type d'appareil, le constructeur donne un rendement de piégeage de l'eau tritiée de $99\% \pm 7\%$, et un rendement de conversion du four en HTO de $98\% \pm 7\%$ ⁵.

⁵ http://www.sdec-france.com/doc_tech/1184316102_6.pdf

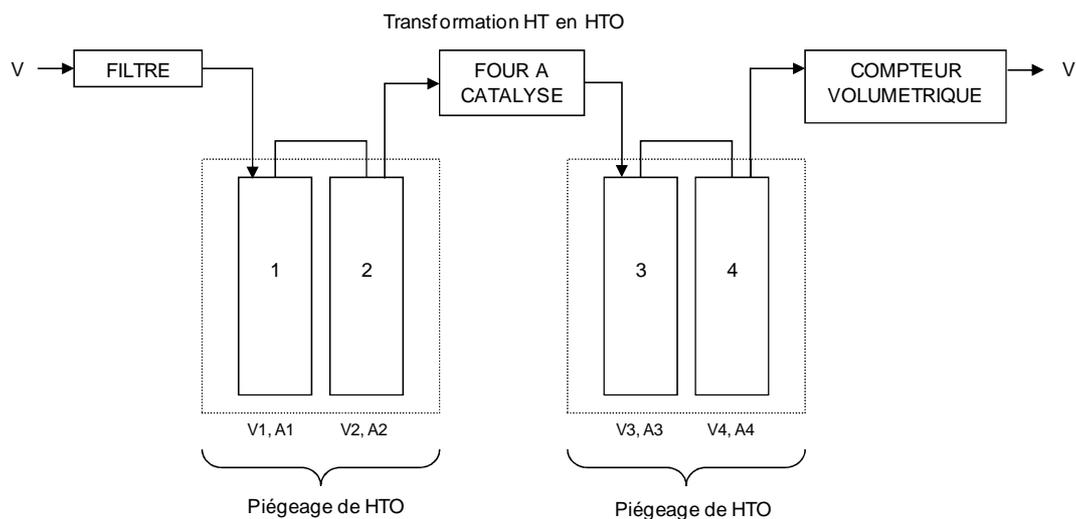


Figure 37 : Schéma de principe d'un système de piégeage du tritium atmosphérique par barbotage.

V_i est le volume d'eau relevé dans le pot i à la fin de la période de barbotage (L).
 A_i est l'activité volumique en tritium mesurée dans le pot i ($Bq L^{-1}$).
 V est le volume d'air aspiré durant le temps de barbotage (m^3).



Figure 38 : Photographie d'un barboteur utilisé dans cette étude pour le piégeage du tritium atmosphérique (MARC 7000, SDEC, Reignac sur Indre, France).

B.2.2 CALCUL DES ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE

B.2.2.1 Calcul de l'activité de la vapeur d'eau tritiée de l'air et de l'incertitude associée

B.2.2.1.1 Calcul de l'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée

➤ Calcul de l'activité HTO en Bq m⁻³

L'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée (HTO) de l'air est donnée par l'équation (56), soit la somme des activités relevées dans les pots 1 et 2 du barboteur par rapport au volume d'air aspiré. Cette formule considère que le rendement de piégeage est voisin de 100%.

$$A_{HTO} = \frac{V_1 C_1 + V_2 C_2}{V} \quad (56)$$

Avec :

A_{HTO}	activité volumique de la vapeur d'eau tritiée de l'air (en Bq m ⁻³)
V_i	volume d'eau relevé dans le pot i à la fin de la période de barbotage (L)
C_i	activité volumique en tritium mesurée dans le pot i (Bq L ⁻¹)
V	volume d'air aspiré durant le temps de barbotage (m ³)

➤ Calcul de l'activité HTO en Bq L⁻¹

L'activité de l'eau tritiée de l'air en Bq L⁻¹ est déterminée à partir de l'activité mesurée en Bq m⁻³ et de la teneur en eau de l'air, obtenue avec des abaques ou en appliquant l'équation (57) (Deriot, 02/1986). Les valeurs de température et d'hygrométrie de l'air utilisées pour l'équation sont les valeurs relevées en continu sur le lieu des expérimentations.

$$M = \frac{13,24 \times (1 + 0,02 \times T)^4 \times HR}{273 + T} \quad (57)$$

Avec :

M	masse d'eau dans 1 m ³ d'air (en g)
T	température (°C)
HR	hygrométrie relative (%)

Connaissant la teneur en eau de l'air, on déduit facilement l'activité de l'eau tritiée de l'air en Bq L⁻¹ à partir de l'activité en Bq m⁻³ selon la relation (58):

$$C_{HTO} = \frac{A_{HTO}}{M} \times 1000 \quad (58)$$

Avec :

C_{HTO}	activité de l'eau tritiée de l'air (Bq L ⁻¹)
A_{HTO}	activité de l'eau tritiée de l'air (Bq m ⁻³)
M	masse d'eau dans 1 m ³ d'air (en g)

B.2.2.1.2 Calcul des incertitudes associées à l'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée

Conformément aux procédures en vigueur au Laboratoire de Métrologie et de Surveillance de l'Environnement, l'incertitude type composée relative de l'activité volumique HTO s'exprime par (59):

$$\frac{u(A_{HTO})}{A_{HTO}} = \sqrt{\left[\frac{(V_1 C_1)^2 \left(\left(\frac{u(V_1)}{V_1} \right)^2 + \left(\frac{u(C_1)}{C_1} \right)^2 \right) + (V_2 C_2)^2 \left(\left(\frac{u(V_2)}{V_2} \right)^2 + \left(\frac{u(C_2)}{C_2} \right)^2 \right)}{(V_1 C_1 + V_2 C_2)^2} + \left(\frac{u(V)}{V} \right)^2 \right]} \quad (59)$$

Avec :

A_{HTO}	activité volumique de la vapeur d'eau tritiée de l'air (en Bq m ⁻³)
V_i	volume d'eau relevé dans le pot i à la fin de la période de barbotage (L)
C_i	activité volumique en tritium mesurée dans le pot i (Bq L ⁻¹)
V	volume d'air aspiré durant le temps de barbotage (m ³)
$\frac{u(A_{HTO})}{A_{HTO}}$	incertitude type composée relative de l'activité volumique de la vapeur d'eau tritiée de l'air (%)

L'incertitude élargie au niveau de confiance de 95% (k=2) $\frac{U(A_{HTO})}{A_{HTO}}$ s'écrit (60):

$$\frac{U(A_{HTO})}{A_{HTO}} = 2 \times \frac{u(A_{HTO})}{A_{HTO}} \quad (60)$$

B.2.2.2 Calcul de l'activité du tritium HT de l'air et de l'incertitude associée

B.2.2.2.1 Calcul de l'activité volumique du tritium HT

L'activité volumique du tritium HT est donnée par l'équation (61), soit la somme des activités relevées dans les pots 3 et 4 du barboteur par rapport au volume d'air aspiré. Cette formule considère que le rendement de piégeage est voisin de 100% et que le rendement d'oxydation du four est d'environ 90%.

$$A_{HT} = \frac{V_3 C_3 + V_4 C_4}{\rho V} \quad (61)$$

Avec :

A_{HT}	activité volumique du tritium HT de l'air (en Bq m ⁻³)
V_i	volume d'eau relevé dans le pot i à la fin de la période de barbotage (L)
C_i	activité volumique en tritium mesurée dans le pot i (Bq L ⁻¹)
V	volume d'air aspiré durant le temps de barbotage (m ³)
ρ	rendement du four d'oxydation (sans unité)

B.2.2.2.2 Calcul des incertitudes associées à l'activité volumique du tritium HT

En conservant les mêmes notations, l'incertitude type composée relative de l'activité volumique du tritium HT s'exprime par la formule suivante (62) :

$$\frac{u(A_{HT})}{A_{HT}} = \sqrt{\frac{(V_3 C_3)^2 \left(\left(\frac{u(V_3)}{V_3} \right)^2 + \left(\frac{u(C_3)}{C_3} \right)^2 \right) + (V_4 C_4)^2 \left(\left(\frac{u(V_4)}{V_4} \right)^2 + \left(\frac{u(C_4)}{C_4} \right)^2 \right)}{(V_3 C_3 + V_4 C_4)^2} + \left(\frac{u(V)}{V} \right)^2 + \left(\frac{u(\rho)}{\rho} \right)^2} \quad (62)$$

Avec :

$\frac{u(A_{HT})}{A_{HT}}$	incertitude type composée relative de l'activité volumique du tritium HT (%)
----------------------------	--

L'incertitude élargie au niveau de confiance de 95% ($k=2$) $\frac{U(A_{HT})}{A_{HT}}$ s'écrit (63):

$$\frac{U(A_{HT})}{A_{HT}} = 2 \times \frac{u(A_{HT})}{A_{HT}} \quad (63)$$

B.3 CALCUL DES ACTIVITES EN TRITIUM ORGANIQUEMENT LIE

B.3.1 DETERMINATION DU RENDEMENT DE COMBUSTION DU FOUR

Le rendement de combustion du four est établi à partir du brûlage d'eau de référence avant et après le passage d'échantillons de terre ou de laitues secs. Il correspond au ratio de la quantité d'eau récupérée dans le piège froid à l'issue de la combustion et de la quantité d'eau initialement introduite dans le four selon l'équation (64). En pratique, les valeurs de ce rendement sont moyennées pour chaque série d'expériences.

$$R = \frac{M_{\text{sortie}}^{\text{eau}}}{M_{\text{entrée}}^{\text{eau}}} \quad (64)$$

Avec :

R	rendement de combustion du four (sans unité)
$M_{\text{entrée}}^{\text{eau}}$	masse d'eau introduite dans le four (g)
$M_{\text{sortie}}^{\text{eau}}$	masse d'eau récupérée dans le piège froid à l'issue de la combustion (g)

B.3.2 CALCUL DES ACTIVITES EN TRITIUM ORGANIQUEMENT LIE

B.3.2.1 Echantillons de terre

Les quantités de terre brûlées sont en général suffisantes pour recueillir une quantité d'eau de combustion supérieure aux 10 mL nécessaires pour la mesure d'activité par scintillation liquide. L'activité en tritium organique dans la matière sèche de l'échantillon peut alors être déterminée par l'équation (65).

$$A_{\text{sec}}^{OBT} = \frac{A_{\text{eaucomb}}^{OBT} \times M_{\text{recueillie}}^{\text{eau}}}{M_{\text{brûlée}}^{\text{terre}}} \quad (65)$$

Avec :

A_{sec}^{OBT}	activité en tritium organique dans la matière sèche (Bq kg ⁻¹)
A_{eaucomb}^{OBT}	activité en tritium organique de l'eau de combustion (Bq L ⁻¹)
$M_{\text{brûlée}}^{\text{terre}}$	masse d'échantillon brûlée (kg)
$M_{\text{recueillie}}^{\text{eau}}$	masse d'eau de combustion recueillie (L)

B.3.2.2 Echantillons de laitue

Compte tenu des faibles quantités de matière disponibles, l'ajout d'eau de référence pour le brûlage des échantillons secs de laitue est la plupart du temps nécessaire. En outre, la présence de résidus de terre dans ces échantillons est fréquente. Le calcul des activités en tritium organique dans ce type d'échantillons doit prendre en compte ces paramètres et repose sur les hypothèses suivantes :

- l'eau brûlée avec l'échantillon se comporte de la même façon que l'eau brûlée seule ; en particulier, la fraction d'eau récupérée est la même et peut être déterminée grâce au rendement du four.
- la combustion des échantillons secs de laitue est totale et conduit à une masse négligeable de cendres. Par conséquent, la quantité d'eau recueillie est une fonction linéaire de la masse de laitue brûlée, à condition de considérer des échantillons homogènes (laitues comparables en terme d'âge, d'aspect...). En effet, des laitues d'âges différents ont une composition chimique différente qui peut conduire à une production d'eau de combustion plus ou moins importante au moment du brûlage.
- la masse de cendres résiduelle est essentiellement due à la présence de terre dans l'échantillon brûlée.

Afin de s'affranchir du biais introduit par la présence de terre, la masse de cendres résiduelle est déduite de la masse totale d'échantillon brûlé. La masse obtenue par soustraction correspond à la masse réelle de laitue brûlée (66).

$$M_{\text{brûlée}}^{\text{laitue}} = M_{\text{brûlée}}^{\text{totale}} - M_{\text{cendres}} \quad (66)$$

Avec :

$M_{\text{brûlée}}^{\text{laitue}}$	masse réelle de laitue sèche brûlée (g)
$M_{\text{brûlée}}^{\text{totale}}$	masse totale d'échantillon brûlée (g)
M_{cendres}	masse de cendres résiduelle (g)

En considérant que la combustion est totale, la quantité d'eau recueillie à l'issue de la combustion est une fonction linéaire de la masse de laitue brûlée. Le tracé de la droite correspondante permet d'éliminer les points aberrants. Le coefficient directeur de la droite, déterminé par régression linéaire pour chaque série de mesures sur des laitues considérées comme identiques, permet de calculer la masse d'eau théoriquement produite à l'issue de la combustion selon l'équation (67).

$$M_{théorique}^{eau} = \alpha \times M_{brulée}^{laitue} + \beta \quad (67)$$

Avec :

$M_{théorique}^{eau}$	masse d'eau théoriquement produite par la combustion de l'échantillon de laitue sèche (g)
$M_{brulée}^{laitue}$	masse réelle de laitue sèche brûlée (g)
α	coefficient directeur de la droite de régression entre masse d'échantillon brûlée et masse d'eau recueillie
β	ordonnée à l'origine de la droite de régression (g)

L'eau de combustion recueillie dans le piège froid est égale à la somme de l'eau produite par la combustion de la laitue et de l'eau ajoutée pour le brûlage pondérée par le rendement du four selon l'équation (68). La masse d'eau produite par la combustion de l'échantillon de laitue seule, obtenue par soustraction, est comparée à la masse d'eau théoriquement formée selon l'équation (67) afin d'éliminer les valeurs aberrantes.

$$M_{recueillie}^{eau} = M_{combustion}^{eau} + R \times M_{ajoutée}^{eau} \quad (68)$$

Avec :

$M_{recueillie}^{eau}$	masse d'eau recueillie dans le piège froid (g)
$M_{combustion}^{eau}$	masse d'eau produite par la combustion de l'échantillon de laitue sec (g)
$M_{ajoutée}^{eau}$	masse d'eau ajoutée pour le brûlage (g)
R	rendement de combustion du four (sans unité)

L'activité en tritium organiquement lié dans l'eau de combustion de la laitue, et par suite dans l'échantillon sec, s'exprime alors selon les relations (69) et (70) respectivement :

$$A_{eaucomb}^{OBT} = \frac{A_{comptage}^{eau} \times M_{recueillie}^{eau}}{M_{combustion}^{eau}} \quad (69)$$

$$A_{\text{sec}}^{OBT} = \frac{A_{\text{eaucomb}}^{OBT} \times M_{\text{combustion}}^{\text{eau}}}{M_{\text{brûlée}}^{\text{laitue}}} \quad (70)$$

Avec :

A_{eaucomb}^{OBT}	activité en tritium organiquement lié dans l'eau de combustion de la laitue seule (Bq L ⁻¹)
$A_{\text{comptage}}^{\text{eau}}$	activité en tritium mesurée dans l'eau de comptage, prélevée dans le piège froid (Bq L ⁻¹)
A_{sec}^{OBT}	activité en tritium organiquement lié dans l'échantillon sec (Bq kg ⁻¹)

La combustion d'échantillons biologiques suivant la méthode décrite précédemment (cf. 2.2.5) est extrêmement délicate. Différents facteurs sont à l'origine d'erreurs expérimentales, notamment :

- *La surpression due aux gaz de combustion.* Il n'est pas rare d'observer des explosions durant la combustion des échantillons à l'intérieur du four. La surpression engendrée conduit parfois à l'éjection du bouchon de sécurité ; une partie des gaz de combustion s'échappe alors du système, entraînant une perte de la vapeur d'eau produite.
- *Les pertes d'eau de combustion dans le piège froid.* Bien que le piège froid permette de récupérer la majeure partie de l'eau de combustion formée, une très légère perte de vapeur est observée. Cette perte est estimée à partir du brûlage d'eau seule pour la détermination du bruit de fond ; elle est typiquement de l'ordre de 1 à 5%.
- *La présence de résidus de terre dans les échantillons secs de laitue.* La masse de cendres issues de la combustion est considérée comme équivalente à la masse de terre résiduelle dans les échantillons de laitue, et soustraite de la masse globale d'échantillon pour le calcul d'activité. Toutefois, il est possible que la combustion des traces de terre engendre la production de faibles quantités d'eau de combustion et de ce fait, un biais dans la masse d'eau de combustion de laitue recueillie.
- *L'ajout d'eau de référence.* La dilution de l'eau de combustion par un ajout d'eau « d'entraînement » est prise en compte pour le calcul d'activité de l'eau résultant de la combustion de l'échantillon de laitue seul. Néanmoins, cet ajout d'eau de référence pour la combustion entraîne une incertitude plus importante sur la mesure d'activité finale.

En raison de ces différents phénomènes, les quantités d'eau recueillies à l'issue des combustions effectuées au cours de cette étude ne correspondent pas toujours aux quantités qui auraient dû être formées. Le biais introduit dans le calcul de l'activité du tritium organiquement lié peut alors être corrigé en calculant les quantités d'eau théoriquement formées à partir des masses brûlées.

B.3.3 CALCUL DES INCERTITUDES ASSOCIEES AUX ACTIVITES EN TRITIUM ORGANIQUEMENT LIE

B.3.3.1 Calcul théorique

Les incertitudes associées aux activités en tritium organique obtenues grâce aux relations (67) à (70) prennent en compte :

- l'erreur de pesée des différentes masses prises en compte (masse brûlée, masse de cendres résiduelles, masse d'eau de combustion),
- l'erreur sur le comptage par scintillation liquide (cf.B.1.2.5),
- les pertes éventuelles d'eau de combustion, évaluées grâce à une masse connue de silicagel placée en sortie de four,
- l'erreur de reproductibilité de la phase de brûlage, évaluée à partir des données expérimentales considérées comme des reproductions de mesure sur la matrice d'étude. En faisant l'hypothèse que la combustion est totale, les différentes mesures permettent d'obtenir la fonction linéaire qui relie la quantité d'eau recueillie à l'issue de la combustion à la masse d'échantillon sec brûlé selon l'équation (67). L'erreur de reproductibilité de la phase de combustion correspond à l'incertitude associée à cette droite.

L'incertitude sur la masse d'eau théoriquement produite à l'issue de la combustion donnée par la relation (67), se calcule selon la relation (71):

$$\frac{UM_{combustion}^{eau}}{M_{combustion}^{eau}} = 2 \times \sqrt{\text{var}(\beta) + \text{var}(\alpha) \times M_{brulée}^{laitue}^2 + 2 \times \text{cov}(\alpha, \beta) \times M_{brulée}^{laitue} + \text{var}(M_{brulée}^{laitue})} \quad (71)$$

Avec :

$\frac{UM_{combustion}^{eau}}{M_{combustion}^{eau}}$	incertitude associée à la masse d'eau théoriquement produite par la combustion de l'échantillon de laitue sèche (g)
$\text{var}(\alpha)$	variance associée à la pente de la droite de régression
$\text{var}(\beta)$	variance associée à l'ordonnée à l'origine de la droite de régression
$\text{cov}(\alpha, \beta)$	covariance associée à la pente et à l'ordonnée à l'origine de la droite de régression
$M_{brulée}^{laitue}$	masse de laitue sèche brûlée (g)
$\text{var}(M_{brulée}^{laitue})$	masse de laitue sèche brûlée (g)

Cette incertitude est ajoutée aux incertitudes liées au rendement du four et à l'erreur de masse sur l'eau ajoutée pour obtenir l'incertitude sur la masse d'eau recueillie dans le piège froid à l'issue de la combustion selon (72):

$$\frac{UM_{recueillie}^{eau}}{M_{recueillie}^{eau}} = 2 \times \sqrt{\frac{\text{var}(M_{combustion}^{eau})}{M_{combustion}^{eau}{}^2} + \frac{\text{var}(R)}{R^2} + \frac{\text{var}(M_{ajoutée}^{eau})}{M_{ajoutée}^{eau}{}^2}} \quad (72)$$

Avec :

$M_{recueillie}^{eau}$	masse d'eau recueillie dans le piège froid (g)
$M_{combustion}^{eau}$	masse d'eau produite par la combustion de l'échantillon de laitue sec (g)
$M_{ajoutée}^{eau}$	masse d'eau ajoutée pour le brûlage (g)
R	rendement de combustion du four (sans unité)

et (73) :

$$\frac{UM_{combustion}^{eau}}{M_{combustion}^{eau}} = 2 \times \sqrt{\frac{\text{var}(M_{combustion}^{eau})}{M_{combustion}^{eau}{}^2}} \quad (73)$$

L'incertitude globale sur le résultat de la mesure d'OBT dans l'eau de combustion est finalement obtenue en combinant l'incertitude sur la masse d'eau de combustion théorique à l'incertitude sur la masse d'eau réellement recueillie. L'incertitude sur le comptage par scintillation liquide est également prise en compte, selon la relation (74):

$$\frac{UA_{eaucomb}^{OBT}}{A_{eaucomb}^{OBT}} = 2 \times \sqrt{R^2 \times \left(\frac{M_{ajoutée}^{eau}}{M_{combustion}^{eau}}\right)^2 \times \left(\frac{\text{var}(M_{combustion}^{eau})}{M_{combustion}^{eau}{}^2} + \frac{\text{var}(R)}{R^2} + \frac{\text{var}(M_{ajoutée}^{eau})}{M_{ajoutée}^{eau}{}^2}\right) + \left(\frac{u(M_{combustion}^{eau})}{M_{combustion}^{eau}}\right)^2 + \left(\frac{u(M_{comptage}^{eau})}{M_{comptage}^{eau}}\right)^2 + \left(\frac{u(A_{comptage}^{eau})}{A_{comptage}^{eau}}\right)^2} \quad (74)$$

Avec :

$\frac{UA_{eaucomb}^{OBT}}{A_{eaucomb}^{OBT}}$	incertitude globale sur le résultat de la mesure d'OBT (Bq L ⁻¹)
$M_{comptage}^{eau}$	masse d'eau utilisée pour le comptage (g)
$A_{comptage}^{eau}$	activité de l'eau de comptage (Bq L ⁻¹)

B.3.3.2 Exemple

Voici un exemple concret de certaines étapes du calcul d'incertitude réalisé pour les expériences présentées dans les Tableau 41, Tableau 43 et Tableau 44 présentés dans le Chapitre IV.

Le rendement de combustion du four est déterminé à partir de la quantité d'eau récupérée suite au brûlage d'une quantité connue d'eau de référence, selon l'équation (64). L'ordonnée à l'origine est forcée à zéro pour la régression linéaire associée, présentée graphiquement en Figure 39. Les coefficients statistiques correspondants (pente, ordonnée à l'origine, estimateur, variance, covariance, écart-type) sont présentés dans le Tableau 53.

La régression linéaire établie entre les quantités de matière brûlées et les masses d'eau recueillies, correspondant à l'équation (67), est présentée graphiquement en Figure 40. Les coefficients statistiques associés (pente, ordonnée à l'origine, estimateur, variance, covariance, écart-type) sont présentés dans le Tableau 54.

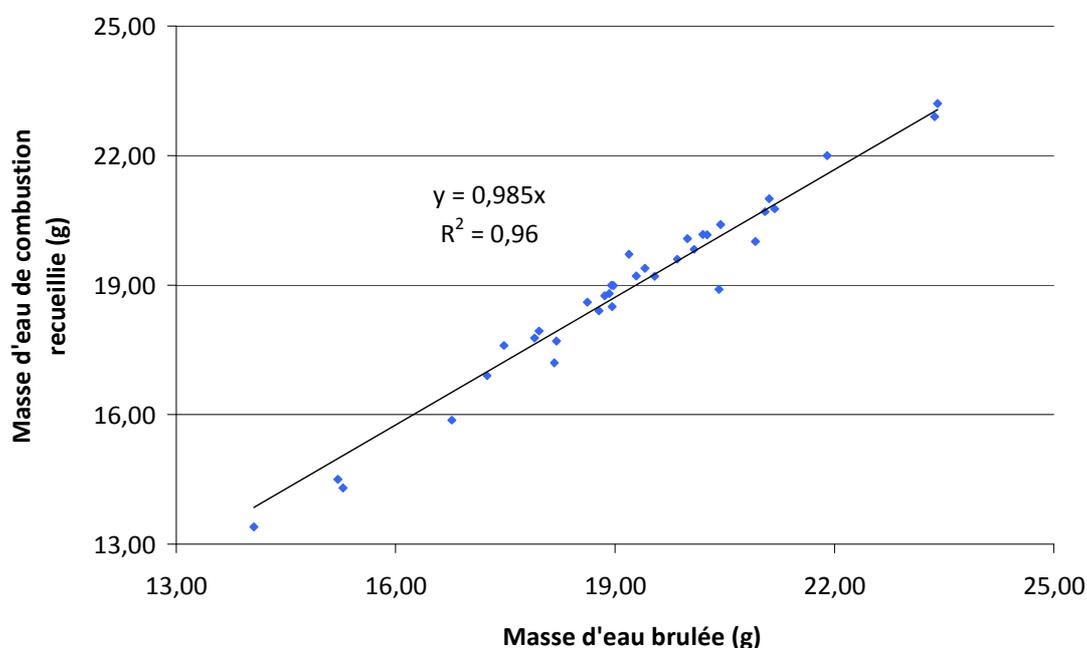


Figure 39 : Exemple de détermination du rendement de four établi à partir des masses d'eau récupérées suite aux brûlages de quantités connues d'eau de référence.

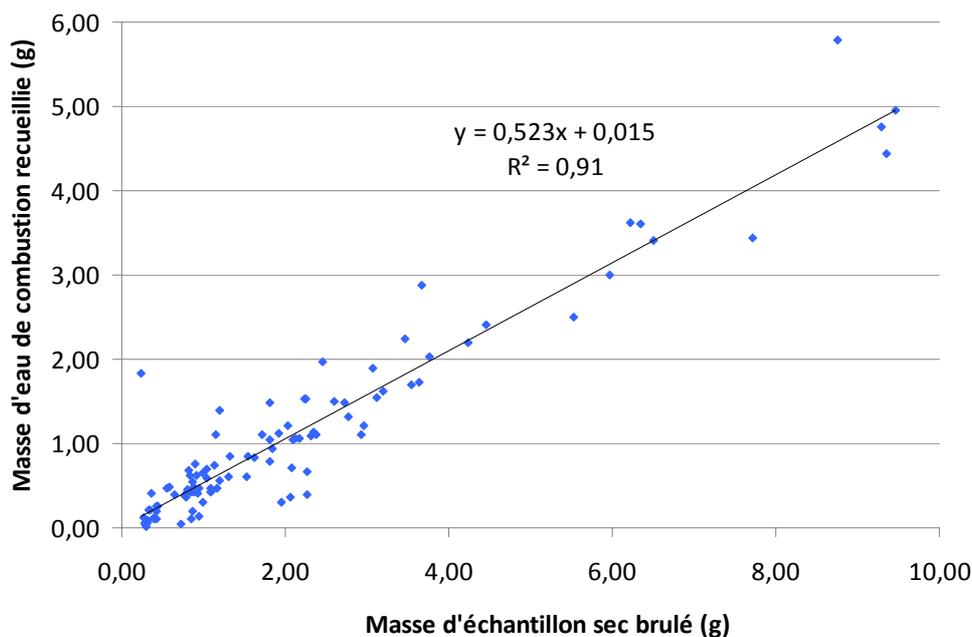


Figure 40 : Régression linéaire établie entre les quantités de matière brûlées et les masses d'eau recueillies à l'issue de la combustion pour 102 échantillons de laitue secs.

Coefficients		variance	écart-type
Pente	0,985	0,0012	0,0353
Ordonnée à l'origine	0,000	0,4649	0,6818
Estimateur	4900,9	-	-
Covariance	-0,0240	-	-

Tableau 53 : Coefficients statistiques associés à la détermination du rendement de four par régression linéaire des masses d'eau récupérées suite aux brûlages de quantités connues d'eau de référence.

Coefficients		variance	écart-type
Pente	0,523	0,00027	0,0165
Ordonnée à l'origine	0,015	0,00238	0,0488
Estimateur	45413,85	-	-
Covariance	-0,00057	-	-

Tableau 54 : Coefficients statistiques associés à la régression linéaire établie entre les quantités de matière brûlées et les masses d'eau recueillies à l'issue de la combustion pour 102 échantillons de laitue secs.

B.4 CALCUL DU TAUX D'INCORPORATION DU TRITIUM ORGANIQUE INSTANTANE

De façon à mettre en évidence l'influence (ou non) du stade de développement des plants sur l'intégration du tritium organique, un taux d'incorporation instantané doit être considéré.

Le principe du calcul de ce taux instantané repose sur l'estimation du **tritium organiquement lié non échangeable** incorporé entre deux mesures, en lien avec l'accroissement de masse de la plante correspondant. Les étapes du calcul sont les suivantes :

- En considérant que la combustion des échantillons secs de laitue est totale, la quantité d'eau recueillie à l'issue de la combustion est une fonction linéaire de la masse brûlée. Le coefficient directeur de la droite obtenue est déterminé par régression linéaire pour chaque série de mesures et permet ensuite de calculer la masse d'eau théoriquement produite à l'issue de la combustion selon la relation (67). Ce coefficient est typiquement de l'ordre de 0,4 à 0,6 pour les échantillons de laitue.

$$M_{théorique}^{eau} = \alpha \times M_{brûlée}^{laitue} + \beta \quad (67)$$

Avec :

$M_{théorique}^{eau}$	masse d'eau théoriquement produite par la combustion de l'échantillon de laitue sèche (g)
$M_{brûlée}^{laitue}$	masse réelle de laitue sèche brûlée (g)
α	coefficient directeur de la droite de régression entre masse d'échantillon brûlée et masse d'eau recueillie
β	ordonnée à l'origine de la droite de régression (g)

- A partir de la masse d'eau théoriquement obtenue suite au brûlage des échantillons et de la mesure d'activité dans cette eau de combustion, l'activité OBT dans les échantillons végétaux secs est calculée selon la relation (75):

$$A_{sec}^{OBT} = \frac{A_{eaucomb}^{OBT} \times M_{théorique}^{eau}}{M_{brûlée}^{laitue}} \quad (75)$$

Avec :

$A_{eaucomb}^{OBT}$	activité en tritium organiquement lié dans l'eau de combustion théorique de la laitue (Bq L ⁻¹)
A_{sec}^{OBT}	activité en tritium organiquement lié dans l'échantillon sec (Bq kg ⁻¹)
$M_{théorique}^{eau}$	masse d'eau théoriquement produite par la combustion de l'échantillon de laitue sèche (g)
$M_{brûlée}^{laitue}$	masse réelle de laitue sèche brûlée (g)

- Le produit de l'activité en tritium organiquement lié dans l'échantillon sec (Bq kg^{-1}) et de la masse d'un plant de laitue sec de l'âge considéré (kg), établi à partir de la courbe de croissance modélisée, permet d'accéder à l'activité (en Bq) contenue dans une plante selon la relation (76).

$$A_t^{OBT} = A_{\text{sec}}^{OBT} \times M_t^{\text{laitue}} \quad (76)$$

Avec :

A_t^{OBT} activité en tritium organiquement lié contenue dans un plant de laitue au temps t (Bq)

M_t^{laitue} masse sèche d'un plant de laitue au temps t (kg)

- Connaissant l'activité du tritium organique contenue dans un plant de laitue pour chaque point de mesure, il est possible de déterminer par différence la quantité de tritium organique intégrée entre deux prélèvements selon la relation (77):

$$\Delta_{Bq}^{OBT} = A_{t+1}^{OBT} - A_t^{OBT} \quad (77)$$

Avec :

Δ_{Bq}^{OBT} quantité de tritium organique intégrée entre les instants t et t + 1 (Bq)

- Cette quantité de tritium organique intégrée entre deux instants correspond à un accroissement de masse de la laitue exprimé par la relation (78):

$$\Delta_{\text{laitue}}^M = M_{t+1}^{\text{laitue}} - M_t^{\text{laitue}} \quad (78)$$

Avec :

Δ_{laitue}^M accroissement de masse d'un plant de laitue entre les instants t et t + 1 (kg)

- Il est alors possible de calculer la masse d'eau de combustion qui serait obtenue par la combustion d'une quantité de matière égale à cet accroissement de masse selon la relation (67), et par suite l'activité volumique de cette quantité d'eau selon (79):

$$\Delta_{\text{théorique}}^{\text{eau}} = \alpha \times \Delta_{\text{laitue}}^M + \beta \quad (67)$$

$$\Delta_{Bq/L}^{OBT} = \frac{\Delta_{Bq}^{OBT}}{\Delta_{théorique}^{eau}} \quad (79)$$

Avec :

$\Delta_{Bq/L}^{OBT}$	activité volumique de l'eau de combustion théoriquement obtenue par le brûlage d'une quantité de matière égale à l'accroissement de masse entre les instants t et t + 1 (Bq L ⁻¹)
$\Delta_{théorique}^{eau}$	masse d'eau de combustion théoriquement obtenue par le brûlage d'une quantité de matière égale à l'accroissement de masse Δ_{laitue}^M entre les instants t et t + 1 (kg)

- Le taux d'incorporation instantané du tritium sous forme organique peut alors être défini par l'expression (80):

$$v_t = \frac{\Delta_{Bq/L}^{OBT}}{C_{TFWT} \times \Delta_t} \quad (80)$$

Avec :

v_t	taux d'incorporation instantané du tritium sous forme organique entre les instants t et t + 1 (% h ⁻¹)
C_{TFWT}	activité volumique du tritium dans l'eau tissulaire de la plante entre les instants t et t + 1 (Bq L ⁻¹)
Δ_t	période de temps comprise entre les instants t et t + 1 (h)

Le même type de calcul peut être mené pour déterminer le taux d'incorporation instantané non pas en fonction du temps mais en fonction de l'énergie disponible pour les plantes.

C DONNEES EXPERIMENTALES

C.1 PARAMETRES CLIMATIQUES ENREGISTRES LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES EXT-1

C.1.1 RELEVES DES VALEURS MOYENNES EN PERIODES DIURNE ET NOCTURNE EN EXTERIEUR SUR LE SITE D'EXPOSITION (FIN AVRIL A DEBUT JUILLET), ET OBSERVATIONS DE LA STATION METEOROLOGIQUE DU CENTRE.

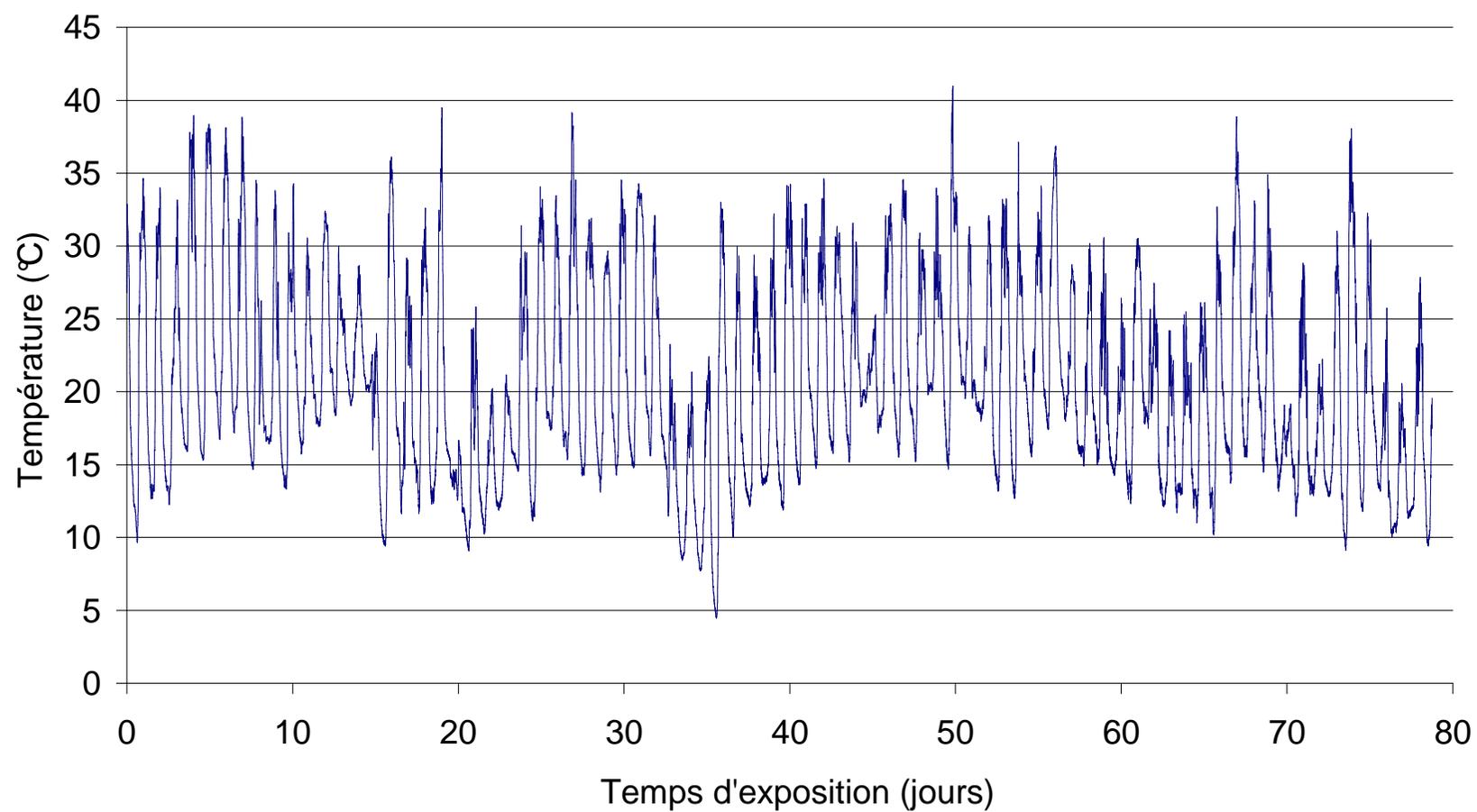
Temps depuis la germination	Température moyenne		Hygrométrie moyenne		Eclairement moyen	Observations station météorologique
	jour	nuit	jour	nuit	jour	
12	-	13,5	-	61,4	-	Belle journée ensoleillée
13	25,6	14,7	39,0	61,5	4355	Belle journée ensoleillée
14	23,9	14,1	52,6	79,7	3871	Belle journée ensoleillée - pluie et orages en fin de journée
15	23,6	17,9	58,5	65,4	2598	Couvert le matin – soleil l'après-midi
16	29,7	18,1	44,5	62,0	3926	-
17	30,6	20,4	43,3	59,0	4318	-
18	29,1	20,0	46,0	53,7	2704	-
19	29,4	17,7	41,3	52,1	3600	-
20	23,4	17,4	45,8	66,6	3135	Soleil le matin – couvert l'après-midi
21	23,9	15,4	60,7	72,8	2494	Pluie le matin – couvert l'après-midi
22	24,8	18,4	47,8	61,9	4487	Belles éclaircies
23	23,5	19,2	54,0	63,2	2612	-
24	26,4	20,9	50,1	55,1	3572	-
25	24,3	20,5	51,6	59,6	2409	-
26	24,5	21,2	58,6	63,7	2161	-
27	20,5	11,1	66,0	83,6	1996	Pluie le matin – couvert l'après-midi
28	26,7	16,1	55,7	70,0	4958	Belle journée ensoleillée
29	21,6	15,4	58,3	75,7	2741	Pluie le matin – Eclaircies l'après-midi
30	24,1	13,9	57,1	78,2	1661	-

31	25,2	15,8	60,1	79,0	1416	-
32	14,3	11,1	79,6	83,9	303	Pluie le matin – couvert l'après-midi
33	17,8	12,1	72,4	81,9	796	Eclaircies
34	15,7	12,5	78,7	84,4	751	Belle journée ensoleillée
35	17,5	15,6	80,7	84,3	1733	-
36	24,3	13,3	70,7	82,1	3925	-
37	26,0	19,0	74,4	81,1	3185	-
38	25,2	17,3	74,4	82,6	2776	-
39	28,9	16,6	63,2	80,5	4849	Belle journée ensoleillée
40	26,7	16,0	53,6	80,3	5084	Soleil le matin – couvert l'après-midi
41	24,5	17,0	61,5	80,9	4190	Belle journée ensoleillée
42	26,3	16,4	58,2	79,2	4387	Belle journée ensoleillée
43	29,5	19,1	46,3	72,6	5292	Belle journée, nuages en soirée
44	24,8	16,4	56,9	75,2	4770	-
45	16,4	9,8	66,0	80,2	3114	-
46	14,9	10,1	66,1	78,9	3015	-
47	15,1	6,9	71,7	77,9	2265	Couvert, pluie, temps froid
48	23,3	13,7	54,9	75,1	5132	Eclaircies le matin – nuages l'après-midi
49	20,3	13,5	66,2	80,6	3356	Eclaircies
50	21,6	14,3	58,0	75,0	4158	Belle journée ensoleillée
51	21,9	14,0	65,8	80,3	2926	-
52	27,2	16,0	55,2	76,6	4786	-
53	25,2	17,7	58,1	79,3	4580	Soleil le matin – couvert l'après-midi
54	26,6	18,0	60,8	77,6	4218	Belle journée – averse dans l'après-midi
55	26,3	18,6	55,7	81,4	4388	Belle journée ensoleillée
56	24,3	19,8	68,2	84,2	4135	Soleil le matin – orage l'après-midi
57	22,2	18,5	76,7	85,7	1850	Couvert et brumeux
58	27,8	18,4	55,2	80,9	4918	-
59	27,0	18,0	57,9	85,3	4787	-
60	25,3	20,8	65,5	75,7	4051	Alternance orages et éclaircies
61	26,3	18,1	64,4	77,9	3108	Alternance temps couvert et éclaircies
62	29,7	21,6	50,4	73,3	5823	Alternance temps couvert et éclaircies

63	23,7	19,0	68,6	78,8	2010	Alternance temps couvert et éclaircies
64	24,6	15,3	62,7	76,8	3514	Alternance temps couvert et éclaircies
65	26,8	16,3	52,7	72,4	4517	-
66	24,8	18,2	58,6	77,5	3608	-
67	26,4	20,1	59,3	74,7	4018	Pluie le matin – éclaircies l'après-midi
68	30,0	21,3	50,6	72,7	4429	Belle journée ensoleillée
69	23,3	17,1	55,6	77,6	3180	Belle journée ensoleillée
70	21,8	17,9	68,0	73,7	2619	Pluie le matin – éclaircies l'après-midi
71	22,0	15,5	62,6	79,7	2663	Pluie le matin – éclaircies l'après-midi
72	19,9	14,4	71,1	80,6	2223	-
73	25,5	19,4	53,1	76,0	3613	-
74	22,1	13,7	62,9	73,7	3093	Pluie le matin – éclaircies l'après-midi
75	18,0	13,4	70,3	80,2	2408	Temps pluvieux
76	19,1	13,2	61,8	76,9	2729	Temps pluvieux
77	21,3	13,4	56,6	76,4	4259	Eclaircies
78	22,6	16,2	54,9	71,6	4207	Eclaircies
79	29,0	17,6	48,4	73,1	5521	-
80	25,2	18,7	63,7	76,7	2843	-
81	24,6	15,3	54,8	72,9	4191	Temps couvert
82	17,0	14,4	75,4	80,9	1407	Temps pluvieux
83	21,4	14,2	58,9	77,0	4178	Temps pluvieux
84	17,8	13,6	69,3	80,5	2425	Temps pluvieux
85	21,8	11,7	64,7	78,4	3416	Temps pluvieux
86	27,9	14,8	49,7	76,5	5400	-
87	23,0	15,7	67,3	83,4	3240	-
88	16,9	10,8	75,2	85,8	2511	Temps couvert
89	15,9	11,9	75,8	85,8	2986	Temps pluvieux
90	19,9	11,9	65,4	79,2	3660	Temps couvert

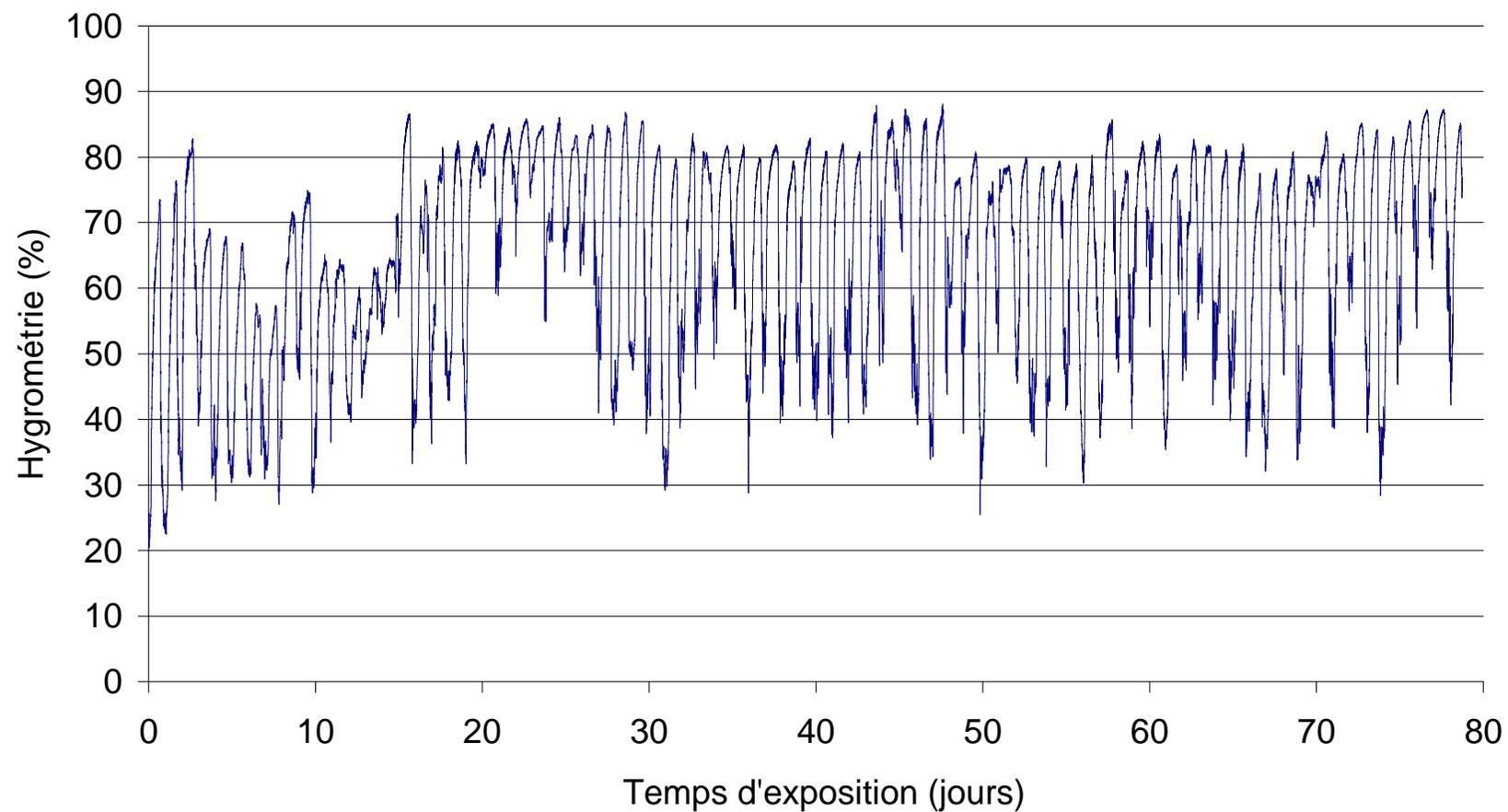
C.1.2 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVES DE TEMPERATURE REALISES DURANT L'EXPOSITION EN EXTERIEUR (FIN AVRIL A DEBUT JUILLET).

Température (°C) - EXT-1

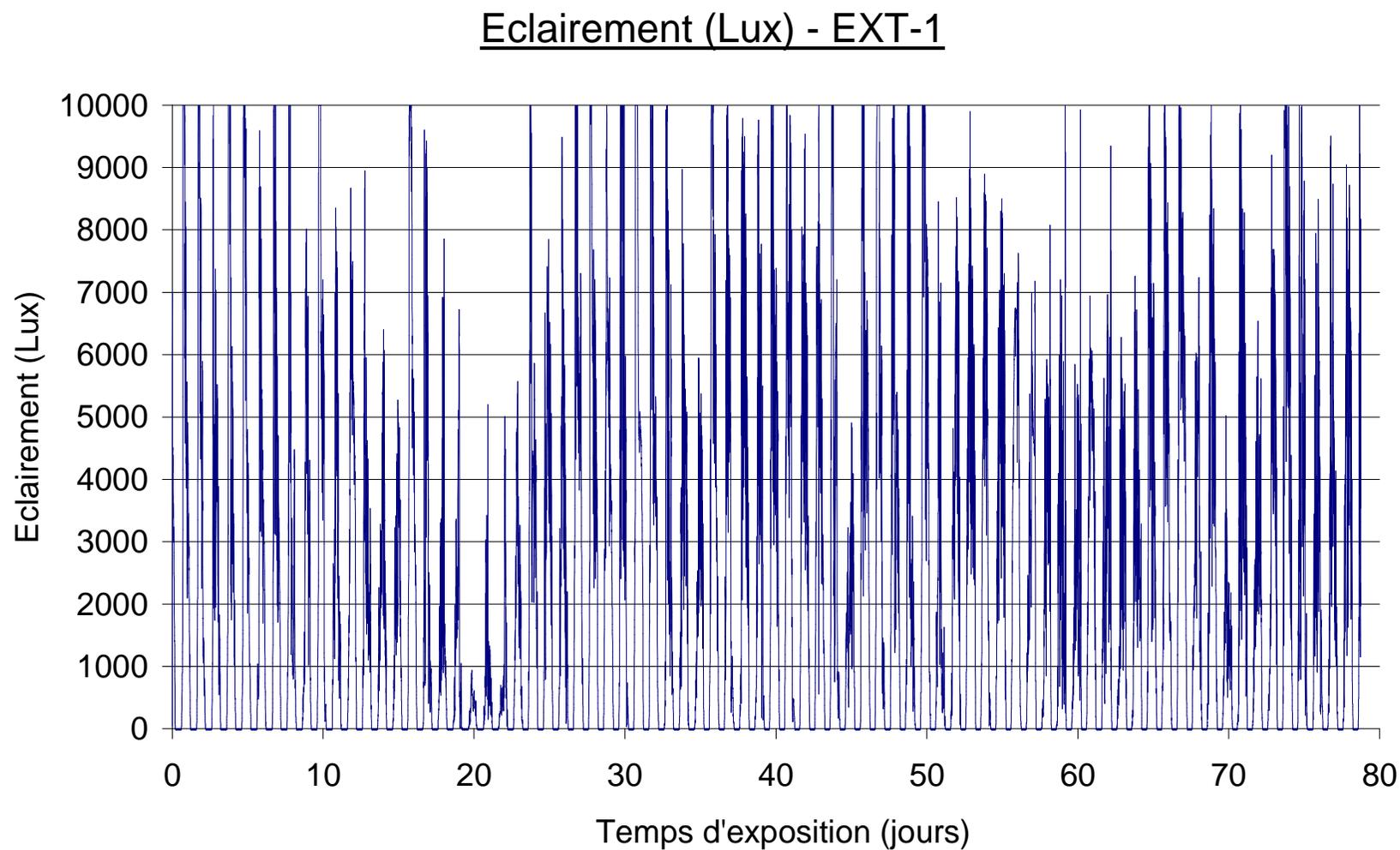


C.1.3 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVES D'HYGROMETRIE REALISES DURANT L'EXPOSITION EN EXTERIEUR (FIN AVRIL A DEBUT JUILLET).

Hygrométrie (%) - EXT-1

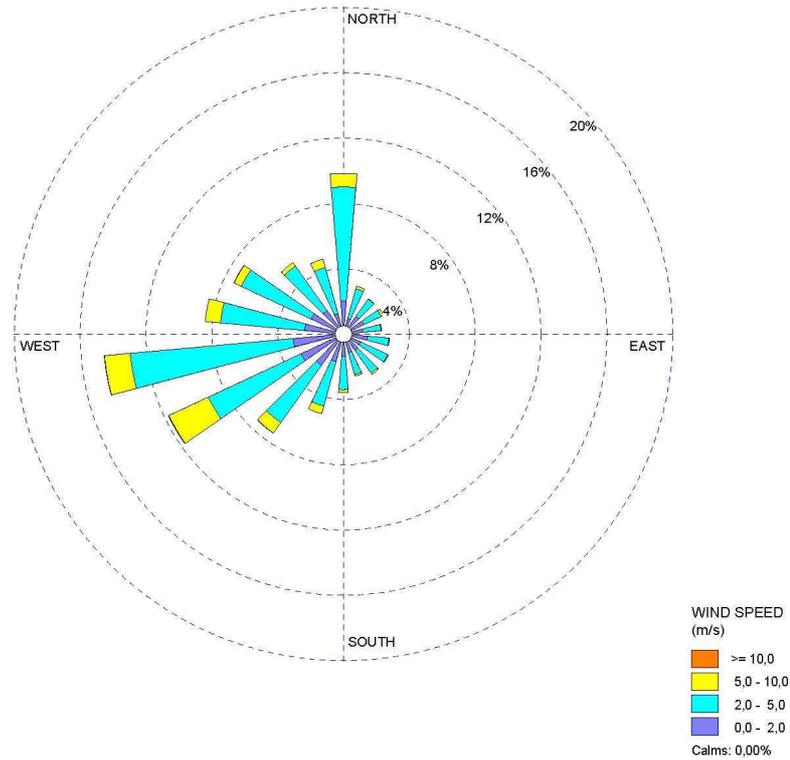


C.1.4 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVÉS D'ÉCLAIREMENT RÉALISÉS DURANT L'EXPOSITION EN EXTÉRIEUR (FIN AVRIL À DÉBUT JUILLET).

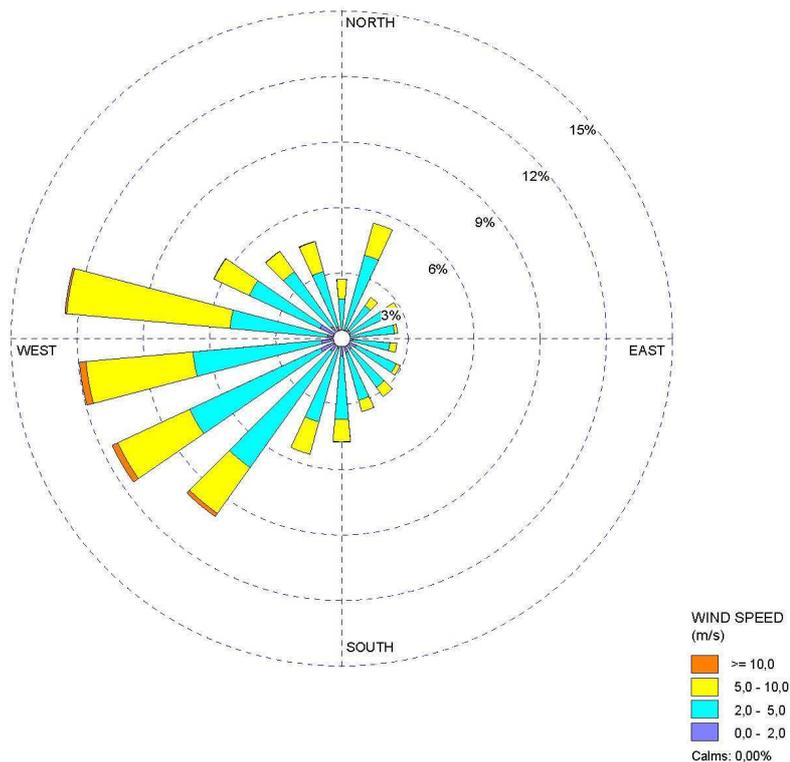


C.1.5 ROSES DES VENTS ETABLIES SUR LA BASE DE MESURES EFFECTUEES A 10 M (A), 30 M (B) ET 55 M (C) D'ALTITUDE, SUR LE CENTRE DE VALDUC, POUR LA PERIODE CORRESPONDANT A L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES EXT-1.

a)



b)



C.2 PARAMETRES CLIMATIQUES ENREGISTRES LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES EXT-2

C.2.1 RELEVES DES VALEURS MOYENNES EN PERIODES DIURNE ET NOCTURNE EN EXTERIEUR SUR LE SITE D'EXPOSITION (DEBUT SEPTEMBRE A FIN OCTOBRE), ET OBSERVATIONS DE LA STATION METEOROLOGIQUE DU CENTRE.

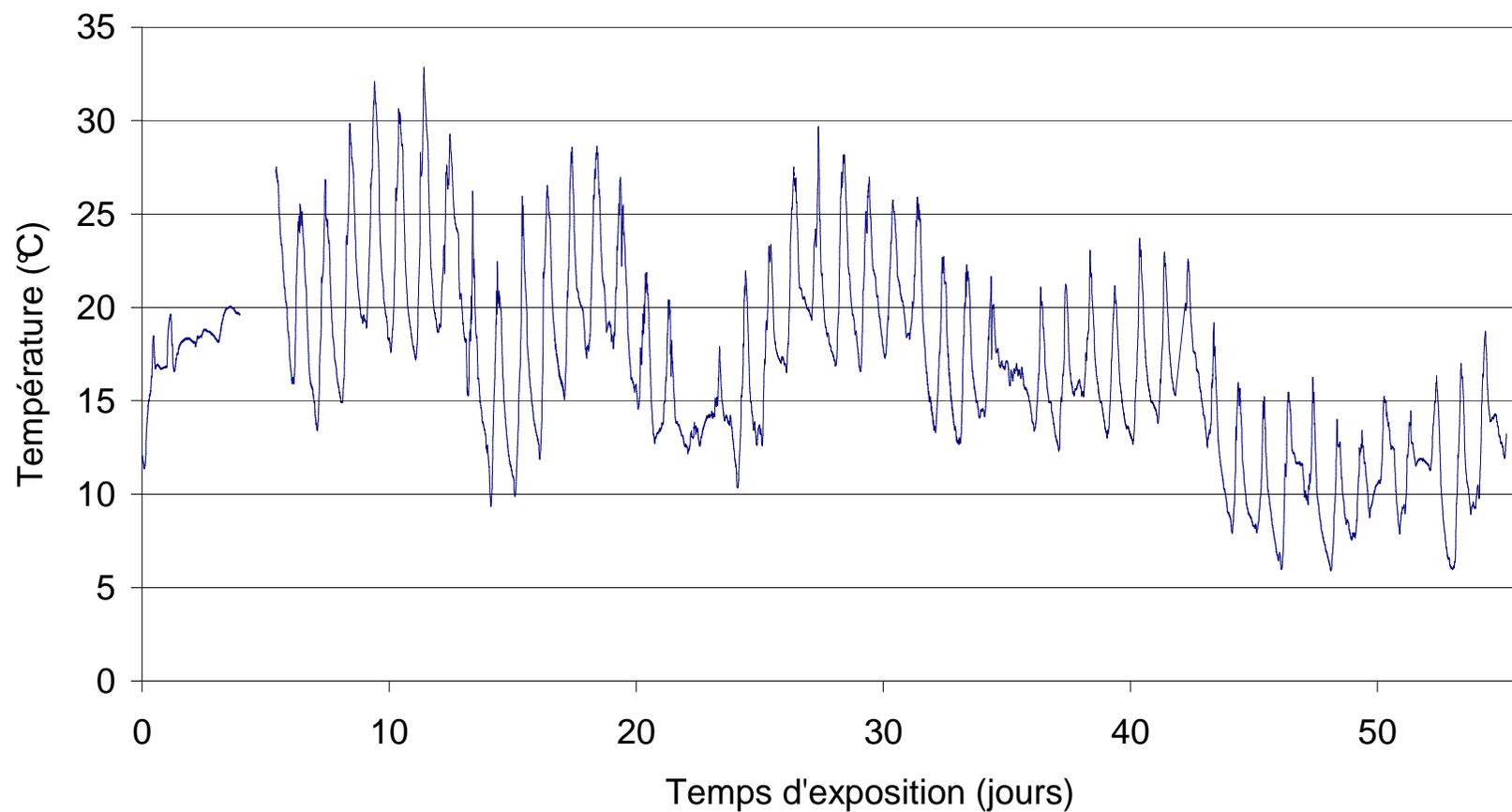
Temps depuis la germination (jours)	Température moyenne		Hygrométrie moyenne		Eclairement moyen	Observations station météorologique
	jour	nuit	jour	nuit	jour	
33	14,9	16,9	66,4	62,6	-	Belle journée ensoleillée - temps frais
34	18,0	18,3	70,4	75,7	-	Temps couvert
35	18,4	18,6	71,9	67,8	-	Temps couvert
36	19,3	17,7	66,2	58,1	-	-
37	-	20,4	-	52,8	-	-
38	21,4	17,1	48,2	56,4	1493	Belle journée ensoleillée
39	20,6	17,7	50,5	56,9	1036	Belle journée ensoleillée
40	22,8	20,9	50,4	53,0	1006	Belle journée ensoleillée
41	26,3	20,8	45,0	50,0	1128	Belle journée ensoleillée
42	24,9	20,1	45,6	52,5	1129	-
43	25,6	21,0	45,4	51,1	1094	-
44	24,8	22,4	53,7	54,5	921	Temps couvert
45	19,0	13,9	55,3	60,6	2040	Pluie le matin - éclaircies l'après-midi
46	16,3	12,9	56,9	58,5	1465	Belle journée ensoleillée
47	17,3	14,9	57,1	59,1	1470	Belle journée ensoleillée
48	20,4	17,5	56,1	60,7	2223	Belle journée ensoleillée
49	22,2	19,5	59,7	63,8	2344	-
50	24,1	19,9	60,1	61,7	2940	-
51	22,9	17,1	58,9	64,4	2173	Belles éclaircies
52	18,4	13,6	61,4	64,4	1856	Belles éclaircies
53	16,7	13,3	66,0	71,1	2035	Temps couvert - pluie l'après-midi

54	13,0	13,8	74,0	76,0	1094	Temps pluvieux
55	15,1	13,4	74,8	76,6	1428	Temps pluvieux
56	16,1	13,8	71,0	71,6	2163	-
57	18,9	17,4	69,6	72,3	2133	-
58	22,8	20,5	65,9	70,0	2817	Belles éclaircies
59	23,0	18,3	67,8	71,5	2380	Belles éclaircies
60	23,4	19,3	68,5	70,0	2677	Belles éclaircies
61	22,6	19,9	68,2	70,8	2350	Belle journée enseoleillée
62	22,0	19,9	70,6	70,4	1643	Belle journée enseoleillée
63	22,2	16,1	66,4	68,9	1892	-
64	18,2	14,7	68,5	68,7	1494	-
65	18,0	15,1	67,4	69,5	1931	Belle journée enseoleillée
66	17,8	17,1	66,8	67,5	2302	Couvert le matin – soleil l'après-midi
67	16,5	15,4	73,1	72,7	999	Temps pluvieux
68	16,8	14,4	69,9	69,0	1453	Belle journée enseoleillée
69	16,8	15,8	68,6	69,6	1811	Belle journée enseoleillée
70	18,6	14,9	66,8	68,7	1576	-
71	17,3	14,1	68,2	69,1	1968	-
72	18,1	15,6	68,7	67,8	1275	Belle journée enseoleillée
73	18,1	-	66,8	-	1299	Belle journée enseoleillée
74	14,7	15,7	47,7	70,5	1446	Belle journée enseoleillée
75	15,1	10,3	66,2	68,5	1909	Belles éclaircies
76	12,4	9,3	63,8	65,6	2018	Belle matinée – couvert l'après-midi
77	11,1	8,0	62,7	63,3	1332	-
78	11,3	11,6	61,3	62,4	1786	-
79	11,8	7,8	60,9	64,8	1583	Belle journée enseoleillée
80	10,1	8,6	65,5	69,8	1476	Belle journée enseoleillée
81	11,0	10,0	66,3	69,1	1676	Temps couvert
82	13,4	10,1	64,6	69,7	1678	Couvert le matin – soleil l'après-midi
83	12,0	11,8	70,2	70,5	1361	Temps couvert
84	13,7	7,5	66,0	70,7	1579	-

85	12,2	10,0	70,4	71,2	1644	-
86	15,0	13,7	67,8	72,0	1887	Temps couvert - pluie l'après-midi

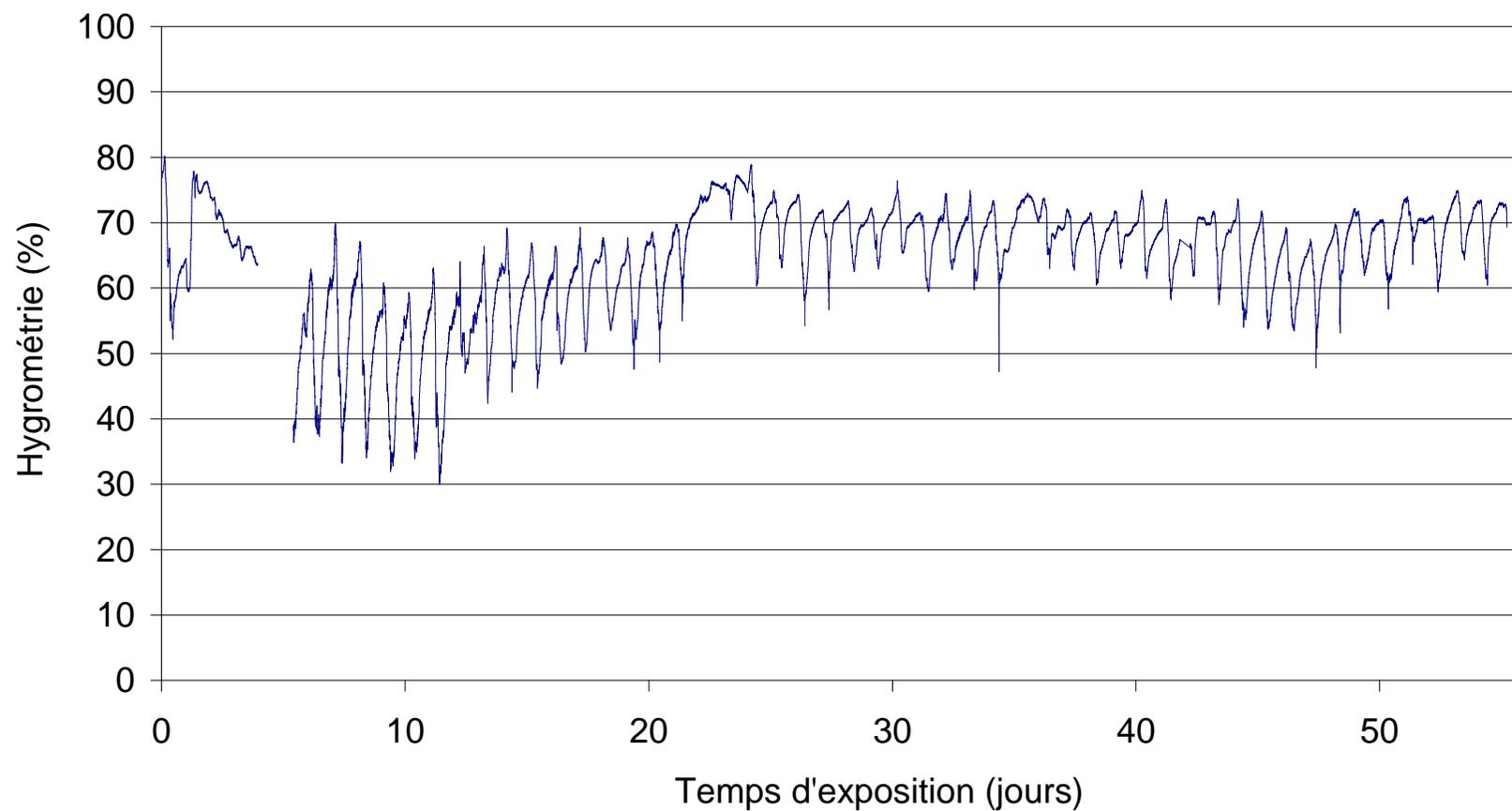
C.2.2 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVES DE TEMPERATURE REALISES DURANT L'EXPOSITION EN EXTERIEUR (DEBUT SEPTEMBRE A FIN OCTOBRE).

Température (°C) - EXT-2



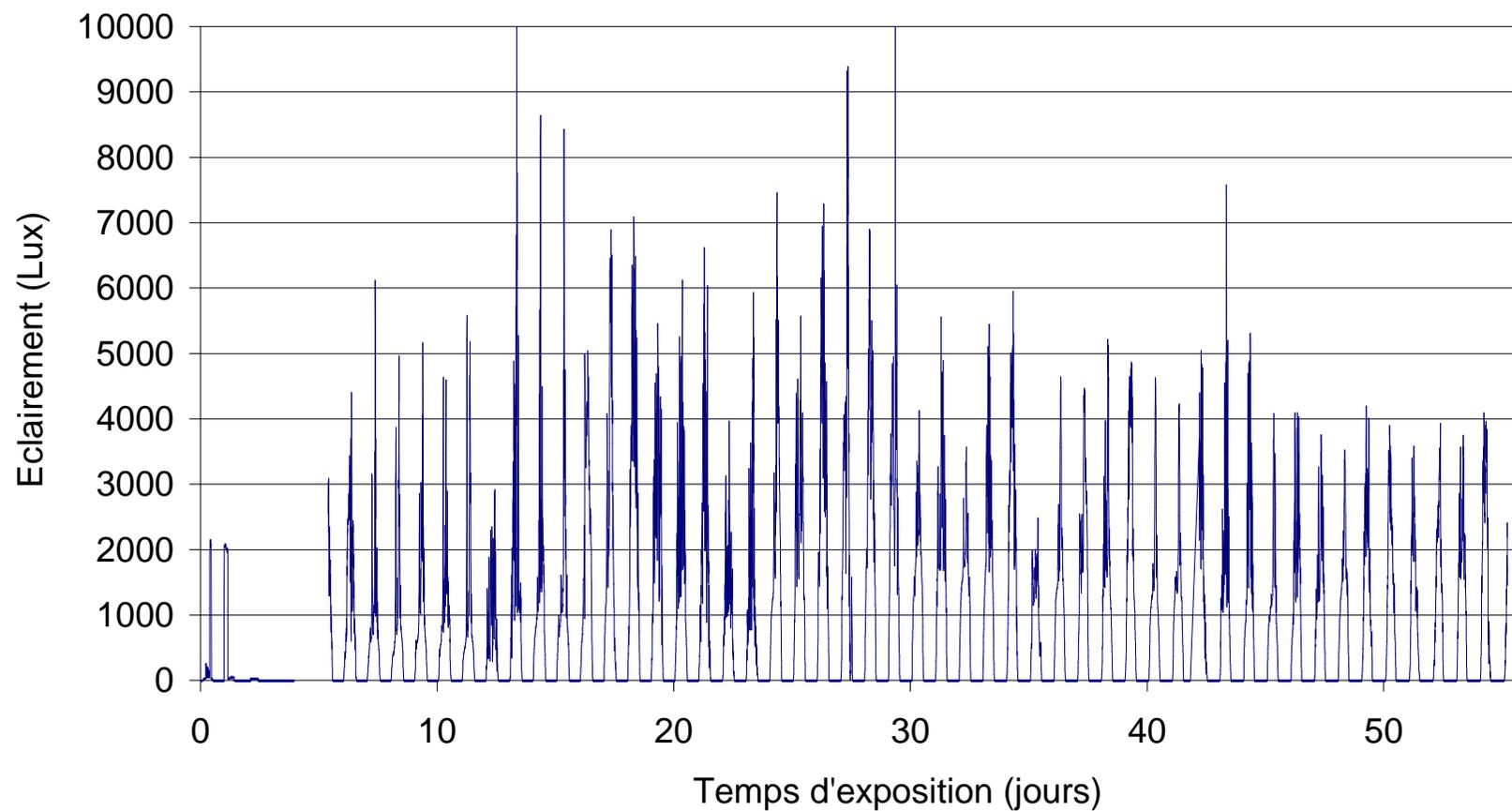
C.2.3 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVES D'HYGROMETRIE REALISES DURANT L'EXPOSITION EN EXTERIEUR (DEBUT SEPTEMBRE A FIN OCTOBRE).

Hygrométrie (%) - EXT-2



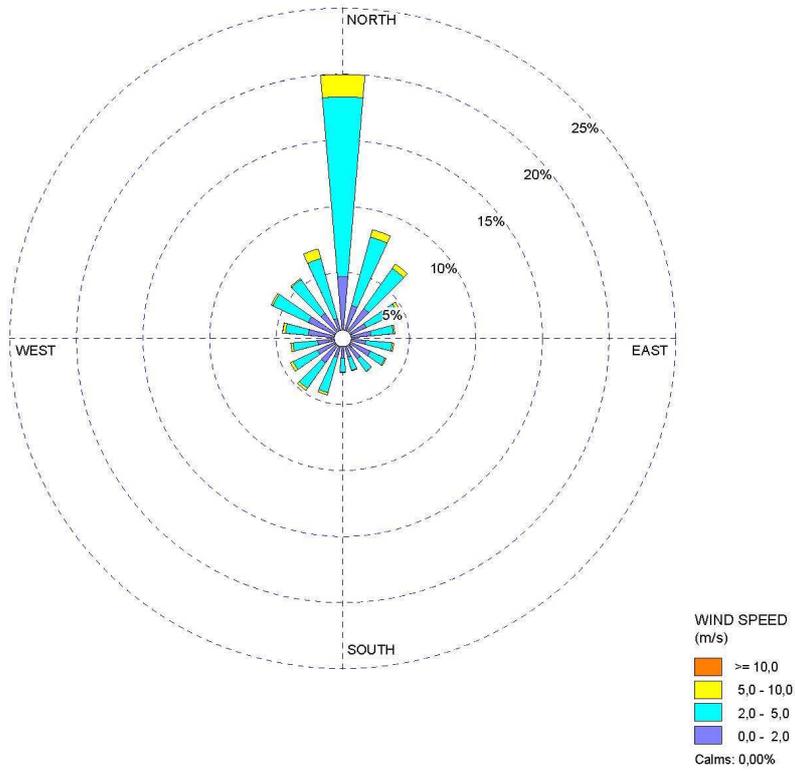
C.2.4 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RELEVES D'ECLAIREMENT REALISES DURANT L'EXPOSITION EN EXTERIEUR (DEBUT SEPTEMBRE A FIN OCTOBRE).

Eclairement (Lux) - EXT-2

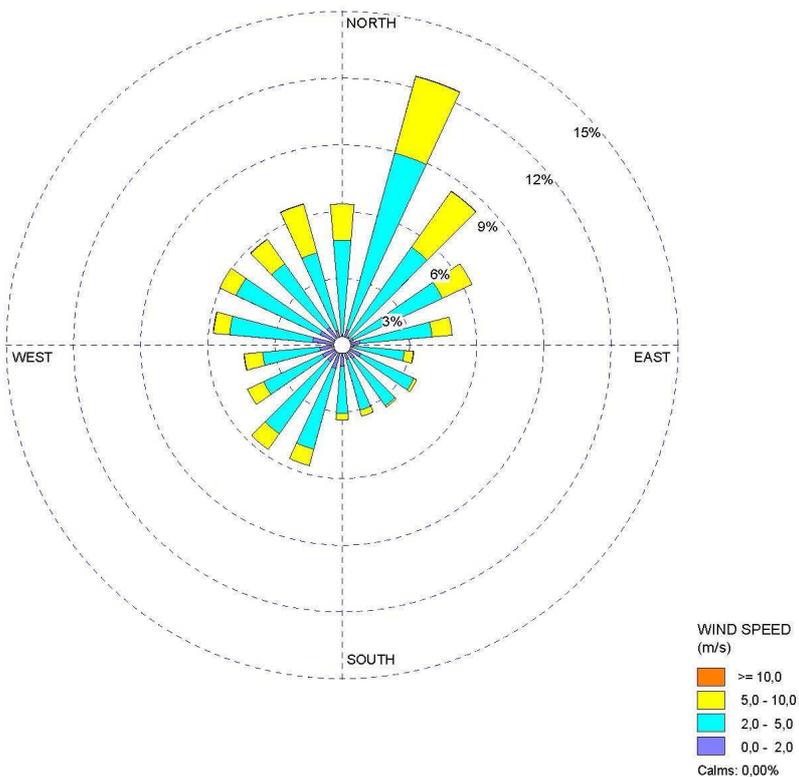


C.2.5 *ROSES DES VENTS ETABLIES SUR LA BASE DE MESURES EFFECTUEES A 10 M (A) ET 30 M (B) D'ALTITUDE, SUR LE CENTRE DE VALDUC, POUR LA PERIODE CORRESPONDANT A L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES EXT-2.*

a)



b)



C.3 ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE (HT ET HTO) MESUREES LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES REELLES EXT-1 ET EXT-2. LE DEBUT DE L'EXPOSITION A LIEU 11 ET 31 JOURS APRES LA GERMINATION DES GRAINES RESPECTIVEMENT.

Temps depuis la germination (période de mesure en jours)	Emplacement des plants	HTO	U	HT	U	HT + HTO	HTO	U
		Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	%
EXT-1								
0 - 4	Laboratoire	2,8	13	0,5	32	3,3		
4 - 11		4,3	13	1,3	20	5,6		
11 - 19	Serre de culture extérieure	10,3	12	2,1	15	14,4	974	14
19 - 27		8,7	12	2,0	16	11,0	778	13
27 - 32		16,3	12	3,1	14	19,4	1468	14
32 - 40		8,7	12	2,5	14	11,2	667	15
40 - 47		11,8	12	1,4	19	13,2	1104	21
47 - 54		4,1	13	0,5	38	4,6	343	13
54 - 61		8,5	12	0,8	31	9,3	595	12
61 - 68		14,4	12	1,8	14	16,3	1101	12
68 - 75		18,9	12	5,6	12	24,5	1647	12
75 - 83		19,5	12	4,5	15	24,0	1764	13
83 - 90		17,0	12	0,8	27	17,8	1570	14
EXT-2								
0 - 4	Laboratoire	2,6	13	0,9	18	3,5		
4 - 11		1,6	14	0,3	38	1,9		
11 - 25		1,4	12	0,8	22	2,2		
25 - 31		2,4	13	0,4	33	2,6		
31 - 40	Serre de culture extérieure	3,1	12	0,8	27	3,9	320	17
40 - 45		7,5	12	0,6	20	8,1	767	12
45 - 47		9,6	12	1,2	25	10,8	1058	14
47 - 52		14,0	12	1,5	16	15,5	1425	13
52 - 54		14,4	12	2,8	19	17,2	1608	13
54 - 61		7,1	12	1,0	18	8,1	690	15
61 - 68		5,4	12	0,6	16	6,0	469	12
68 - 76		5,0	12	0,5	23	5,6	516	12
76 - 82		3,7	13	0,8	22	4,5	544	14
82 - 89	3,0	13	0,5	25	3,5	404	13	

C.4 ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE (HT ET HTO) MESUREES DANS LA CHAMBRE CLIMATIQUE EN CONDITIONS ARTIFICIELLES DIURNES (A) ET NOCTURNES (B) LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES CONTROLEES CLIM-1.

a) Temps depuis le début de l'exposition (jours)	HTO	U	HT	U	Total (HT + HTO)	HTO	U
	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	%
1	116,2	13	15,2	24	131,4	7966	14
2	108,1	12	10,3	23	118,4	5954	13
5	124,1	12	7,9	16	132,1	6423	13
6	149,1	12	14,0	22	163,1	7344	13
7	131,7	12	14,8	20	146,5	6924	13
8	137,6	12	15,9	18	153,5	7097	13
9	172,3	12	12,9	20	185,3	13580	14
13	172,8	12	5,8	16	178,6	15218	15
14	171,6	12	8,1	22	179,7	14040	14
15	209,1	12	20,4	15	229,5	16592	14
16	181,2	12	11,4	19	192,5	13784	14
19	186,7	12	7,2	16	193,9	16054	15
20	202,0	12	6,8	27	208,8	15091	14
21	218,0	12	16,6	16	234,6	14473	13
22	304,3	12	40,5	14	344,8	19421	13
23	217	12	30,3	14	247,3	14353	13
26	205,3	12	8,6	15	213,9	15178	13
27	184,8	12	15,3	18	200,1	14924	14
28	183,1	12	18,0	17	201,1	14988	14
29	230,1	12	22,7	16	252,9	16066	13
30	269,0	12	36,6	13	305,6	18979	14
33	232,3	12	12,9	14	245,2	15411	13
34	213,9	12	20,0	16	233,9	15205	13
35	208,2	12	19,2	17	227,4	13882	13
36	171,5	12	14,7	18	186,2	11154	13
37	178,1	12	10,5	23	188,6	11172	13
40	195,5	12	9,1	15	204,6	11481	13
41	257,1	12	36,7	13	293,8	16730	13
42	231,3	12	24,8	15	256,1	14429	13
43	241,5	12	29,9	14	271,4	14003	13
44	218,6	12	26,5	15	245,1	13647	13
47	179,6	12	9,9	14	189,5	11821	13
48	186,6	12	22,6	16	209,2	11733	13
49	154,9	12	12,5	21	167,4	11057	14
54	159,1	12	5,6	14	164,8	11179	14
55	158,7	12	13,6	16	172,3	12246	14
56	137,2	12	11,8	16	149,0	11941	16
62	140,2	12	5,0	14	145,2	11810	16

* Le début de l'exposition a lieu 29 jours après la germination des graines.

b) Temps depuis le début de l'exposition (jours)	HTO	U	HT	U	Total (HT + HTO)	HTO	U
	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	%
0,5	61,3	13	35,5	15	96,9	3977	21
1,5	68,0	13	28,6	17	96,6	3726	20
4,5	97,5	12	17,2	14	114,7	5846	20
5,5	295,8	12	81,7	13	377,5	15946	19
6,5	71,9	13	13,6	25	85,5	5332	21
7,5	65,3	13	23,1	18	88,4	4823	21
8,5	160,2	12	19,6	20	179,8	13950	22
11,5	149,9	12	10,9	16	160,9	15760	26
13,5	180,0	12	60,9	15	240,9	18360	25
14,5	172,4	12	26,8	15	199,2	16775	24
15,5	165,8	12	23,3	17	189,0	16479	24
18,5	146,6	12	9,3	17	155,9	14983	26
19,5	167,0	12	21,4	19	188,4	16593	24
20,5	170	12	21,3	18	191,3	15814	23
21,5	194,5	12	23,6	18	218,1	17571	23
22,5	173	12	32,1	15	205,1	17133	24
25,5	152,8	12	12,6	15	165,4	16325	26
26,5	159,4	12	27,1	17	186,5	18250	27
27,5	156,8	12	29,8	17	186,6	16044	25
28,5	206,2	12	33,4	16	239,6	19650	24
29,5	272,9	12	25,3	18	298,2	23382	25
32,5	181,4	12	14,8	14	196,2	17212	25
33,5	170,8	12	23,8	19	194,6	16880	24
34,5	158,0	12	25,5	19	183,5	16758	26
35,5	140,7	12	17,9	21	158,6	15123	26
36,5	140,7	12	14,9	24	155,6	13291	23
39,5	166,7	12	12,7	15	179,5	13895	22
40,5	198,4	12	48,2	14	246,6	17726	22
41,5	194,8	12	30,7	16	225,5	17264	22
42,5	205,7	12	38,9	15	244,6	18231	22
43,5	162,2	12	29,5	16	191,7	15141	23
46,5	133,0	12	12,4	15	145,4	12160	25
47,5	159,6	12	37,7	16	197,3	13162	29
48,5	145,9	12	26,2	19	172,1	13536	39
53,5	141,5	12	8,5	14	150,0	13047	33
54,5	137,8	12	27,7	15	165,5	13594	38
55,5	131,7	12	20,0	17	151,8	14011	45
61,5	132,9	12	5,6	16	138,5	14350	38

* Le début de l'exposition a lieu 29 jours après la germination des graines.

C.5 ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE (HT ET HTO) MESUREES DANS LA CHAMBRE CLIMATIQUE EN CONDITIONS ARTIFICIELLES DIURNES (A) ET DE NOCTURNES (B) LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES CONTROLEES CLIM-2.

a) Temps depuis le début de l'exposition (jours)*	HTO	U	HT	U	Total (HT + HTO)	HTO	U
	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	%
3	159,0	15	24,0	15	183,0	10731	22
4	210,6	27	16,5	23	227,1	12213	31
5	166,3	10	26,2	11	192,5	9290	11
6	218,7	15	10,8	22	229,5	14477	22
7	156,3	15	18,2	26	174,5	10957	22
10	102,3	10	5,3	13	107,7	7426	11
11	107,2	15	5,5	38	112,7	6921	22
12	156,4	16	7,2	29	163,6	9859	23
13	124,7	16	4,1	27	128,8	7859	23
14	119,1	16	6,3	24	125,4	7991	22
17	157,9	15	3,8	18	161,7	8473	21
18	158,5	15	32,9	21	191,4	7704	21
19	203,2	15	14,8	19	218,0	9686	21
20	175,0	15	9,5	19	184,5	10408	22
21	253,2	19	12,5	23	265,8	14683	25
24	196,3	15	13,6	17	209,9	11280	22
25	283,6	15	37,8	25	321,4	15760	22
26	187,8	15	15,2	19	203,0	11356	24
27	204,2	15	6,7	16	210,9	11562	22
28	154,3	15	5,0	18	159,3	11699	24
31	139,0	15	1,3	18	140,3	8674	23
32	106,2	16	3,5	34	109,7	6373	24
33	104,1	16	3,7	32	107,8	6274	24
34	118,5	16	3,5	27	122,0	7115	24
35	154,5	18	35,0	27	189,5	8671	24
39	103,1	15	3,8	22	106,9	6750	24
40	99,6	16	8,6	31	108,3	6541	24
41	89,0	18	1,0	63	89,9	5440	25
42	56,6	17	3,3	59	59,9	3610	25
45	47,4	15	3,3	28	50,7	3274	24
46	62,7	15	7,8	40	70,4	4737	24
47	51,0	17	11,4	40	62,3	4061	26
48	80,9	15	4,7	50	85,5	6179	24
49	69,0	15	73,3	29	142,3	6608	24
52	114,5	15	5,2	19	119,6	7215	23
54	125,5	15	21,9	19	147,4	7914	23

* Le début de l'exposition a lieu 15 jours après la germination des graines.

b) Temps depuis le début de l'exposition (jours)*	HTO	U	HT	U	Total (HT + HTO)	HTO	U
	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	%	Bq m ⁻³	Bq L ⁻¹	%
3	100,2	12	35,7	12	135,9	5829	19
6	151,8	12	30,0	17	181,9	8899	19
7	163,5	12	26,9	18	190,4	9726	19
11	96,0	12	9,0	29	105,0	5544	19
12	116,3	13	15,3	26	131,5	7883	20
13	130,3	13	20,7	21	151,0	8832	20
14	115,2	13	21,6	19	136,7	6469	19
17	152,4	12	16,9	14	169,3	7807	18
18	215,8	12	53,1	14	268,8	10424	18
19	204,8	12	43,6	15	248,4	9942	18
20	238,0	12	45,3	15	283,3	12791	18
24	186,6	12	25,3	14	211,9	10923	19
25	173,7	12	18,8	22	192,5	11333	19
26	170,5	12	41,3	15	211,8	14070	21
27	205,4	12	40,2	12	245,6	11656	19
28	116,5	12,0	16,1	13	132,6	9519	21
31	98,8	12	10,6	14	109,3	7970	21
32	86,6	13	14,1	27	100,7	7228	22
33	80,3	13	13,7	25	94,0	6675	22
34	99,1	13	19,8	21	119,0	8197	22
35	126,4	15	55,3	23	181,6	8979	22
39	73,0	12	6,5	18	79,6	5940	21
40	92,8	13	14,1	26	107,0	7760	21
41	54,1	15	7,5	47	61,6	4509	23
42	45,5	14	4,6	52	50,1	3840	22
45	43,8	12	4,4	24	48,2	3654	21
46	52,0	14	6,3	36	58,3	4802	21
47	46,5	14	7,3	36	53,7	3788	23
48	80,8	12	4,7	36	85,5	6180	21
49	50,8	12	6,3	27	57,1	4171	21
52	86,2	12	9,2	16	95,4	5845	20
54	79,9	12	14,2	16	94,1	5417	20

* Le début de l'exposition a lieu 15 jours après la germination des graines.

C.6 ACTIVITES DU TRITIUM ATMOSPHERIQUE (HT ET HTO) MESUREES DANS LA CHAMBRE CLIMATIQUE EN CONDITIONS ARTIFICIELLES DIURNES (A) ET DE NOCTURNES (B) LORS DE L'EXPERIENCE D'EXPOSITION CONTINUE AU TRITIUM ATMOSPHERIQUE EN CONDITIONS CLIMATIQUES CONTROLEES CLIM-3.

a) Temps depuis le début de l'exposition (jours)*	HTO Bq m⁻³	U %	HT Bq m⁻³	U %	Total (HT + HTO) Bq m⁻³	HTO Bq L⁻¹	U %
1	217	12	38	15	254	16315	16
2	111	12	12	22	123	7863	23
6	75	12	7	28	82	4747	28
7	63	12	6	26	69	3583	26
8	109	12	17	19	126	5910	19
9	96	12	7	23	104	5363	23
12	92	12	9	14	101	6504	15
13	54	13	4	42	59	3653	42
14	75	12	4	49	78	4715	49
15	9	22	4	42	13	552	42
16	442	12	12	17	454	25181	18
19	317	12	11	13	328	18224	14
20	276	12	15	16	291	17391	17
21	242	12	11	20	253	15950	21
22	2404	12	54	12	2458	155155	13
23	4492	12	264	12	4756	320691	13
26	3827	12	174	11	4001	306709	14
27	3387	12	99	12	3486	265651	14
28	3296	12	123	12	3419	265973	14

* Le début de l'exposition a lieu 40 jours après la germination des graines.

b) Temps depuis le début de l'exposition (jours)*	HTO Bq m⁻³	U %	HT Bq m⁻³	U %	Total (HT + HTO) Bq m⁻³	HTO Bq L⁻¹	U %
1	61	13	14	22	75	5104	22
2	70	14	12	29	83	5830	29
5	27	13	5	25	32	2122	25
6	44	14	7	36	51	3665	36
7	36	15	5	51	40	2875	51
8	55	13	17	20	72	3523	20
9	48	13	9	27	57	3799	27
12	53	12	9	16	62	4445	16
13	29	16	3	72	32	2818	72
14	43	14	3	72	46	4135	72
15	36	15	5	47	42	3357	47
16	291	12	17	17	308	24080	17
17	214	12	37	13	250	18359	14
20	135	12	14	19	149	12252	19
21	123	12	17	18	139	11574	18
22	1945	12	126	12	2071	176719	13
23	3026	12	765	11	3791	291827	12
26	1839	12	162	11	2001	182930	12
27	2031	12	234	12	2265	194287	13
28	2134	12	280	12	2414	199504	13

* Le début de l'exposition a lieu 40 jours après la germination des graines.

GLOSSAIRE



GLOSSAIRE

A

Acide désoxy-ribonucléique (ADN)

Molécule support de l'information génétique héréditaire qui renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme.

Acide ribonucléique (ARN)

Molécule dont la principale fonction est de transporter l'information génétique nécessaire à la synthèse des **protéines** de l'**ADN** vers les **ribosomes**.

Adénosine triphosphate (ATP)

Molécule utilisée par les organismes vivants pour fournir de l'énergie aux réactions chimiques.

Amidon

Polymère du glucose constitué de longues molécules linéaires ou ramifiées.

Annuelle

Se dit d'une plante qui vit moins d'un an, et qui accomplit donc son cycle de vie en une seule année.

Appareil de Golgi

Structure cellulaire pour fonction d'assembler et de transformer les chaînes glucidiques des glyco**protéines** formées dans le **réticulum endoplasmique**.

Astéracées

La famille des **Astéracées** (Asteraceae ou Composées) est une importante famille de plantes **dicotylédones** qui comprend près de 13 000 espèces, essentiellement **herbacées**, réparties en 1 500 genres. Les **Astéracées** ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales.

Autogame

Se dit d'un organisme biologique qui se reproduit par autofécondation.

B

Battance

En agriculture, en pédologie et dans l'étude des paysages, la **battance** est le caractère d'un sol tendant à se désagréger et à former une croûte en surface sous l'action de la pluie.

Becquerel (Bq)

Unité de mesure, légale et internationale, utilisée pour la **radioactivité**. Le **Becquerel** (Bq) est égal à une **désintégration** d'un noyau **radioactif** par seconde.

C

C3 / C4

Les plantes dites en « **C3** » incorporent le carbone uniquement par l'intermédiaire du **cycle de Calvin**. Le premier produit dans lequel le dioxyde de carbone est incorporé est dans ce cas le 3-phosphoglycérate (3-PGA), acide à 3 atomes de carbone, d'où la dénomination « **C3** ». Chez les plantes en **C4**, le premier produit carboné est un acide à 4 atomes de carbone (l'oxaloacétate).

Crassulacéen / CAM

Type métabolique photosynthétique rencontrés chez les plantes des climats chauds et arides, permettant la fixation nocturne du dioxyde de carbone.

Canopée

Etage supérieur du feuillage de la végétation.

Caulinaire

Qui appartient à la tige, qui en naît immédiatement.

Cellule

Unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant (à l'exception des virus). Chaque **cellule** est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière autonome, mais coordonnée avec les autres. Les **cellules** de même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes.

Chlorophylle

Principal **pigment** responsable de la capture de l'énergie lumineuse utilisée dans la photosynthèse.

Chloroplaste

Organites subcellulaires situés au niveau des feuilles des végétaux, dans lesquels se déroulent les réactions photosynthétiques.

Cotylédon

Feuilles embryonnaires constitutives de la graine. Les graines des plantes **monocotylédones** comportent un seul **cotylédon**; celles des **dicotylédones** en comportent deux.

Cuticule

Couche extérieure protectrice des feuilles.

Cycle circadien

Tous les êtres vivants sont soumis à des rythmes biologiques, c'est-à-dire à des phénomènes biologiques qui se répètent à intervalles réguliers dans le temps. Ce rythme est dit **circadien** quand sa période est d'environ 24 heures.

Cycle de Calvin

Cycle photosynthétique de réduction du carbone (CPR), ainsi dénommé en l'honneur de Melvin Calvin qui a dirigé les recherches qui ont mis en évidence cette voie métabolique.

Cycle tricarboxylique

Cycle intervenant dans la respiration, mettant en jeu une série de réactions conduisant à l'oxydation complète du pyruvate en eau et en dioxyde de carbone, également appelé cycle de l'acide citrique ou cycle de Krebs en l'honneur de Hans Krebs dont les recherches ont permis d'élucider ce processus métabolique.

Cytoplasme

Partie du **protoplasme** contenant les **organites** cellulaires à l'exception du **noyau**.

Cytosol

A l'intérieur d'une **cellule**, phase liquide dans laquelle baignent les **organites** cytoplasmiques.

Cytosquelette

Réseau tridimensionnel de **protéines** fibrillaires qui confère à la **cellule** l'essentiel de ses propriétés mécaniques. Il joue en outre un rôle vital dans le déterminisme de l'organisation et de la morphologie cellulaire, ainsi que dans sa division, sa croissance ou encore sa différenciation.

D

Degré.jour

Le **degré.jour** représente, pendant une journée, l'influence sur le développement d'une plante, d'un degré de température au dessus de son seuil de développement. Cette grandeur correspond schématiquement à la somme des températures moyennes enregistrées quotidiennement dans l'environnement de la plante.

Désintégration (radioactive)

Réduction progressive du nombre d'atomes instables (**radionucléides**) d'une substance causée par la **désintégration** spontanée des noyaux ou leur transformation en atomes différents, accompagnée de l'émission de particules et/ou de photons.

Dicotylédone

Les plantes **dicotylédones** présentent une plantule à deux feuilles embryonnaires (**cotylédons**), ce qui les différencie des plantes **monocotylédones** qui n'en présentent qu'un seul.

Diploïde

Une **cellule** biologique est **diploïde** lorsque les chromosomes qu'elle contient sont présents par paires ($2n$ chromosomes). Un organisme ou une partie d'organisme sont dits **diploïdes** lorsque ses **cellules** sont elles-mêmes **diploïdes**.

Dose absorbée

Quantité d'énergie $d\varepsilon$ délivrée en un point par les **radiations ionisantes** à la matière de masse dm . $D = d\varepsilon/dm$. Le nom spécial pour l'unité de **dose absorbée** est le **Gray** (Gy). Il correspond à 1 J.kg^{-1} (Belot et al., 1996).

Dose efficace

Somme des doses équivalentes pour chaque organe ou tissu de l'organisme pondérées par un facteur dépendant de la sensibilité aux **effets stochastiques** du tissu irradié, W_T . Son nom spécial est le sievert (Sv) (Belot et al., 1996).

Dose équivalente

Produit de la dose absorbée à l'organe D , par le facteur de pondération W_R attribué au rayonnement considéré. Son nom spécial est le sievert (Sv) (Belot et al., 1996).

Dose par Unité d'Incorporation (DPUI)

Dose équivalente ou **dose efficace** par Bq incorporé d'un **radionucléide** déterminé (Sv Bq^{-1})

E

Écosystème

En écologie, un **écosystème** désigne l'ensemble formé par une association ou communauté d'êtres vivants (ou biocénose) et son environnement (le biotope). Les éléments constituant un **écosystème** développent un réseau d'interdépendances permettant le maintien et le développement de la vie.

Écotoxicologie

Science qui étudie l'origine, l'émission et l'introduction de polluants naturels ou artificiels dans la biosphère, leur devenir et leurs actions sur les **écosystèmes**.

Émetteur β^-

La **radioactivité** bêta moins (β^-) affecte les nucléides présentant un excès de neutrons. Elle se manifeste par la transformation dans le noyau d'un neutron en proton, le phénomène s'accompagnant de l'émission d'un électron (ou particule bêta moins) et d'un antineutrino.

Épiderme

En botanique, tissu superficiel formant une couche continue à la surface de la plante. En anatomie, couche superficielle de la peau dont la surface est formée de **cellules** mortes kératinisées.

Épithélium

Tissu composé de cellules juxtaposées disposées en une ou plusieurs couches tapissant la surface externe et les cavités internes de l'organisme.

Eucaryote

Le domaine des **eucaryotes** regroupe tous les organismes compris dans quatre grands règnes du monde vivant (animaux, végétaux, champignons, protistes) caractérisés par des **cellules** possédant un **noyau** limité par une enveloppe.

Evapotranspiration

Phénomène de transport de l'eau depuis le sol vers l'atmosphère englobant l'évaporation au niveau du sol et la transpiration des végétaux.

F-G-H

Feuilles apicales

Feuille situées au sommet du végétal.

Glucide

Les **glucides** sont une classe de molécules organiques. Leur formule chimique est basée sur le modèle $C_n(H_2O)_p$. Les **glucides** constituent le principal intermédiaire biologique de stockage et de consommation d'énergie des êtres vivants.

Gray (Gy)

Unité du système international qui correspond à l'énergie transmise à la matière par unité de masse (joule par kg) lors de l'absorption d'une dose de **rayonnements ionisants**.

Herbacée

Se dit d'une plante dont le tissu végétal reste vert et peu consistant et qui ne développe pas de tige ligneuse permanente.

I-J-K

Indice foliaire

Surface de feuilles par unité de surface au sol.

Isotopes

Nucléides ayant le même nombre de protons au sein de leur noyau et de ce fait, le même numéro atomique, mais possédant un nombre de neutrons différents et donc une masse atomique différente.

L

Limbe

Structure typique en lame, formant les feuilles des végétaux.

Lipide

Les **lipides** sont les molécules organiques qui constituent la « matière grasse » des êtres vivants. Ils forment un ensemble de molécules aux structures et aux fonctions extrêmement variées dans le monde du vivant.

Lumen

Espace compris à l'intérieur des membranes internes (**thylacoïdes**) des **chloroplastes**.

M-N

Membrane plasmique

Membrane qui délimite une **cellule**, séparant le **cytoplasme** du milieu extérieur.

Méristème

Tissu biologique constitué de **cellules** indifférenciées (ou peu différenciées) formant une zone de croissance où ont lieu les divisions cellulaires (mitoses). Par leur division continue, les **méristèmes** fournissent de nouvelles **cellules** à la plante, alors que les **cellules** les plus âgées commencent à se différencier et à entamer leur maturation.

Mésophylle

Tissu parenchymateux constituant la plus grande partie de l'intérieur d'une feuille.

Mitochondries

Structures intracellulaires dont le rôle physiologique est de récupérer l'énergie contenue dans les molécules organiques et de la transformer en **ATP**.

Monocotylédone

Les plantes **monocotylédones** présentent une plantule à une seule feuille embryonnaire (**cotylédon**), ce qui les différencie des plantes **dicotylédones** qui en présentent deux.

Montaison

Processus physiologique au cours duquel une plante produit sa semence et monte en graine. La prémontaison est le stade physiologique de transition entre le stade végétatif et la **montaison** d'une plante.

Noyau cellulaire

Organite de la **cellule** contenant l'information génétique.

O

Organites ou plastes

Structures subcellulaires assurant une ou plusieurs fonctions biologiques particulières.

Ostiole

Ouverture des **stomates**, permettant les échanges gazeux entre la plante et l'atmosphère.

P

Parenchymes / cellules parenchymateuses

Tissus végétaux constitués de **cellules** vivantes, à **paroi** pecto-cellulosique mince, perforées de ponctuations, qui permettent des communications intercellulaires et une circulation des substances à l'intérieur des **cellules**. Ce sont essentiellement des **cellules** de remplissage.

Paroi cellulaire

Structure située à l'extérieur de la membrane cellulaire, qui apporte à la **cellule** maintien et protection. Elle prévient la perte ou l'absorption d'excès d'eau.

Période radioactive

La période radioactive, ou période d'un isotope radioactif, est le temps nécessaire pour que la moitié des atomes se désintègrent naturellement.

Pétiole

Pièce foliaire reliant le **limbe** des feuilles à la tige.

Phloème

Système conducteur constitué de tubes criblés. La principale fonction du **phloème** est le transport des photoassimilats vers les différents organes de la plante.

Photorespiration

La **photorespiration** est un processus métabolique des plantes qui correspond à la fixation de dioxygène sur le RuBP par la RubisCO à la place du dioxyde de carbone. Elle conduit à la production d'un intermédiaire qui sera recyclé et produira du CO₂. La **photorespiration** entraîne la destruction d'une partie de la matière organique fixée par photosynthèse.

Photosystème

Ensemble formé par des **protéines** et des **pigments** (dont la **chlorophylle**), qui se trouve dans les membranes thylakoïdales des **chloroplastes** des **cellules** végétales. Les **photosystèmes** interviennent dans les mécanismes de la photosynthèse en absorbant les photons de la lumière.

Pigment

Substance naturelle ou artificielle, colorée du fait de l'absorption caractéristique d'une partie du spectre de la lumière. Les **pigments** jouant un rôle dans les processus physiologiques sont appelés photorécepteurs.

Pseudogley

Sol à engorgement temporaire de nappe perchée superficielle (fréquent sur les terrasses alluviales anciennes), caractérisé par des teintes gris à beige, avec de nombreuses taches rouilles ou rouges.

Protéine

Une **protéine** est une macromolécule biologique composée par une ou plusieurs chaîne(s) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Les **protéines** sont définies par une structure primaire (leur séquence en acides aminés), une structure secondaire (enroulements ou repliements de certains segments de cette chaîne par le biais de liaisons hydrogènes), une structure tertiaire (contorsions irrégulières de la chaîne via des liaisons hydrogènes, ioniques, des ponts disulfures ou encore des effets hydrophobes) et enfin, une structure quaternaire (appariement possible de plusieurs sous-unités polypeptidiques pour former une **protéine** fonctionnelle). L'immense majorité des fonctions cellulaires est assurée par des **protéines**, ce qui en fait des éléments essentiels de la vie.

Protoplasme

Contenu d'une **cellule** vivante comprenant le **cytoplasme** et le **noyau**.

Q-R

Quenching

Ensemble des phénomènes physico-chimiques de nature à diminuer l'efficacité lumineuse du scintillateur lors de la mesure d'activité tritium réalisée par un compteur à scintillation liquide.

Radiations ionisantes/ rayonnements ionisants

Rayonnements électromagnétiques ou particuliers possédant une énergie associée suffisante pour créer des ions dans la matière qu'ils traversent, en ajoutant ou en arrachant un électron à une molécule, ou encore en coupant la molécule en deux.

Radioactivité / radioactif

Propriété de certains éléments chimiques dont les noyaux se désintègrent spontanément pour former d'autres éléments en émettant des **rayonnements ionisants**.

Radionucléide

Isotope à noyau instable dont la **désintégration** est accompagnée de l'émission d'un rayonnement électromagnétique.

Rayonnement beta moins (β^-)

La **radioactivité** bêta moins (β^-) affecte les nucléides présentant un excès de neutrons. Elle se manifeste par la transformation dans le noyau d'un neutron en proton, le phénomène s'accompagnant de l'émission d'un électron (ou particule bêta moins) et d'un antineutrino électronique.

Rendzine

Sol typique des roches calcaires friables, à profil généralement peu profond et humifère.

Réticulum endoplasmique

Structure cellulaire impliquée dans la biosynthèse des **lipides** et des **protéines**.

Ribosomes

Organites chargés de décoder l'information contenue dans l'**ARN** pour la synthèse des **protéines**.

Rosette

Ensemble de feuilles étalées en cercle à partir du collet de la plante.

S

SODAR Doppler

Le **SODAR (SONic Detection And Ranging)** est un instrument météorologique de sondage acoustique utilisé pour mesurer, notamment, les vitesses des panaches atmosphériques. Cet appareil permet d'envoyer une onde acoustique de forte intensité et de fréquence déterminée dans l'atmosphère. Le signal réfléchi par les basses couches atmosphériques étant d'une fréquence légèrement différente à celle de l'onde directe, l'écart de fréquence (ou signal Doppler) permet d'estimer les vitesses des vents.

Sol brun

Les sols bruns (ou brunisols) sont la forme classique de sol évolué que l'on rencontre sous forêt feuillue en zone tempérée.

Stochastique (effets stochastiques)

Par opposition aux effets dits déterministes, les effets **stochastiques** n'apparaissent pas selon le principe d'une cause qui induit toujours le même effet. Ils concernent par exemple les effets de faibles doses de toxiques, ou les effets des rayonnements ionisants néfastes à la santé.

Stomate

Pores microscopiques présents sur l'**épiderme** des feuilles des végétaux. Les **stomates** régulent les échanges gazeux entre la plante et l'atmosphère, notamment l'entrée de dioxyde de carbone nécessaire à la photosynthèse, et la diffusion de la vapeur d'eau.

Stroma

Matrice fondamentale non structurée des **chloroplastes** dans laquelle se déroulent les réactions de réduction du carbone.

T

Thalle

Appareil végétatif ne possédant ni feuilles, ni tiges, ni racines, produit par certains organismes non-mobiles (végétaux, champignons, lichens, algues).

Thylacoïdes

Système de membranes internes très structurées des **chloroplastes**, siège des réactions de conversion de l'énergie.

Tritium Organiquement Lié Echangeable (TOL-E ou OBT-E)

Tritium présent dans les molécules organiques où il s'est substitué à l'hydrogène dans les radicaux typiques (-OH, -SH, =NH, ...). Les atomes de tritium de la fraction organique échangeable sont très labiles (liaisons covalentes faibles) et susceptibles d'être extraits par simple échange isotopique.

Tritium Organiquement Lié Non-Echangeable (TOL-NE ou OBT-NE)

Tritium directement lié aux atomes de carbone dans les molécules organiques. L'extraction de la fraction de tritium organique en position non échangeable requiert la cassure des liaisons carbone-hydrogène (liaisons covalentes fortes) par combustion.

U-V-W

Vacuole

Cavité remplie de fluide dans les **cellules** végétales dont la fonction est d'emmagasiner les éléments nutritifs et l'eau.

Vasculaire

Se dit d'une plante dont les caractères principaux sont l'existence de racines et la présence de vaisseaux (**xylème** et **phloème**) assurant la circulation de la sève.

X-Y-Z

Xylème

Système tubulaire comprenant des vaisseaux et des trachéides. Le **xylème** permet l'ascension de l'eau, c'est-à-dire sa conduction depuis l'absorption au niveau des racines jusqu'à la transpiration dans les parties aériennes.

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES



COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Publications scientifiques

Boyer C., Vichot L., Fromm M., Losset Y., Tatin-Froux F., Guétat P., Badot P.M., Tritium in plants: a review of the current knowledge, *Environmental and Experimental Botany* Volume 67, Issue 1, Novembre 2009, Pages 34-51.

Boyer C., Vichot L., Boissieux T., Losset Y., Mavon C., Tatin-Froux F., Fromm M., Badot P.M., Variations of conversion rate from tissue free water tritium to organically-bound tritium in lettuces continuously exposed to atmospheric HT and HTO, *Radioprotection*, Volume 44, issue 5, May 2009, Pages 671-676.

Vichot L., Boyer C., Boissieux T., Losset Y., Pierrat D., Organically bound tritium (OBT) for various plants in the vicinity of a continuous atmospheric tritium release, *Journal of Environmental Radioactivity*, Volume 99, Issue 10, October 2008, Pages 1636-1643.

Vichot L., Boyer C., Boissieux T., Losset Y., Pierrat D., Organically-bound tritium in the environment: first investigation of environmental survey in the vicinity of a French research centre, *Fusion Science and Technology*, Volume 54, Issue 1, July 2008, Pages 253-256.

Communications lors de colloques

Boyer C., Guétat P., Fromm M., Vichot L., Losset Y., Tatin-Froux F., Mavon C., Badot P.M., Etude du transfert du tritium aux végétaux via les ratios OBT/HTO et OBT/TFWT (communication orale), *Journées Tritium de la SFRP*, 23-24 septembre 2009, Paris (France).

Boyer C., Losset Y., Baudin R., Vichot L., Tatin-Froux F., Mavon C., Guétat P., Fromm M., Badot P.M., Cinétiques d'absorption du tritium au sein de laitues exposées à une atmosphère tritiée à court terme (communication orale), *SFRP 2009 : Congrès National de Radioprotection*, 16-18 juin 2009, Angers (France) et *Forum des Jeunes Chercheurs*, 25-26 juin 2009, Dijon (France).

Boyer C., Vichot L., Boissieux T., Losset Y., Mavon C., Tatin-Froux F., Fromm M., Badot P.M., Variations of conversion rate from tissue free water tritium to organically-bound tritium in lettuces continuously exposed to atmospheric HT and HTO (oral poster), *International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity*, 15-20 juin 2008, Bergen (Norvège) et *Forum des Jeunes Chercheurs*, 12-13 juin 2008, Besançon (France).

Vichot L., Boyer C., Boissieux T., Losset Y., Pierrat D., Organically-bound tritium in the environment: first investigation of environmental survey in the vicinity of a French research centre (poster), *8th International Conference on Tritium Science and Technology*, 16-21 septembre 2007, Rochester (USA).

Boyer C., Boissieux T., Losset Y., Pierrat D., Vichot L., Comportement et voies de transfert du tritium organique dans les systèmes biologiques : impact sur l'environnement du site de Valduc (poster), *Forum des Jeunes Chercheurs*, 14-15 juin 2007, Dijon (France).

RESUME

Ce travail de thèse a concerné l'étude des phénomènes d'absorption et d'incorporation sous forme organique du tritium dans un végétal de consommation courante, la laitue (*Lactuca sativa* L.), en réponse à une exposition atmosphérique. Il apparaît que la voie foliaire joue un rôle primordial dans l'absorption du tritium au sein de l'eau tissulaire des plants. Quels que soient le stade de développement des plants et les conditions d'éclairement, le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre des concentrations dans l'eau libre et dans la vapeur d'eau de l'air est de plusieurs heures ; le rapport des concentrations est alors de l'ordre de 0,4. Dans le sol, le temps de mise à l'équilibre dépasse généralement 24 heures ; le rapport des concentrations à l'état stationnaire est compris entre 0,01 et 0,26. Le taux d'incorporation du tritium de l'eau tissulaire sous forme organique est de l'ordre de 0,13 à 0,16 % h⁻¹ en moyenne sur la durée de vie entière de la plante. Cependant, l'incorporation de l'OBT dépend fortement du stade de développement du végétal. La période de plus forte intégration du tritium sous forme organique correspond à la phase de croissance exponentielle des végétaux. Le dépôt et la diffusion du tritium dans le sol entraînent des activités significatives dans la fraction organique du sol. Les résultats obtenus vont globalement dans le sens d'une mise à l'équilibre des concentrations du tritium dans le végétal (eau libre et tritium organique) avec celles de l'environnement (atmosphère, sol). Certaines expériences ont néanmoins révélé des activités OBT anormalement élevées dans les laitues au regard des niveaux d'exposition et posent la question d'un possible phénomène d'accumulation locale du tritium dans la matière organique pour des conditions particulières d'exposition.

Mots-clés : *Lactuca sativa* L., tritium, tritium organiquement lié, absorption, incorporation, modèle, cinétique

ABSTRACT

This thesis has explored the mechanisms of tritium absorption and incorporation in a human-consumed plant, lettuce (*Lactuca sativa* L.), due to atmospheric exposure. Foliar uptake appears to play a key role in absorption of tritium as tissue free water tritium. Whatever the development stage and the light conditions, the specific activity in tissue free water reaches that of water vapour in air in several hours. The specific activity ratio is then about 0,4. The time to reach equilibrium in soil is over 24 hours in most cases: the specific activity ratio ranges then 0,01 to 0,26. Incorporation rate of tissue free water tritium as organically-bound tritium has been estimated to 0,13 to 0,16 % h⁻¹ in average over the growing period of the plant, but marked variations are observed during growth. In particular, a significant increase appeared at the exponential growth stage. Deposition and diffusion of tritium in soil lead to significant OBT activities in soil. Results globally indicate equilibrium between the different environmental compartments (air, soil, plant). However, some experiments have revealed high OBT concentrations regarding atmospheric level exposure and ask for a possible phenomenon of local tritium accumulation in OBT for particular conditions of exposure.

Key words : *Lactuca sativa* L., tritium, organically-bound tritium, absorption, incorporation, model, kinetics