

**RECHERCHE DE TRITIUM ORGANIQUEMENT LIE DANS LES
LICHENS DES ENVIRONS DE VALDUC**

**PRELEVEMENTS : SEPTEMBRE 2000
RAPPORT : MARS 2001**

**Etude réalisée par l'Observatoire Mycologique pour la Structure
d'Echange et d'Information sur Valduc (SEIVA)**

Olivier DAILLANT, Gilbert PIGREE, Cécile GUEIDAN et Laurent JACQUIOT

Observatoire Mycologique - Néronde - F. 71 250 MAZILLE

RESUME

Dans le cadre des études de radioactivité menées chaque année par la SEIVA aux alentours du site de Valduc, des lichens ont été prélevés à l'automne 2000 en vue d'analyses de tritium organiquement lié. Un total de 14 échantillons d'espèces colonisant des écorces ou des murets ont été prélevés, auxquels s'ajoutent un échantillon de 1997 et deux témoins prélevés hors zone.

L'idée était d'avoir des échantillons biologiques qui n'exploitent que l'eau de l'atmosphère (pluie ou vapeur d'eau), à l'exclusion de l'eau du sol. Les lichens ayant un développement extrêmement lent, ils gardent longtemps en mémoire des contaminations passées ; de plus une datation par grande tranches des dépôts de tritium était envisagée.

Les résultats sur les échantillons proche du Centre sont élevés (l'ordre de grandeur est le millier de becquerels par kilogramme de lichen sec alors que les valeurs hors zone contaminée oscillent entre 1 et 2 Bq/kg) et le marquage en tritium s'étend au moins jusqu'à Grancey-le-Château, bien que les niveaux y soient moindres.

L'exploitation des résultats permet de déduire le niveau d'activité minimum de l'eau de pluie ou de la vapeur d'eau auxquels les lichens ont été exposés. Les contaminations les plus fortes semblent relativement anciennes mais touchaient sans doute d'autres organismes à l'époque.

Un certain nombre de recommandations sont formulées : une étude dendrochronologique pour préciser la datation, une extension géographique des prélèvements de lichens et l'étude de lichens à algues bleues (cyanobactéries), n'exploitant pas la vapeur d'eau, afin de distinguer les vecteurs de contamination (pluie ou vapeur atmosphérique).

1. INTRODUCTION	p. 3
2. RAPPELS ET GENERALITES	p. 3
2.1. Generalités sur les lichens	
2.2. Lichens et bio-indication	
2.3. Bio-indication lichénique en Côte d'Or	
2.4. Le site de Valduc	
2.5. Eléments de bibliographie	
3. METHODES	p. 5
3.1. Protocole de prélèvement	
3.2. Stations et espèces prélevées	
3.3. Conditionnement de l'échantillon	
3.4. Le laboratoire	
3.5. Analyse des échantillons	
4. RESULTATS	p. 7
4.1. Analyses comparatives	
4.2. Résultats de la campagne 2000 autour de Valduc	
5. DISCUSSION	p. 8
5.1. Question du tritium échangeable	
5.2. Tritium moléculaire, vapeur d'eau tritiée et pluie tritiée	
5.3. Concentrations dans l'eau et assimilation par les lichens	
5.4. Spécificités des lichens	
5.5. Oxydation du tritium moléculaire	
5.6. Etenue géographique des retombées tritiées	
5.7. Aspects historiques	
5.8. Hypothèses "maximalistes" et "minimalistes"	
5.9. Autres végétaux	
6. CONCLUSION ET PROPOSITIONS	p.12
7. REFERENCES	p.13

Annexe 1: Lichens et photosynthèse ; Annexe 2: Fiche tritium ; Annexe 3 : Cartte

1. INTRODUCTION

La SEIVA fait procéder chaque année à un certain nombre d'analyses sur des échantillons de l'environnement de Valduc. Différents laboratoires et administrations officiels ainsi que des organismes indépendants sont régulièrement appelés à participer à ce type de travail. En 2000 l'Observatoire Mycologique a été chargé de réaliser les prélèvements de lichens, de les conditionner et de contacter un laboratoire où des analyses de tritium organiquement lié pouvaient être réalisées de façon fiable ; les considérations ayant abouti au choix des lichens comme indicateurs biologiques relèvent essentiellement de la facilité relative des prélèvements ; leur développement est lent et long et, par la datation de leur support, ils offrent une possibilité de datation par tranches, quoique moins précise que la dendrochronologie. La convention prévoyait aussi l'évaluation des résultats, objet du présent compte-rendu.

2. RAPPELS ET GENERALITES

2.1. Generalités sur les lichens

Un lichen est un organisme résultant de l'association symbiotique d'un champignon (l'élément dominant), le plus souvent un ascomycète et d'une algue: une algue verte (chlorophycée) ou une algue bleue (actuellement appelée cyanobactérie). Cette symbiose donne lieu à un organisme complexe différent de ses éléments constituants, appelé **thalle**. Chez quelques espèces, il arrive qu'un lichen à algues vertes intègre une colonie de cyanobactéries, formant un hyménée à trois.

La composante algale (5 à 10% de la masse) réalise la photosynthèse et transmet les sucres synthésés au champignon (voir annexe 1: lichens et photosynthèse). Ce dernier offre une structure de protection et de fixation au substrat. Le champignon est l'élément dominant et la nomenclature est basée sur ce dernier.

Le thalle peut être **fruticuleux** s'il se développe en forme de buisson, de corail, de barbe ou de coupe. Lorsqu'il est aplati mais séparable du substrat, il est dit **foliacé** et, lorsqu'il forme corps avec celui-ci, il est **crustacé**. Il existe également des lichens **endolithiques**, attaquant la pierre et des lichens **gélatineux**, se desséchant ou se gonflant en masse gélatineuses selon le rythme des pluies.

Ce sont des organismes primitifs et pionniers qui ont été l'un des moyens permettant aux algues de sortir de la mer et de conquérir la surface terrestre. Les lichens sont en effet en mesure de coloniser des substrats inhospitaliers comme les surfaces rocheuses. Ils peuvent aussi résister à des conditions extrêmes de froid ou de chaleur, à des rayonnements intenses ou à des périodes prolongées de sécheresse.

2.2. Lichens et bio-indication

La résistance des lichens ne vaut pas pour tous les environnements et ils sont extrêmement sensibles à certaines substances qui se trouvent souvent être des polluants atmosphériques. Cette sensibilité s'explique entre autre par l'absence de barrière entre la surface du lichen et l'air ambiant (pas de cuticule).

Au XIX^e siècle la raréfaction des lichens a été constatée dans les centres des grandes villes et au début du siècle dernier est née l'idée de les utiliser pour appréhender la pollution atmosphérique. Différentes méthodes ont été développées pour l'estimation de la pollution acide par le SO₂ d'abord, puis des dépôts azotés ou pour l'observation de la biodiversité.

Cette sensibilité ne s'étend cependant pas à tous les polluants et les lichens peuvent par exemple incorporer et accumuler de façon parfois spectaculaire certains métaux lourds ou certains éléments radioactifs : s'ils sont sensibles à certaines formes chimiques du cuivre, ils peuvent présenter dans des sites pollués des teneurs en plomb dépassant le gramme par kilogramme (de lichen sec). Des lichens peuvent alors être échantillonnés dans des conditions bien précises et analysés dans des laboratoires spécialisés. On parle alors de l'étude de la **bio-accumulation**.

2.3. Bio-indication lichénique en Côte d'Or

Un certain nombre d'études sur la qualité globale de l'air par les lichens ont été réalisées :

- en 1997 à Dijon (Michel et Daillant), à la demande du Museum d'Histoire Naturelle de la Ville de Dijon.
- en 1998 (Joyeux et Daillant) et en 1999 (Paris, Pognat et Daillant) à la demande de la DDASS de la Côte d'Or.

Toutes ces études avaient un volet portant sur les observations floristiques et un volet portant sur la bio-accumulation des métaux lourds et des éléments radioactifs. En marge de l'une de ces études, un échantillon prélevé près de Moloy a fait l'objet d'une analyse expérimentale de tritium organiquement lié (voir plus loin).

2.4. Le site de Valduc

Le Centre d'Etudes Nucléaires du CEA, créé en 1958, se situe sur un plateau boisé à environ 500 mètres d'altitude, sur la commune de Salives à environ 35 kilomètres au nord-ouest de Dijon. Des relevés météorologiques y sont pratiqués et permettent de se rendre compte que la rose des vents est comparable à celle de la station de Météo-France de Châtillon-sur-Seine (Atlas climatique de la Côte-d'Or, 1994). D'après les relevés de cette dernière, les vents dominants sont de sud-ouest et accessoirement de nord-nord-est. Les vents d'est sont très peu représentés et la fréquence des vents inférieurs à 2 mètres par seconde ("absence de vent") est de 33%.

La limite annuelle de rejets atmosphériques de tritium a été fixée depuis 1995 à 1850 térabecquerels (soit 50 000 curies: 1 curie = 37 milliards de becquerels). Le n° 3 de juin 1997 du Bulletin de la SEIVA *Savoir et comprendre* fait état des bilans des rejets gazeux entre 1986 et 1996, tels que communiqués par le CEA (données lues à partir du graphique) :

1400 térabecquerels en 1986
2300 térabecquerels en 1987
± 1000 tBq entre 1988 et 1995 avec un niveau plus bas d'environ 700 tBq en 1992.

En 1996 la baisse amorcée en 1995 s'est confirmée avec 600 térabecquerels, soit environ 30% du niveau autorisé. L'objectif alors annoncé par le CEA était une réduction de moitié sur 5 ans, ce qui aurait abouti en 2000 à des rejets d'environ 300 tBq, soit 15% du niveau autorisé. D'après les chiffres communiqués par le CEA, la baisse a même été plus importante:

313 tBq en 1997
324 tBq en 1998
267 tBq en 1999
241 tBq en 2000

A titre de comparaison, l'activité rejetée en 2000 représente un peu moins de 1 % de la production annuelle naturelle dans l'hémisphère Nord ($3,6 \cdot 10^{16}$ Bq)

Autre ordre de grandeur : en 1999 les usines de retraitement de COGEMA-la Hague ont rejeté 80 tBq de tritium dans l'atmosphère.

Il faut néanmoins préciser que le site de Valduc est en diminution alors que celui de la Hague est en augmentation constante depuis 1986.

2.5. Eléments bibliographiques

Concernant les végétaux dans leur ensemble, Belot (1986) a fait une revue bibliographique permettant de se faire une idée de ce qui existait à l'époque et de retenir qu'il n'y a pas d'accumulation de tritium dans les tissus et que la discrimination isotopique, lorsqu'elle est mise en évidence, ne porte que sur quelques pourcents.

Trois articles traitent de la question du tritium organiquement lié dans les lichens ; il s'agit dans les trois cas d'expériences de laboratoire :

- En 1979, Cowan et al., (A) ont publié un article sur l'utilisation d'eau tritiée pour l'étude du métabolisme anhydrobiotique (en "dormance"). Il ressort de cette étude que l'équilibre entre le tritium de l'eau de l'humidité de l'environnement du lichen et le tritium organiquement lié (tout au moins sa fraction échangeable) est atteint au bout de 5 jours. Cet article rend aussi compte de la part de tritium fixé dans les substances lichéniques insolubles, solubles dans l'eau, le méthanol et différents autres solvants. Des techniques de chromatographie sur papier et sur couche mince avec analyse des taches ont été effectuées.

- Ces mêmes auteurs (Cowan et al. 1979, B) ont publié une suite à ce travail en comparant le métabolisme des lichens à la lumière et dans l'obscurité, en utilisant le tritium et le carbone 14. Il s'agit essentiellement d'une étude sur la synthèse des substances lichéniques, dont nous retiendrons néanmoins que l'incorporation de HTO dans l'obscurité, donc par des voies non photosynthétiques, correspond à de 4,1% à 8,2 % du HTO incorporé à la lumière.

- En 1989, Ichimasa et al. publient un travail sur l'oxydation par les lichens du tritium présent dans l'atmosphère sous forme moléculaire. Les détails en sont présentés dans le paragraphe 5.5.

Ces deux articles abordent des questions qui pourraient s'avérer intéressantes dans un approfondissement de l'étude mais qui, pour l'instant, dépassent l'horizon du présent travail.

3. METHODES

3.1. Protocole de prélèvement

Les lichens utilisés lors de la présente recherche étaient tous des lichens à algues vertes, foliacés ou fruticuleux ("buissonnants"). Ils ont été choisis parmi les espèces les plus répandues; ils devaient être présents de façon abondante afin de constituer deux sous-échantillons de plusieurs grammes chacun (si possible 10 g de matière sèche). Dans la mesure du possible, le support devait être datable (arbres, tuiles) et les lichens terricoles ont été exclus.

Les prélèvements ont été pratiqués pour la plupart par temps humide et les thalles ont été décollés tels quels de leur substrat. Lorsqu'il a été nécessaire d'humecter les thalles, une eau de référence fournie par le CEA a été utilisée.

3.2. Stations et espèces prélevées

Le descriptif des stations et espèces figure sur le tableau 1 ci-dessous ; celles-ci figurent également sur la carte en annexe.

n°	Lieu	Espèce	Type de substrat	Age présumé (en années)
1	Etang de Valduc	<i>Evernia prunastri</i>	Erable et noisetier	10 à 15
2		<i>Evernia prunastri</i>	Erable et frêne	> 40
4		<i>Ramalina farinacea</i>		"jeune"
6		<i>Ramalina farinacea</i>		> 40
7		<i>Parmelia sulcata</i>		> 40
3	Salives: route de Moley	<i>Evernia prunastri</i>	Verger	> 40
5	Sortie de Salives	<i>Parmelia sulcata</i>	Frenes	± 30
8	Salives: Fontaine et calvaire	<i>Xanthoria parietina</i>	Tuiles d'un muret	8 à 10
10	Grancey le Château	<i>Ramalina sp.</i>	Noyer et prunelier	± jeune
11	Grancey le Château	<i>Parmelia sulcata</i>	Erables	> 50
12	Grancey le Château	<i>Xanthoria parietina</i>	Charmes	< 10
9	Combe de Moley	<i>Parmelia caperata</i>	Milieu forestier	> 60
13	Moley, Monument aux Morts	<i>Parmelia sulcata</i>	tilleuls, hêtre pourpre, chêne	10 à 12
14	Moley, Pont du Moulin	<i>Parmelia sulcata</i>	tilleuls, érable, frêne	> 40

Tableau 1: Lieux de prélèvement et remarques

3.3. Conditionnement de l'échantillon

Les échantillons ont été placés dans des sachets en plastique et conservés à l'obscurité, afin d'éviter une conversion éventuelle d'eau tritiée en tritium organiquement lié. Ensuite, ils ont été séchés un par un sur un exsiccateur (un tamis placé au-dessus d'une source de chaleur de 150 watts) puis reconditionnés dans des sachets neufs, après avoir été divisés en deux moitiés : l'une pour le laboratoire allemand choisi par la SEIVA, l'autre pour le CEA.

3.4. Le laboratoire

Le laboratoire retenu est :

ISOTOPENLABORATORIUM

Georg-August-Universität Göttingen - Burckhardtweg, 2

D. 37 077 GÖTTINGEN

Responsable : Prof. J. PORSTENDÖRFER

Ce laboratoire disposait déjà d'une expérience en matière d'analyses de tritium organiquement lié en dendrochronologie et présentait de bons résultats lors d'analyses comparatives inter-laboratoires (documents communiqués à la SEIVA).

De son côté, le CEA a fait procéder aux analyses de lichens en parallèle.

3.5. Analyse des échantillons

A l'arrivée au laboratoire, les lichens ont été trempés dans l'eau de référence fournie par le CEA pendant 12 heures environ. On entend par eau de référence une eau à très faible niveau de tritium; cette opération était destinée à réduire à un niveau aussi bas que possible la fraction facilement échangeable du tritium ("tritium labile") Ils ont ensuite été déshydratés à l'étuve à 60°, en les répartissant par groupes, les échantillons supposés peu contaminés passant avant les échantillons supposés plus contaminés.

Les échantillons ont alors été soumis à une combustion contrôlée dans un four avec récupération de l'eau de combustion. Cette eau a ensuite été analysée par scintillation liquide.

NB : Le protocole détaillé, signé par la SEIVA et le CEA, est disponible auprès de la SEIVA.

4. RESULTATS

4.1. Analyses comparatives

Au vu des résultats élevés obtenus en 2000 et de manière à disposer d'informations sur les niveaux observables en l'absence de contributions industrielles, deux échantillons de lichens supplémentaires ont été envoyés à notre initiative au laboratoire de Göttingen : il s'agit de lichens prélevés loin de toute source supposée de contamination; voici les résultats:

Xanthoria parietina (Digoin, Saône-et-Loire, 1999) : 2,19 ± 0,22 Bq/kg (matière sèche)
Parmelia sulcata (St Brisson, Morvan, 1998) : 1,48 ± 0,22 Bq/kg "

Un échantillon de *Parmelia caperata* avait été prélevé dans la combe de Moley en 1997 : son analyse a mis en évidence une activité de 125,6 Bq/kg de matière sèche.

4.2. Résultats de la campagne 2000 autour de Valduc

Nous nous basons dans cette présentation sur les résultats du laboratoire allemand avec lequel nous avons traité. A une ou deux exceptions près, les résultats obtenus pour un même échantillon par les différents laboratoires s'inscrivent dans un même ordre de grandeur. Les écarts constatés, habituels lors de ce type d'intercomparaison, peuvent s'expliquer par le fait que les échantillons n'étaient pas strictement identiques, bien qu'ils appartiennent à la même espèce et à la même station.

Les résultats figurent sur le tableau 2 ci-après :

n°	Lieu	Espèce	Activité Bq/kg (sec)	±	Age présumé (en années)
1	Etang de Valduc	<i>Evernia prunastri</i>	4219	±16	10 à 15
2		<i>Evernia prunastri</i>	3896	±14	> 40
4		<i>Ramalina farinacea</i>	3982	±16	"jeune"
6		<i>Ramalina farinacea</i>	1515	±13	> 40
7		<i>Parmelia sulcata</i>	3136	±16	> 40
3	Salives: route de Moley	<i>Evernia prunastri</i>	2185	±13	> 40
5	Sortie de Salives	<i>Parmelia sulcata</i>	274	±3	± 30
8	Salives: Fontaine et calvaire	<i>Xanthoria parietina</i>	471	±5	8 à 10
10	Grancey le Château	<i>Ramalina sp.</i>	71	±1	± jeune
11		<i>Parmelia sulcata</i>	51	±2	> 50
12		<i>Xanthoria parietina</i>	16	±1	< 10
9	Combe de Moley	<i>Parmelia caperata</i>	67	±2	> 60
13	Moley, Monument aux Morts	<i>Parmelia sulcata</i>	69	±3	10 à 12
14	Moley, Pont du Moulin	<i>Parmelia sulcata</i>	70	±2	> 40

Tableau 2 : Résultats exprimés en becquerels par kilogramme de matière sèche ; la marge d'erreur ne porte que sur l'incertitude statistique du comptage.

Il est possible de distinguer plusieurs zones en fonction des activités mesurées :

- une zone, proche du centre, où la contamination des lichens a pour ordre de grandeur le millier de becquerels par kilogramme de matière sèche et la dizaine de milliers de becquerels par litre d'eau de combustion (voir tableau 3). Cette zone s'étend sous le vent, pour un lichen "vieux" à Salives.
- Dans cette zone rapprochée sous le vent la contamination des autres échantillons (plus jeunes) a pour ordre de grandeur la centaine de Bq/kg.
- Une zone proche du Centre mais au Sud et à l'Est, où la contamination tourne autour de 70 Bq/kg (échantillons 9, 13 et 14).
- Une zone sous le vent plus lointaine (environ 25 km) où la contamination reste sensible, bien que plus modérée pour l'échantillon dont l'âge estimé est inférieur à 10 ans (échantillons 10, 11 et 12).

5. DISCUSSION

5.1. Question du tritium échangeable

Lors des échanges de lettres qui ont précédé cette campagne d'analyses, le CEA semblait préoccupé de l'influence qu'aurait pu avoir le tritium facilement échangeable sur la fiabilité des résultats (correspondance CEA, 17/08/2000). En effet n'est considéré comme non-échangeable que le tritium lié aux atomes de carbone, alors que les atomes de tritium liés à d'autres éléments sont considérés comme plus ou moins facilement échangeables.

Les lichens contiennent des éléments minéraux en quantités non négligeables : éléments traces, fer à raison d'environ 1 g/kg, potassium en quantités variables, azote à raison de 1 à 2%... Les molécules des photosynthétats comptent aussi de nombreuses liaisons O - H (6 pour le mannitol, qui a aussi 8 atomes d'hydrogène directement liés au carbone).

Le tritium dont les teneurs sont relatées ici n'est que celui lié aux atomes de carbone. Le tritium échangeable était certes présent lors des retombées; si les niveaux actuels dans l'atmosphère sont bas, il a suivi sa vocation et est entré en équilibre avec la teneur en tritium de l'environnement, disparaissant avant le traitement de l'échantillon.

Bien que l'opération n'était pas aisée du fait d'un début de prolifération algale, le laboratoire a procédé à des analyses sur l'eau de référence avant et après les premières macérations de lichens, sans déceler de différence notable ; c'est néanmoins à cette occasion qu'il a été possible de se rendre compte que cette eau était fortement contaminée en radioactivité alpha, peut-être due au radon.

5.2. Tritium moléculaire, vapeur d'eau tritiée et pluie tritiée

Le tritium rejeté dans l'environnement par le Centre de Valduc l'est soit sous forme de vapeur d'eau tritiée (HTO), soit sous forme d'hydrogène moléculaire (HT). Ce dernier réagit tôt ou tard avec l'oxygène pour former HTO.

Seul le tritium dans sa forme HTO est incorporé lors de la photosynthèse. Il peut provenir de l'eau de pluie mais aussi, dans le cas des lichens prélevés, de la vapeur d'eau présente dans l'air. Des analyses de lichens à cyanobactéries, tributaires d'un apport d'eau liquide, pourraient permettre de discriminer les vecteurs de contaminations.

5.3. Concentrations dans l'eau et assimilation par les lichens

Que le vecteur de contamination soit l'eau à l'état de vapeur ou l'eau de pluie, le lichen ne concentre pas plus le tritium qu'un autre végétal. Seule une discrimination de quelques pourcents peut avoir lieu dans les végétaux vasculaires (voir Mac Farlane, 1976), mais les barrières étant moindres chez les lichens, nous nous baserons sur une discrimination zéro des atomes d'hydrogène. La proportion de tritium assimilée par photosynthèse (ou par métabolisme nocturne, très minoritaire, voir Cowan et al. 1979,B) correspond donc à la proportion de tritium dans l'eau de pluie (ou la vapeur d'eau). Sous réserve de la perte de la fraction échangeable du tritium (voir plus haut) l'activité en tritium de l'eau de combustion de l'échantillon rend compte de l'activité moyenne de l'humidité de l'atmosphère dans l'environnement des lichens au cours de leur croissance. L'âge présumé des lichens s'étendant de quelques années à quelques dizaines d'années, il y a lieu de tenir compte au moins de la perte par décroissance physique du tritium lié à la matière organique. Les concentrations moyennes en tritium de l'humidité de l'atmosphère qui pourraient être déduites dans le cadre des présentes mesures constituent des valeurs minimales. Ces valeurs figurent sur le tableau 3.

En moyenne, l'eau de combustion représente entre 25 et 45% de la masse du lichen, de telle sorte qu'un lichen présentant une activité en tritium organiquement lié de 250 à 450 Bq/kg, a été durablement exposé à de la pluie ou de la vapeur d'eau ayant une activité de 1000 Bq/l au moins.

n°	Lieu	Espèce	Activité Bq/kg (sec)	±	Eau de combustion %	Activité Bq/l
1	Etang de Valduc	<i>Evermia prunastri</i>	4219	±16	40.5	10421.6
2		<i>Evermia prunastri</i>	3896	±14	46.7	8338.0
4		<i>Ramalina farinacea</i>	3982	±16	42.3	9413.7
6		<i>Ramalina farinacea</i>	1515	±13	26.7	5666.8
7		<i>Parmelia sulcata</i>	3136	±16	28.5	10996.0
3	Salives: route de Moley	<i>Evermia prunastri</i>	2185	±13	32.9	6642.3
5	Sortie de Salives	<i>Parmelia sulcata</i>	274	±3	33.5	816.5
8	Salives: Fontaine et calvaire	<i>Xanthoria parietina</i>	471	±5	43.0	1095.0
10	Grancey le Château	<i>Ramalina sp.</i>	71	±1	45.5	156.6
11		<i>Parmelia sulcata</i>	51	±2	40.2	126.0
12		<i>Xanthoria parietina</i>	16	±1	43.0	36.7
9	Combe de Moley	<i>Parmelia caperata</i>	67	±2	46.0	144.5
13	Moley, Monument aux Morts	<i>Parmelia sulcata</i>	69	±3	33.0	209.7
14	Moley, Pont du Moulin	<i>Parmelia sulcata</i>	70	±2	44.4	157.7

Tableau 3 : Activité minimale de l'eau de pluie et/ou de la vapeur d'eau présente dans l'air durant les années de développement des lichens. Cette activité est indiquée en Bq/L dans la dernière colonne. Les résultats sur la matière sèche sont également rappelés ainsi que le pourcentage de l'eau de combustion. (Les chiffres sont arrondis à la première décimale, ce qui peut expliquer de très légers écarts.)

5.4. Spécificités des lichens

Les lichens ont un développement long et leur photosynthèse est très lente (voir annexe 1), mais les espèces prélevées ne tirent leur eau que de l'atmosphère et non du sol. C'est donc bien l'exposition durable à de la pluie ou de la vapeur d'eau ayant au moins les mêmes concentrations en 3H (voir ci-dessus) qui peut être la cause d'une contamination. Si l'exposition a été intermittente, elle aura été d'autant plus intense.

Certains auteurs (Pally et al., 1993) ont évoqué la possibilité de la bio-accumulation du tritium organiquement lié dans certains organismes aquatiques d'eau douce. Pour expliquer certains résultats, ils émettent l'hypothèse d'une forme chimique particulièrement disponible de OBT, particulièrement présente dans les effluents liquides de certaines

installations. Un tel chemin de transport et d'accumulation, plausible en milieu aquatique, est extrêmement improbable ici : si tant est qu'elle existe en dehors de l'assimilation de composés azotés, l'incorporation de molécules organiques chez les lichens ne nous est pas connue. Par ailleurs, un tel phénomène aurait aussi dû être observé sur des espèces prélevées dans des zones non contaminées.

5.5. Oxydation du tritium moléculaire

En 1989, Ichimasa et al. ont publié les résultats d'une recherche in vitro sur l'oxydation du tritium moléculaire dans les lichens. L'oxydation du tritium moléculaire (HT, un atome d'hydrogène et un atome de tritium) est un phénomène connu dans les couches superficielles du sol ; elle est l'oeuvre de bactéries qui transforment ce HT en eau tritiée HTO: c'est ainsi que le tritium finit tôt ou tard par prendre la forme d'eau tritiée. En procédant à une expérimentation dans une enceinte étanche, ces auteurs ont constaté que cette oxydation se produisait également dans le thalle des lichens, dans une moindre mesure que dans le sol mais plus que dans les aiguilles de pin ou les mousses. Dans un conteneur clos, cette oxydation est de l'ordre de 3% par heure.

Une partie du tritium émis par le Centre de Valduc l'est sous forme de HT, considéré comme moins radiotoxique que la forme oxydée HTO. La question peut donc avoir une importance.

Il est possible qu'une partie du tritium organiquement lié présent dans les lichens ait ses origines dans ce phénomène. L'hypothèse est séduisante du point de vue lichénologique, car elle mettrait en évidence des mécanismes permettant au thalle de s'hydrater en période de sécheresse prolongée. Néanmoins, la part de tritium ainsi incorporé reste sans aucun doute minoritaire. Au vu des pourcentages, le thalle devrait non seulement être exposé à une atmosphère avec du tritium moléculaire abondant en période de vent sec, mais à cette exposition et à l'oxydation qui en résulterait devraient coïncider des périodes de photosynthèse intense.

Nous nous bornons donc à dire que cette hypothèse n'explique pas les fortes concentrations rencontrées dans certains échantillons.

5.6. Etendue géographique des retombées tritiées

Le nombre d'échantillons analysés est insuffisant pour envisager une véritable cartographie de la charge en tritium. Les éléments disponibles permettent néanmoins de penser à une zone proche du Centre contaminée dans toutes les directions, à des degrés divers selon l'éloignement, mais indépendamment de la direction du vent ; cela pourrait correspondre à des émissions en l'absence de vent et à des remises en circulation, avec un niveau d'activité décroissant de façon concentrique.

Un deuxième mode de retombées semble avoir suivi de façon classique le panache des émissions des vents en direction du nord-est, comme en témoignent les contaminations plus importantes à Salives. Cette contamination semble décroître avec l'éloignement, comme on le constate à Grancey-le-Château. Elle continue sans doute au-delà, vraisemblablement en diminuant, mais sans que nous n'en connaissions les limites.

5.7. Aspects historiques

Les aspects géographiques des retombées tritiées ne devraient pas être considérés sans leur dimension dans le temps. En effet une datation des lichens par grandes tranches est possible en connaissant l'âge du support.

Près de l'Etang de Valduc, les exemplaires "vieux" sont pour la plupart moins contaminés que les "jeunes" (à l'exception de *P. sulcata*, dont l'âge a peut-être été surestimé). Ce constat est cependant relativisé si l'on considère les résultats exprimés par

rapport à l'eau de combustion (voir tableau 3). les écarts entre échantillons pourraient en effet être dus à la dispersion des résultats. Si l'on considèrait néanmoins que les différences étaient significatives, on pourrait supposer que les lichens moins contaminés étaient déjà bien développés au moment des pics d'émissions du Centre.

A Salives, le lichen le plus vieux (n° 3, support de plus de 40 ans) est nettement plus contaminé que les autres.

A Grancey-le-Château, les exemplaires "jeunes" (n° 12) présentent des activités inférieures à celles des lichens "vieux" (n° 11) ou d'âge moyen (n° 10).

A la Combe de Moloy, l'âge de *P. caperata* a peut-être été mésestimé ; il faut cependant noter que l'environnement de ce lichen (milieu forestier) est différent des autres sites (arbres plus ou moins isolés).

Ces considérations semblent indiquer que les retombées dont témoignent les lichens ont été les plus fortes entre le milieu des années 70 et le milieu des années 80.

Quoiqu'il en soit, il sera très instructif de connaître la période effective du tritium dans les lichens (voir paragraphe suivant).

5.8. Hypothèses "maximalistes" et "minimalistes"

Il convient de noter que les activités mesurées en 2000 sur les lichens ne reflètent qu'une partie du tritium qu'ils ont incorporé à l'origine. La question de la perte du tritium organiquement lié facilement échangeable (dans les liaisons O-H) a déjà été évoquée.

Il faut tenir compte de la décroissance physique du tritium avec une période de 12,3 ans. A cette demi-vie physique, il faut associer la demi-vie biologique de l'hydrogène (du tritium) dans les tissus et les réserves des lichens. La prise en compte de ces deux périodes conduit à la notion de période effective. Le "turnover" des réserves ou des structures membranaires du mycobionte est mal connu mais sans doute beaucoup plus long que chez la plupart des organismes supérieurs.

Des échantillons de *Parmelia caperata*, prélevés à trois ans d'intervalle ont présenté la deuxième fois une activité de \pm la moitié de celle de 1997, avec une diminution des rejets des deux tiers environ entre 1996 et 2000. Cela ferait penser à une période effective assez courte, mais il n'est pas possible de conclure en se basant sur un seul cas.

Il est possible que la période effective soit plus longue ; si la période biologique était de huit ans, la période effective du tritium serait de 5 ans dans le lichen. Ainsi une analyse mettant en évidence une activité de 1000 becquerels par kilogramme de lichen correspondrait-elle, en l'absence de contamination intermédiaire, à un niveau de 4000 Bq/kg pour une contamination ayant cessé il y a 10 ans (ou 8000 Bq/kg si elle a cessé il y a 15 ans: de nombreuses variations sur le thème sont possibles...)

Il serait certes possible d'extrapoler d'avantage mais une telle modélisation n'entre pas dans le cadre de cette campagne d'analyses et devrait se fonder sur des données plus abondantes.

Ainsi des transplants de lichens contaminés vers des zones "pures" et des analyses échelonnées dans le temps permettront-elles de connaître mieux le temps de résidence du tritium dans les lichens (période effective) et donc l'activité moyenne dans l'eau de pluie et la vapeur d'eau dans le passé.

5.9. Autres végétaux

Si les lichens rendent compte de l'activité en tritium de l'humidité atmosphérique des années passées, les végétaux ayant une croissance rapide et/ou un système racinaire de

surface auraient du, à la même époque, présenter eux-aussi une activité du même ordre en tritium organiquement lié (tout au moins si l'on exprime l'activité par rapport à l'eau de combustion) ainsi qu'une activité en eau tritiée difficile à appréhender aujourd'hui. On pense en particulier aux cultures annuelles, à la flore herbacée, aux fruits rouges... Cet état de fait doit nourrir la réflexion.

6. CONCLUSION ET PROPOSITIONS

6.1. Les activités de tritium organiquement lié mesurées dans les lichens prélevés dans la région de Valduc sont étonnamment élevées par rapport aux activités que l'on trouve actuellement dans les eaux de surface ou les nappes de cette région. Les émissions n'ont pas cessé, mais la plus grande part de la contamination remonte à plusieurs années, peut-être à plusieurs décennies.

6.2. Au vu de ces résultats, il est opportun d'approfondir les recherches, afin de connaître la période effective du tritium dans les lichens et donc d'appréhender plus précisément les niveaux dans le temps. Pour une appréhension plus précise des niveaux passés en tritium l'approche la plus prometteuse serait de procéder à des transplants : des échantillons de lichens (suffisamment nombreux pour être représentatifs) des points fortement contaminés peuvent être prélevés et transférés dans un environnement comparable d'une région non contaminée. Une analyse sur une fraction des échantillons au moment du prélèvement sera complétée par des analyses d'autres portions au bout d'un délai prédéfini : nous proposons 3 mois et un an, ce qui permettrait non seulement d'estimer la période effective, mais aussi de savoir si cette période est exponentielle ou se décompose en paliers. Une analyse supplémentaire serait également effectuée au bout d'un an sur une quatrième portion de l'échantillon, déshydratée et conditionnée, afin de se rendre compte si un stockage prolongé peut influencer sur sa teneur en tritium.

Idéalement, ces transplants s'accompagneraient de transplants inverses, d'une zone supposée pure vers le point proche de Valduc où ont été prélevés des échantillons de la même espèce.

6.3. Une meilleure connaissance de l'ampleur géographique des retombées peut être acquise par l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons pour obtenir une cartographie, ou des transects, au moins jusqu'à Langres, pour savoir à partir d'où l'influence du site de Valduc devient négligeable (nous proposons une activité inférieure à 10 Bq/kg à titre de repère); ce type de recherche ne devrait pas poser de problèmes techniques.

6.4. Dans la mesure du possible, il serait souhaitable de prélever et d'analyser des lichens à cyanobactéries, pour essayer de connaître la source principale de tritium dans la matière organique des lichens : vapeur d'eau atmosphérique ou eau de pluie. Cet élément a son importance en termes de radioprotection, l'exposition correspondante se faisant par inhalation ou par ingestion selon le cas.

6.5. Au vu des résultats, il est raisonnable d'élargir l'approche radioécologique afin d'inclure au moins une série d'analyses dendrochronologiques, permettant d'affiner la connaissance des retombées tritiées dans le temps. Il sera également intéressant d'analyser des champignons saprophytes exploitant la matière organique ancienne, comme par exemple le pied bleu (*Lepista nuda*). D'autres indicateurs plus ou moins exotiques peuvent aussi être envisagés : confitures oubliées au fond d'un placard, échantillons d'herbiers etc...

Remerciements : Pour leur aide et leurs conseils, les auteurs souhaitent remercier le Pr Lange, de l'Université de Würzburg (Allemagne), le Pr van Haluwyn, de l'Université de Lille II, D. Boilley, de l'Association pour le Contrôle de la Radioactivité dans l'Ouest ainsi que C. Roux, de l'Association Française de Lichénologie.

REFERENCES

- Belot, Y., 1986 : Tritium in Plants : a review, Radiation protection Dosimetry, vol 16 n° 1 - 2, p 101 - 105.
- Belot Y., Roy M. et Métivier H. (coordinateurs) 1996 : Le Tritium, de l'environnement à l'Homme, les Editions de Physique, 191 p.
- CEA, Direction des Applications Militaires: correspondance avec la SEIVA en date du 17/08/2000.
- Cowan D.A., Green T.G.A. and Wilson A.T., 1979, A : Lichen Metabolism. 1. The Use of Tritium Labelled Water in Studies of Anhydrobiotic Metabolism in *Ramalina celsastri* and *Peltigera polydactyla*; New Phytologist n° 82, p 489 - 303.
- Cowan D.A., Green T.G.A. and Wilson A.T., 1979, B : Lichen metabolism 2 : Aspects of light and dark Physiology, New Phytologist n° 83, p 761 - 769.
- Hale, M., E.H. Jr, 1983 : The Biology of Lichens, 3d Edition, , Edward Arnold, London, 190 p.
- Ichimasa M., Ichimasa Y., Yagi Y., Ko R., Suzuki M. et Akita Y, 1989 : Oxidation of Atmospheric Moleculr Tritium in Plant Leaves, Lichens and Mosses; Journal of Radiation Research n° 30, p 323 - 329.
- Joyeux, E. et Daillant O. 1998 : OBSERVATION DE LA QUALITE DE L'AIR PAR LES LICHENS DANS LES DEPARTEMENTS DE LA CÔTE D'OR, DE LA NIEVRE, DE LA SAÔNE-ET-LOIRE ET DE L'YONNE, rapport DDASS.
- Lange, O.L., Leisner J.M.R. and Bilger, W. 1999 : Diel and annual distribution of metabolic activity and possible mechanisms to avoid photoinhibition : Flora 194, p 413 - 430.
- Mac Farlane, J.C. 1976 : Tritium Fractionation in Plants, Environmental and experimental Botany, vol. 16, p 14 - 29.
- Mannone, F. (coordinateur) 1993 : Safety in Tritium Handling Technology, Euro Courses, Nuclear Science and Technology, vol 1, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston London, 236 p.
- Masuch, G., 1993 : Biologie der Flechten, Quelle & Meyer, Uni-Taschenbücher 1546, 411 p.
- Météo-France : Atlas climatique de la Côte-d'Or.
- Michel, V. et Daillant O. 1997 : Estimation de la qualité de l'air par les lichens à Dijon, Rapport Observatoire Mycologique pour le Museum d'Histoire Naturelle de la Ville de Dijon.
- Pally, M., Barré, A. et Foulquier, 1993 : Tritium associé à la matière organique de sédiments, végétaux et poissons des principaux cours d'eau français, cité in Garnier Laplace, J., note IPSN communiquée par la SEIVA.
- Paris, Pognat et Daillant, 1999 : Estimation de la qualité de l'air par les lichens dans le Département de la Côte-d'Or, rapport DDASS.
- Smith, D.C. and Douglas A.E., 1987 : The Biology of Symbiosis. Contemporary biology, Edward Arnold, London, 302 p.

Annexe 1: Lichens et photosynthèse

Le partenaire algal du lichen ne constitue que 5 à 10% de la masse totale de celui-ci. Si le taux de photosynthèse par unité de chlorophylle pour les symbiotes lichéniques est comparable à celui d'une algue non symbiotique, le taux par unité de surface ou par unité de masse est très faible (environ 10 à 20 % de la valeur obtenue pour des feuilles adaptées à l'ombre; voir Smith et Douglas, 1987). A titre indicatif, la **teneur en chlorophylle a + b** de *Xanthoria parietina* est d'environ 0,6 mg/g de matière sèche (ou 0,67 mg par 100 cm²).

Le taux maximum de photosynthèse nette chez les lichens a été calculé par Bannister (1976, in Masuch, 1993) : assimilation de 0,3 à 2 mg/heure de CO₂ par gramme de matière sèche. D'autres travaux ont mis en évidence les valeurs maximales suivantes pour le taux net d'assimilation de CO₂ : entre 0,2 et 3,2 mg de dioxyde de carbone . 50 cm² . h⁻¹.

Le taux de photosynthèse est en corrélation avec le **contenu en eau du thalle**, la saturation optimale étant de 35 à 70 %, parfois plus. Ce niveau optimum est souvent plus faible que celui où la respiration est maximale.

Les algues des lichens à chlorophycées forment des polyols (hydrates de carbone à faible poids moléculaire, par exemple ribitol, C₅H₁₂O₅, sorbitol, C₄H₁₀O₄ et mannitol C₆H₁₄O₆). Ces polyols sont transférés vers le mycobionte, qui les transforme en mannitol pour les stocker durablement. Ce transport concerne 80 % du carbone fixé par l'algue (Hale 1983).

Les parois des hyphes fongiques contiennent de la **chitine**, créée à partir d'autres polymères.

Vitesse de croissance des lichens telle que citée dans Masuch (1993)

<i>Hypogymnia physodes</i> (Alpes) :	1,15 à 4 mm par an	(croissance radiale)
<i>Parmelia saxatilis</i> (Finlande) :	2,3 mm par an	"
<i>Parmelia saxatilis</i> (Alpes) :	3,5 à 4 mm par an	"
<i>Parmelia sulcata</i> (Finlande) :	1,60 mm par an	"
<i>Xanthoria parietina</i> (Finlande) :	2,15 mm par an	"
<i>Evernia prunastri</i> (Suède) :	2 mm par an	(croissance en longueur)

Lange et al. (1999) ont suivi sur le long terme l'activité du lichen terricole *Peltigera rufescens*:

Le lichen est inactif pendant près de la moitié de l'année (48 % du temps), la photosynthèse pendant 25,6% du temps, le reste (27,3 %) étant consacré à l'hydratation nocturne. Il est vraisemblable que les lichens souffrent de longues périodes d'inactivité plus longues, dans la mesure où leur exposition à la lumière est réduite.

Annexe 2: Fiche tritium

Le tritium est un isotope radioactif de l'hydrogène de période physique (ou demi-vie) de **12,3 ans**. Il est représenté indifféremment par ^3H ou T.

Forme chimique:

Il peut être présent dans l'environnement soit sous forme d'hydrogène tritié (**HT**), sous forme d'eau tritiée (**HTO** : un atome d'hydrogène stable, un atome de tritium et un atome d'oxygène) ou lié à d'autres atomes, en particulier à des atomes de carbone qui constituent les hydrates de carbone de la matière organique ; on parle alors de tritium organiquement lié (parfois appelé **OBT** dans la littérature : Organically Bound Tritium), très stable. Lié à d'autres atomes, il est échangeable avec des atomes d'hydrogène stable.

L'unité de mesure est le becquerel (Bq), soit l'équivalent d'une désintégration radioactive par seconde. Pour les ordres de grandeur plus importants, on utilise les multiples du becquerel, par exemple le gigabecquerel pour 1 milliard de Bq et le térabecquerel pour 1000 milliards de Bq. L'ancien système utilisait le curie (Ci), équivalent à 37 milliards de becquerels.

L'activité spécifique du tritium est de $3,57 \times 10^{14}$ becquerels par gramme de tritium, soit 357 térabecquerels ou 9,7 kilocurie.

L'inventaire mondial du tritium d'origine naturelle serait de 2,8 à 3,7 kg.

Le tritium injecté dans l'atmosphère lors des essais nucléaires atmosphériques aurait apporté une charge ajoutée de l'ordre de 600 kg (en 1963).

Activités habituelles: Actuellement (an 2000) les activités des eaux de surface sont de 1 à 2 becquerels par litre et celle de l'eau de pluie de 2 Bq/l environ.

Normes:

La directive européenne 96/29 Euratom du 13 mai 1996 fixe la limite de dose pour les personnes du public à 1 millisievert par an.

La publication n° 72 de la Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) donne les coefficients de dose suivants exprimés en sievert par becquerel (Sv . Bq⁻¹)

Forme	Nourrisson (< 3 mois)	Adulte
OBT (ingestion)	$1,2 \cdot 10^{-10}$	$4,2 \cdot 10^{-11}$
HTO (ingestion)	$6,4 \cdot 10^{-11}$	$1,8 \cdot 10^{-11}$
HT (inhalation)	$6,4 \cdot 10^{-15}$	$1,8 \cdot 10^{-15}$
HTO (inhalation)	$6,4 \cdot 10^{-11}$	$1,8 \cdot 10^{-11}$

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande de ne pas dépasser 7800 becquerels par litre pour l'eau de boisson.

La Directive Européenne 98/83 du 3 Novembre 1998, relative à a qualité des eaux destinées à la consommation humaine, préconise le respect d'une valeur de 100 Bq/L.

Les informations ci-dessus proviennent essentiellement de la directive européenne 96/29 Euratom du 13 mai 1996, de l'ouvrage de Belot et al. (1996) et Mannone et al. (1993)

Carte des lieux de prélèvements

