



**HAL**  
open science

# Evaluation du transfert potentiel d'éléments traces métalliques dans des sols agricoles vers une plante à vocation alimentaire : la laitue

Marie Lebeau

## ► To cite this version:

Marie Lebeau. Evaluation du transfert potentiel d'éléments traces métalliques dans des sols agricoles vers une plante à vocation alimentaire : la laitue. [Stage] Université de Bordeaux (UB), FRA. 2018, 50 p. hal-02787242

**HAL Id: hal-02787242**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02787242>**

Submitted on 5 Jun 2020

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

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

## Rapport de stage

# Evaluation du transfert potentiel d'éléments traces métalliques des sols agricoles vers une plante à vocation alimentaire : la laitue

Au sein de l'Institut National de la Recherche Agronomique



À Villenave-d'Ornon du 15 janvier au 20 juin 2018

Par Marie LEBEAU

Maîtres de stage : Laurence DENAIX – Emma VIVIEN

UMR ISPA Equipe BIOGET



Master 2 Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement



Année 2017 - 2018

université  
de BORDEAUX

## Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de mon stage. Je remercie tout particulièrement mes maîtres de stage, Laurence DENAIX, directrice de l'unité ISPA et chercheur INRA et Emma VIVIEN, ingénieur d'études, pour leur accueil, leur encadrement, et leurs conseils notamment ce qui concerne la mise au point des expérimentations et l'interprétation des résultats. De plus, grâce à leur attention, j'ai pu accomplir à bien les missions confiées durant ce stage.

Je remercie également Cécile CORIOU et Sylvie BUSIERE, techniciennes au sein de l'équipe BIOGET, ainsi que Coralie CHESSERON pour leur soutien, leur aide et leurs conseils durant mon stage. Merci à Thierry Robert, technicien également au sein de l'équipe, pour sa collaboration et son aide pour l'expérimentation en serre.

Je remercie aussi les personnes partenaires du projet EQUAVEG à savoir Émilie DONNAT de l'ACTA, Bruno TAUPIER-LETAGE de l'ITAB, Christiane RAYNAL du CTIFL, Gaëtane LESPEL et Stéphane FAUCHER de l'IPREM, pour leur collaboration et leur contribution à la mise en place des expérimentations.

Je tiens également à remercier toutes les personnes travaillant au sein de l'équipe BIOGET pour leur accueil, et pour leur disponibilité pendant ma période de stage.

Enfin, je remercie tous les doctorants qui m'ont accueillie parmi eux et m'ont donné l'opportunité de travailler dans une bonne ambiance. Merci aussi aux 3 étudiants de Master 1, Chloé, Kévin et Jules pour leur aide et leur bonne humeur.

## Résumé

Le Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et des Légumes (CTIFL) a mené depuis plusieurs années des enquêtes sur la problématique de contamination de la laitue par le cadmium. Afin de s'assurer de la qualité sanitaire de ce légume, il est important de pouvoir estimer la biodisponibilité du cadmium présent dans les sols cultivés et ainsi pouvoir prédire les concentrations en métal dans les végétaux.

Le projet EQUAVEG, dans lequel s'inscrit ce stage, est un projet mis en place afin de valider l'utilisation de deux capteurs passifs (DGT et DMG) pour prédire la biodisponibilité du cadmium dans différents sols maraîchers conduits en agriculture biologique et conventionnelle.

Dans un premier temps, la réponse des deux capteurs passifs a été évaluée en conditions contrôlées. Les mesures réalisées par ces capteurs ont montré une tendance à une plus faible variabilité à partir de 24h d'exposition. Les résultats pour le dispositif DGT ont révélé que la concentration en Cd mesuré par ce capteur est influencée par l'état initial du sol, sec ou humide.

Dans un second temps, la disponibilité du cadmium a été suivie pour une culture de laitue en conditions de serre. Le suivi cinétique de la biodisponibilité du Cd par le capteur DGT a démontré une variation des mesures DGT au cours du temps. Une relation a été établie entre les concentrations en Cd mesurées à t<sub>0</sub> par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines des laitues pour certains sols. Pour les autres sols, des études supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer pourquoi le capteur DGT n'est pas capable d'estimer les concentrations en Cd biodisponibles dans ces sols.

## **Abstract**

The Interprofessional Technical Center for Fruits and Vegetables (CTIFL) has conducted surveys on the issue of contamination of lettuce by cadmium for several years. In order to ensure the sanitary quality of this vegetable, it is important to be able to estimate the bioavailability of cadmium present in cultivated soils, and thus to be able to predict metal concentrations in the plants.

The EQUAVEG project, of which this internship is a part of, is a project set up to validate the use of two passive sensors (DGT and DMG) to predict the bioavailability of cadmium in various markets gardening soils conducted in organic and conventional agriculture.

The responses of the two passive sensors were evaluated under controlled conditions. The measurements made by these sensors showed a tendency to lower variability for 24 hours of exposure. The results for the DGT device revealed that the Cd concentration measured by this sensor is influenced by the initial state of the soil, dry or wet.

The kinetic monitoring of the Cd bioavailability by the DGT sensor for greenhouse-grown soils showed a variation in DGT measurements over time.

Bioavailability of cadmium was estimated for a lettuce crop in greenhouse condition. The results of the study concerning the ability of sensors to predict the bioavailability of Cd have shown that there is a relationship between the Cd concentration measured at  $t_0$  by DGT and the Cd concentration measured in leaves and roots for a group of soils. For the remaining soils, additional studies are needed to determine why the DGT device is not efficient on these soils to estimate the bioavailable Cd concentrations.

# Sommaire

Remerciements .....	2
Liste des figures.....	6
Liste des tableaux .....	6
Introduction .....	7
Etat des connaissances.....	9
I. Les éléments traces métalliques (ETM).....	9
1. Généralités .....	9
2. Risque toxicologique du cadmium.....	9
II. Biodisponibilité et transfert sol-plante .....	11
1. Concept de biodisponibilité .....	11
2. Facteurs influençant la biodisponibilité .....	12
3. Transfert sol-Plante .....	13
III. Les capteurs passifs.....	14
1. Le dispositif Diffusif Gradient in Thin film (DGT).....	15
2. Un nouveau capteur passif : Diffusive MilliGels (DMG).....	17
Démarche expérimentale .....	20
Résultats et discussion .....	22
I. Test des capteurs DMG et DGT en conditions contrôlées .....	23
1. Test des temps d'exposition des DGT et des DMG .....	23
2. Test de la gamme de réponse des capteurs sur deux états du sol en condition contrôlée.....	25
II. Estimation de la capacité de prédiction des transferts sol-plantes en Cd par les 2 capteurs.....	28
1. Suivi cinétique de la biodisponibilité par les 2 capteurs .....	28
2. Etude de la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue .....	32
3. Estimation de la capacité des capteurs à prédire la biodisponibilité du Cd.....	35
Conclusion .....	39
Perspectives .....	40
Hygiène et sécurité .....	41
Références bibliographiques.....	42
<b>Annexes</b> .....	<b>44</b>

## Liste des figures

Figure 1 Schéma expliquant la biodisponibilité des métaux pour les plantes (Bravin, 2008) .....	11
Figure 2 Interactions physicochimiques impliquées dans l'échange ETM dans le sol (d'après Denaix, 2007) .....	12
Figure 3 Absorption du Cd par la racine de la plante (Nguyen et Denaix, 2016) .....	13
Figure 4 Schéma des voies de transferts des métaux de la solution de sol vers la racine (Denaix, 2007) .....	14
Figure 5 Représentation schématique d'un dispositif DGT (Zhang et al. 2001) .....	15
Figure 6 Processus induits par le déploiement du dispositif DGT sur un sol (Ernsberger et al., 2002). Csol, = Concentration en solution, CIs = concentration dans le sol, $\Delta g$ , épaisseur du gel de diffusion. ....	16
Figure 7 Billes du capteurs passifs DMG .....	18
Figure 8 Evolution des concentrations en Cd obtenues par les capteurs DGT et DMG au cours du temps ....	23
Figure 9 Comparaison des concentrations de Cd mesurées par les deux capteurs passifs .....	24
Figure 10 Evolution du coefficient de variation des concentrations en Cd au cours du temps d'exposition..	25
Figure 11 Comparaison des concentrations en Cd mesurées par DGT sur deux états différents du sol.....	26
Figure 12 Comparaison des coefficients de variation en fonction de l'état du sol.....	27
Figure 13 Comparaison de la concentration en Cd mesurée à t0 entre les différents sols.....	28
Figure 14 Comparaison de la solution de sol à t0 entre les différents sols.....	29
Figure 15 Suivi cinétique de la concentration en Cd mesurée par DGT .....	30
Figure 16 Cinétique de la concentration en Cd dans la solution de sol .....	30
Figure 17 Evolution du pH de la solution de sol au cours du temps .....	31
Figure 18 Comparaison de l'évolution de la température au cours des mesures DGT .....	32
Figure 19 Biomasse totale des plantes séchées pour les différents sols .....	33
Figure 20 Concentrations en Cd dans les feuilles des laitues pour les différents sols.....	34
Figure 21 Régressions linéaires entre les CDGT et les quantités de Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines des laitues .....	36
Figure 22 Comparaison des quantités en Cd accumulées par la laitue et les quantités mesurées grâce aux flux DGT .....	37

## Liste des tableaux

Tableau 1 Caractéristiques physicochimiques des différents sols utilisés pour le projet EQUAVEG.....	22
Tableau 2 Moyennes des biomasses et des concentrations en Cd pour les laitues de chaque sol (écarts- types entre parenthèses) .....	33
Tableau 3 Moyennes des biomasses et des concentrations en Cd pour les plantules à t0 (écarts- types entre parenthèses) .....	35

## Introduction

Les Eléments Traces Métalliques (ETM) sont naturellement présents dans les sols à des teneurs plus ou moins élevées, qui augmentent considérablement sous l'influence des activités humaines (retombées atmosphériques, épandage de boues de stations d'épurations, engrais, produits phytosanitaires...). Certains ETM comme le cuivre et le zinc sont des oligo-éléments, c'est-à-dire qu'ils sont nécessaires au métabolisme des organismes mais en excès, ils deviennent toxiques. D'autres ETM sont eux toujours toxiques, c'est le cas du cadmium, du plomb et de l'arsenic. Les ETM dans les sols peuvent se trouver adsorbés sur la phase solide du sol ou bien dissous dans la solution du sol. Lorsqu'ils sont présents en solution, ils peuvent être absorbés par les plantes et contaminer l'alimentation et la chaîne alimentaire jusqu'à l'homme. Ainsi, afin d'éviter ces problèmes, la réglementation européenne EC 466/2001 a été mise en place. Elle concerne les produits destinés à l'alimentation humaine et fixe des teneurs seuils en cadmium, mercure et plomb.

Cependant, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, au travers de son Etude de l'Alimentation Totale (EAT2), a permis de mettre en évidence des risques de dépassement des seuils toxicologiques pour le plomb, le cadmium et l'arsenic via l'alimentation. D'après cette même étude, les fruits et les légumes sont responsables de l'exposition des consommateurs au cadmium à hauteur de 21 à 27%. Ainsi, il existe un véritable enjeu à évaluer le transfert sol-plante du cadmium pour les plantes cultivées sur des sols agricoles.

Par ailleurs, le Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et des Légumes (CTIFL) a mené depuis plusieurs années des enquêtes sur la problématique de contamination de la laitue par le cadmium. En effet, la laitue est bien connue pour accumuler certains métaux dont le cadmium. Afin de s'assurer de la qualité sanitaire de ce légume, il est important de pouvoir estimer la biodisponibilité du cadmium présent dans les sols cultivés et ainsi pouvoir prédire les concentrations en métal dans les végétaux.

Le terme « biodisponibilité » correspond à la fraction d'ETM qui peut être absorbée par un organisme vivant. Les ETM sont associés aux constituants du sol qui contrôlent leur mobilité. La fraction en ETM biodisponible va dépendre de la quantité d'ETM capable de passer du compartiment sol vers la solution du sol. Ces transferts comprennent un flux convection, induit par l'évapotranspiration, et un flux diffusif, induit par le gradient de concentration dû au prélèvement de métal au niveau de la surface des racines. Ainsi, les ETM peuvent être plus ou moins disponibles pour la plante, en migrant vers la solution du sol selon des processus physico-chimiques.



Afin d'estimer la biodisponibilité des ETM dans les sols, l'utilisation de capteurs passifs s'est mise en place depuis ces dernières années. Ces capteurs ont comme objectif de mimer le prélèvement de la plante et ainsi pouvoir prédire la quantité de métal biodisponible. Plusieurs capteurs sont déjà opérationnels comme le dispositif Diffusive Gradient in Thin films (DGT) qui est capable de prélever les ETM biodisponibles dans son environnement proche.

Un nouveau capteur passif, le Diffusive MilliGels (DMG), a récemment été développé afin d'estimer la biodisponibilité d'ETM dans les sols, selon le même principe que le dispositif DGT. Ce capteur passif est un capteur innovant grâce à sa géométrie sphérique, permettant une diffusion en 3 dimensions des ETM. L'utilisation de ce capteur a déjà été testée pour le suivi du cuivre dans les eaux et les sols viticoles au travers de la thèse de Magalie Perez.

Le projet EQUAVEG, dans lequel s'inscrit ce stage, est un projet mis en place afin de valider l'utilisation des capteurs DMG et DGT pour le suivi de la disponibilité du cadmium dans les sols maraichers conduits en agriculture biologique et conventionnelle.

L'objectif de ce stage est donc de déterminer les conditions dans lesquelles les capteurs DMG et DGT sont les plus performants et de s'assurer de leur capacité à prédire la biodisponibilité du cadmium dans différents sols en condition contrôlée et en condition de sols cultivés en serre. De plus, le capteur DGM a été comparé au dispositif DGT, dont les performances sont déjà connues.

## Etat des connaissances

### I. Les éléments traces métalliques (ETM)

#### 1. Généralités

Les « éléments traces métalliques » (ETM) sont dits « traces » puisqu'ils sont retrouvés en faible concentration dans l'environnement. Certains, les oligoéléments, sont indispensables à la vie, mais toxiques à des teneurs élevées. Cependant, d'autres ETM présents à de très faibles concentrations sont définis comme des contaminants stricts et sont considérés comme toxiques pour les êtres vivants. C'est le cas du cadmium en particulier. Les ETM sont des composants de la croûte terrestre et ils sont donc présents dans les sols agricoles naturellement. Une augmentation de leur concentration dans les sols peut être induite en raison des apports anthropiques (Darracq Dauguet et al. 2013).

Concernant le cadmium (Cd), il est retrouvé en moyenne, dans la croûte terrestre, à une concentration de 0.1 mg/kg. En France, les concentrations totales dans les sols agricoles se situent aux alentours de 0.23 mg/kg (GIS Sol, 2013). A ce jour, il n'existe aucune valeur maximale réglementaire des concentrations en ETM dans les sols agricoles sauf dans le cas de l'épandage des boues de station d'épuration. Ainsi, il existe pour le cadmium une valeur seuil de 2 mg/kg pour l'épandage des boues de stations d'épuration, fixée par l'arrêté du 08/01/98.

#### 2. Risque toxicologique du cadmium

##### a) *L'exposition humaine au cadmium*

La source principale d'exposition au Cd est l'alimentation pour la population générale. Cependant, la fumée de cigarette est la principale source d'exposition au Cd pour les fumeurs et l'air ambiant pour les travailleurs en milieu industriel (EAT2, 2011).

L'exposition prolongée au cadmium peut induire une atteinte rénale, une fragilité osseuse, des troubles de la reproduction. De plus, le Cd est classé comme « cancérigène pour l'homme » (groupe 1) par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC). Il a été estimé que la demi-vie du Cd dans l'organisme est comprise entre 10 et 30 ans chez l'homme (EAT2, 2011). Le risque toxicologique du cadmium est bien réel.

En 2009, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a proposé une dose hebdomadaire tolérable de 2.5 µg/kg pc/sem. En 2010, le Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA) a fixé une dose mensuelle tolérable de 25 µg/kg pc/mois (JECFA 2011b). L'exposition moyenne de la population française au cadmium est estimée à 0.16 µg/kg pc/jour chez les adultes. Ainsi, on peut noter que la dose hebdomadaire tolérable de l'EFSA est dépassée à hauteur

de 0,6 % chez les adultes et 14,9 % chez les enfants (EAT2, 2011). Pour certains consommateurs, il existe donc un risque sanitaire qui ne peut donc pas être écarté.

Le Cd a été associé à la maladie d'Itai-Itai. En effet, les personnes atteintes de cette maladie présentaient un taux élevé de fractures, une augmentation du taux d'ostéoporose et d'intenses douleurs associées aux os. Dans les années 1940 a eu lieu une épidémie de la maladie d'Itai-Itai dans le bassin de la rivière Jinzu au Japon. Celle-ci a été observée chez les personnes ayant mangé du riz, cultivé dans des champs irrigués avec de l'eau fortement polluée par du cadmium (Godt et al. 2006). Le problème du Cd comparé à d'autres éléments traces est qu'il présente des risques pour la santé humaine à des concentrations généralement non phytotoxiques (McLaughlin, Parker, et Clarke 1999). Il peut donc assez aisément entrer dans la chaîne alimentaire via les végétaux consommés.

#### *b) Le cadmium dans les aliments*

Le Cd est un métal préoccupant en raison de l'exposition humaine principalement liée à l'alimentation. Ainsi, des valeurs limites dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux ont été fixées par les réglementations européennes et françaises (Règlement CE 1881/2006 et Directive 2002/32/CE). En ce qui concerne le cadmium, la réglementation européenne impose une teneur maximale pour les légumes-feuilles, et donc pour la laitue de 0.20 mg/kg de poids à l'état frais (Règlement CE 1881/2006).

D'après le groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire (groupe CONTAM), les principaux aliments qui contribuent à l'exposition au cadmium, via une forte consommation, sont les céréales et les produits à base de céréales (tels que le pain et produits de panification sèche), les légumes et les produits végétaux, les fruits à coque, les racines amylicées et les pommes de terre ainsi que la viande (Règlement (UE) No 488/2014). En règle générale, les légumes à feuilles et les tubercules possèdent des concentrations de cadmium plus élevées que les fruits ou les graines (McLaughlin, Parker, et Clarke 1999).

Afin d'étudier la contamination des aliments par le Cd, il ne faut pas seulement considérer sa concentration dans les aliments, mais aussi sa fréquence et sa quantité consommée. Ainsi, une faible augmentation de concentration dans un végétal fortement consommé pourrait avoir plus de conséquences sanitaires qu'une augmentation importante dans une production peu consommée.

Une étude sur l'alimentation française concernant l'analyse des concentrations en différents éléments traces (Leblanc et al., 2004) a montré que la contribution des végétaux au niveau de contamination alimentaire en Cd est extrêmement importante pour des individus non-fumeurs. Ces valeurs peuvent varier et sont dépendantes des habitudes alimentaires.

Pour minimiser la contamination en cadmium des cultures, quelques stratégies sont possibles. Plusieurs auteurs ont notamment démontré chez le blé commun et le blé dur que l'ajout de Zn dans

le sol permet de réduire significativement les concentrations de cadmium dans les cultures (McLaughlin, Parker, et Clarke 1999).

## II. Biodisponibilité et transfert sol-plante

### 1. Concept de biodisponibilité

Le sol peut être représenté en deux compartiments : un compartiment vecteur, la solution sol, et un compartiment accumulateur de métaux, la matrice solide. Ce dernier va se comporter comme un puits ou comme une source de métaux, en fonction des conditions physicochimiques du milieu (Denaix, 2007).

Peijnenburg et al. (1997) et Lanno et al. (2004) ont indiqué que la biodisponibilité devrait être considérée comme un processus dynamique comprenant les trois phases suivantes :

- la disponibilité environnementale est généralement considérée comme une fraction du métal potentiellement disponible pour les organismes vivants.
- la biodisponibilité environnementale, contrôlée par un processus d'absorption physiologique, est définie par la fraction d'espèces métalliques dissoute dans la solution de sol qui peut être absorbée par la plante ou d'autres organismes du sol.
- la biodisponibilité toxicologique est considérée comme la quantité de métal qui peut physiologiquement induire une bioaccumulation ou un autre effet biologique dans les organismes dont les plantes en fonction de la translocation, du métabolisme et de la détoxification.

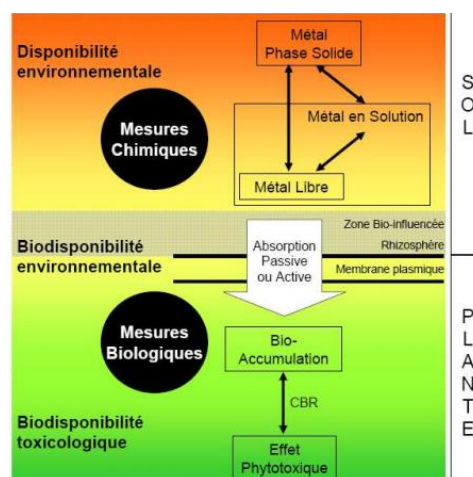


Figure 1 Schéma expliquant la biodisponibilité des métaux pour les plantes (Bravin, 2008)

La disponibilité environnementale est liée à la mobilité chimique des métaux qui est définie comme la capacité d'un métal à passer du compartiment du sol où il est fortement retenu vers la solution du sol où il est moins retenu (Bravin, 2008). Afin de prédire la mobilité des métaux dans le système sol-eau, il est nécessaire de déterminer la localisation des métaux dans les différentes phases organiques ou minérales. En effet, un cation métallique fixé sur une surface argileuse sera plus

facilement échangeable et mobile qu'un métal inclus dans un cristal (Denaix, 2007). La disponibilité des métaux prend en compte également la « spéciation » des métaux, c'est-à-dire les différentes formes chimiques sous lesquelles les métaux sont présents et interagissent avec les divers constituants du sol.

## 2. Facteurs influençant la biodisponibilité

Hund-Rinke et Koerdel (2003) ont indiqué que la biodisponibilité est un processus complexe dépendant du type d'organisme, du type d'exposition, des phénomènes de sorptions et de la spéciation des métaux (Kim et al. 2015).

La rétention des métaux est notamment induite par différents constituants du sol en particulier les phyllosilicates ou argiles minéralogiques, les oxyhydroxydes de fer (Fe), d'aluminium (Al) et de manganèse (Mn), les matières organiques du sol ou les carbonates. Plusieurs mécanismes d'interactions physico-chimiques sont impliqués dans l'échange des ETM entre la matrice du sol et la solution du sol : l'échange d'ion, la complexation, et la précipitation, (Qasim, 2015).

Dans le cas de l'échange d'ions, les cations en solution sont attirés par des forces électrostatiques faibles, de type Van der Waals, vers les charges négatives de la surface des particules du sol telles que les particules argileuses, les oxydes et la matière organique. La matière organique contient beaucoup de groupements réactifs et est donc réactive vis-à-vis des ions métalliques.

Dans le cas de la complexation, les cations métalliques forment une liaison chimique forte avec les OH de surfaces des hydroxydes d'oxydes ou des minéraux argileux. La précipitation est un phénomène défini par le passage d'un soluté en solution à l'état solide.

Dans le milieu naturel, les métaux précipitent principalement sous la forme d'hydroxydes, de sulfures et de carbonates. La précipitation est généralement favorisée par des pH élevés pour les cations métalliques, car la concentration en solution des ions d'hydroxyde ou de carbonate augmente avec le pH. (Deschamps et al. 2006).

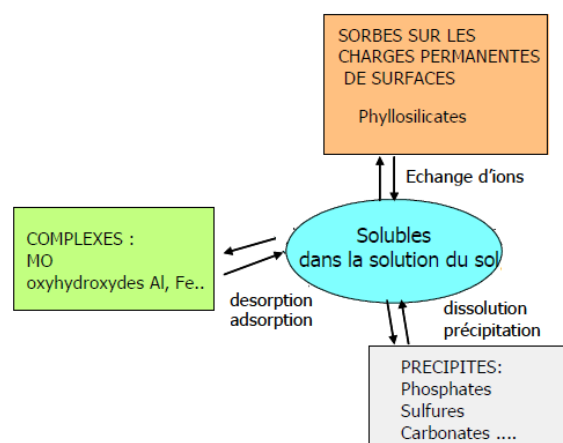


Figure 2 Interactions physicochimiques impliquées dans l'échange ETM dans le sol (d'après Denaix, 2007)

La disponibilité des métaux dépend par la teneur totale en métal dans le sol et de la quantité des différents constituants réactifs mais aussi du pH. En effet, celui-ci contrôle les charges présentes à la surface de la matière organique et des oxy-hydroxydes et des argiles. En condition de pH acide, la mobilité des cations est due essentiellement à la compétition avec les protons. Les ions métalliques métaux donc considérés comme facilement disponibles (Kim et al. 2015).

La capacité d'échange cationique (CEC) correspond, pour un pH donné, à la quantité maximale de charges négatives portées par ses constituants. La CEC va dépendre de la nature et de la quantité de matière organique et d'argiles présentes dans les sols.

La disponibilité des métaux est influencée également par d'autres paramètres physicochimiques qui vont jouer sur la spéciation tels que les conditions d'oxydo-réduction et le carbone organique dissous (Kim et al. 2015; Koster et al. 2005).

### 3. Transfert sol-Plante

Le transport des ions métalliques vers la racine se réalise soit par convection ou soit par diffusion du métal à travers la solution de sol en réponse à un gradient de concentration. (Peijnenburg et al. 2000). Ainsi, le prélèvement du métal de la plante va résulter de la somme du flux convectif et du flux diffusif. Par ailleurs, il a été estimé que le prélèvement par la plante du métal se fait sous la forme ionique pour la majorité des métaux et métalloïdes (Denaix, 2007).

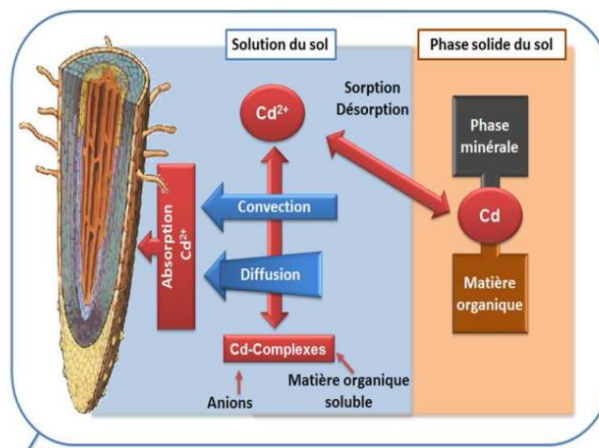


Figure 3 Absorption du Cd par la racine de la plante (Nguyen et Denaix, 2016)

L'absorption des plantes dépend non seulement de la disponibilité environnementale du métal dans la solution du sol et des mécanismes d'absorption des plantes, mais aussi du pouvoir tampon du sol, c'est-à-dire la capacité de la phase solide du sol à réapprovisionner la solution du sol en métal. La plupart des tissus végétaux accumuleront plusieurs fois la quantité de métal disponible dans la solution du sol à un moment donné. En effet, la solution du sol est « vidée » et réapprovisionnée plusieurs fois en un seul jour.

Le prélèvement d'ions métalliques par la plante peut être réalisé soit au niveau de l'apex des racines, soit sur toute la surface de la racine. Les ions métalliques au moment du prélèvement, peuvent être adsorbés au niveau de l'épiderme ou bien être absorbés et pénétrés dans les cellules par des transporteurs. Dans la racine, les ions métalliques empruntent soit la voie apoplasmique, c'est-à-dire qu'ils sont retrouvés dans les espaces entre les parois cellulaires ou soit la voie symplasmique, qui leur permet de pénétrer dans les cellules racinaires. Le cadmium pénètre dans les cellules par l'intermédiaire de transporteurs actifs de zinc ou de calcium.

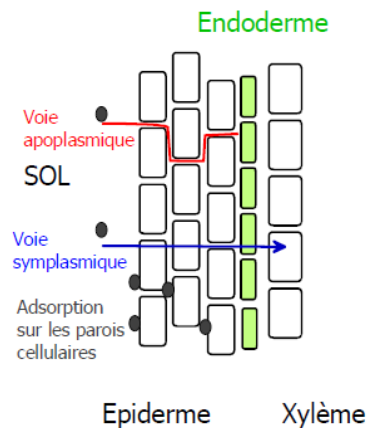


Figure 4 Schéma des voies de transferts des métaux de la solution de sol vers la racine (Denaix, 2007)

Les caractéristiques du sol, les métaux et les substances organiques présents dans les sols, ainsi que le pH, peuvent avoir une répercussion directe sur le comportement des plantes (l'absorption de métal et la croissance) et l'accumulation de métaux. De plus, des facteurs comme la disponibilité des éléments nutritifs et la quantité de sol exploitée par la plante peuvent avoir une influence sur les caractéristiques de croissance et donc sur l'absorption des métaux (Peijnenburg et al. 2000).

D'après Chen et al., 2008, le phénomène d'absorption de cadmium est un phénomène modulé principalement par deux facteurs, la concentration de cadmium dans le milieu de culture et les teneurs en cadmium dans la plante.

D'après Mench et Baize, la laitue est connue pour sa capacité à accumuler en quantité importante du cadmium dans ses feuilles. En sol sableux acide, les teneurs en Cd des laitues sont proches de la concentration maximale réglementaire et donc à surveiller. Il est donc nécessaire de pouvoir estimer la biodisponibilité du Cd pour la laitue dans les sols.

### III. Les capteurs passifs

L'utilisation de capteurs passifs a comme objectif d'estimer des flux de métaux afin d'avoir une réponse plus intégrative qu'une seule mesure de concentration. Dans les sols, ces capteurs vont prélever les éléments dans la solution, en fonction de la spéciation de l'élément et des propriétés de sorption de la phase sorbante du capteur passif, abaissant ainsi la concentration en solution à la surface du capteur. Il se crée ainsi un gradient de réalimentation de la phase liquide à partir de la phase solide,

par désorption des éléments présents sur les sites d'échange. Ce capteur mime ainsi les processus de diffusion créée par la plante lors du prélèvement (Lehto et al. 2006) et peut ainsi estimer la quantité de métal biodisponible. La biodisponibilité des métaux pour les plantes et la quantité de métaux labiles dans les sols étaient habituellement évaluées soit à l'aide de méthodes d'extraction simples ou séquentielles, soit en mesurant les concentrations en solution dans le sol ou bien à l'aide de la méthode d'échange de dilution isotopique. Cependant, ces méthodes dépendent des caractéristiques physicochimiques du sol et ne tiennent pas compte de l'appauvrissement à l'interface racine-sol et du réapprovisionnement induit par l'épuisement du sol (Wang et al. 2016).

## 1. Le dispositif Diffusif Gradient in Thin film (DGT)

### a) Généralités

La technique DGT *in situ* a été développée, pour mesurer quantitativement les espèces métalliques labiles dans le sol, les sédiments et l'eau sans perturbation et prétraitement (Davison et Zhang 2012). Le dispositif DGT permet l'accumulation de métaux en continu sur un temps d'exposition défini. Le capteur DGT est composé d'un gel de diffusion et d'un gel incorporant des phases sorbentes. Dans le cas des métaux, le gel utilisé est un gel de polyacrylamide dans lequel est incorporé des billes de résine échangeuses d'ions de type Chelex qui est capable de chélater les ions métalliques (Zhang et Davison, 1995).

Dans la pratique, le dispositif DGT est composé d'un piston en plastique sur lequel est déposé le gel de polyacrylamide Chelex (Chelex 100) puis recouvert d'un gel de polyacrylamide permettant la diffusion des ions métalliques et d'un filtre protecteur à travers lequel les ions peuvent diffuser librement (figure 4).

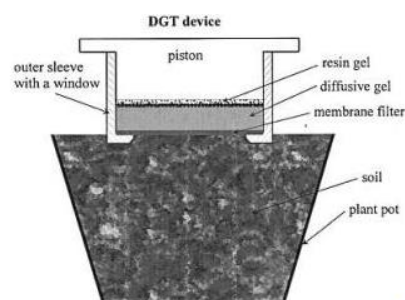


Figure 5 Représentation schématique d'un dispositif DGT (Zhang et al. 2001)

### b) Principe de fonctionnement du dispositif DGT

Comme les plantes, le dispositif DGT abaisse localement la concentration de métal dans la solution du sol via un flux diffusif des ions métalliques dans le gel Chelex. Cette diffusion est faite de façon passive et l'accumulation du métal dans la gel Chelex peut être modélisée par la deuxième équation de Fick.



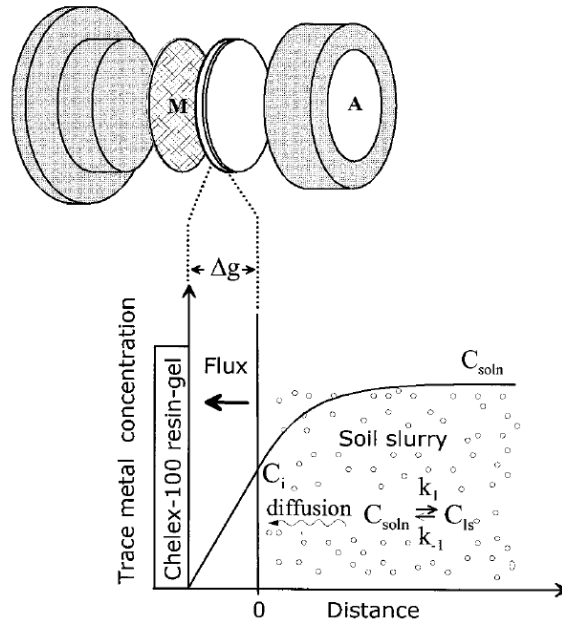


Figure 6 Processus induits par le déploiement du dispositif DGT sur un sol (Ernsberger et al., 2002).  $C_{soln}$  = Concentration en solution,  $C_{ls}$  = concentration dans le sol,  $\Delta g$ , épaisseur du gel de diffusion.

Du fait de l'abaissement local de la concentration en métal, il existe un gradient de diffusion continu. En effet, un réapprovisionnement en ions métalliques près de la surface du dispositif DGT a lieu à partir de la dissociation rapide du métal des complexes dans la solution de sol et à la désorption du métal de la phase solide du sol dans la solution de sol (Ernsberger et al., 2002). Ceci reflète le processus de diffusion qui a lieu dans la zone racinaire de la plante (Lehto et al., 2006; Koster et al. 2005).

Il a été montré que la mesure de la concentration DGT est fortement corrélée avec la concentration en métal dans les plantes *Lepidium heterophyllum* (Zhang et al., 2001), *Elsholtzia splendens* et *Silene vulgaris*, (Song et al. 2004) et l'orge (Tandy et al. 2011). Les travaux de Koster et al., 2005 montrent une bonne corrélation entre la disponibilité du zinc mesuré par DGT et le flux d'absorption du zinc par la laitue et le trèfle (Koster et al., 2005).

D'après Denaix et al., 2006, la concentration mesurée par DGT s'avère être le meilleur indicateur de la concentration en Zn et Cd des parties aériennes de laitue. Un coefficient de détermination élevé a été trouvé entre l'absorption du Cd par le dispositif DGT et la concentration dans le blé (Nolan et al., 2005), et dans le radis (Dočekalová et al., 2005). Zarrouk et al. 2014 ont également réussi à prédire l'accumulation de Cd dans le blé dur en combinant la mesure DGT avec la mesure de la surface racinaire. Les travaux de Tian et al., 2008 indiquent que la mesure DGT est bien corrélée aux concentrations en Cd, Cu, Pb et Zn des racines ou des grains de riz cultivés en champ.

### *c) Avantages et limites de la performance du dispositif DGT*

L'utilisation de la DGT présente de nombreux avantages : mesure intégrative au cours du temps, et analyse à de très faibles niveaux de concentration de plusieurs ETM (Mazzella et Coquery, 2008). Cependant, les dispositifs DGT possèdent une surface constante pour absorber les métaux, alors que l'absorption des métaux par les racines varie selon l'espèce végétale, le stade de développement de la plante, son état nutritionnel ou la phytotoxicité du sol (Zarrouk et al. 2014).

Dans certains cas, la technique DGT, peut se révéler peu sensible et peu reproductible. En effet, en raison de la différence entre les types de sol utilisés et les différentes concentrations en métaux, il existe une variation importante de la performance de la DGT pour l'évaluation de la fraction biodisponible varie beaucoup (Cornu et Denaix 2006; Almås et al. 2006; Nolan, Zhang, et McLaughlin 2005).

Degryse et al. (2009) mentionnent plusieurs raisons possibles pour lesquelles les flux de diffusion mesurés par DGT n'équivalent pas nécessairement à l'absorption par les plantes : la différence de teneur en humidité, c'est-à-dire la teneur en humidité est habituellement plus élevée pendant les mesures DGT, le flux DGT dépend du temps de déploiement, et les différences entre la géométrie des racines et la DGT.

## **2. Un nouveau capteur passif : Diffusive MilliGels (DMG)**

### *a) Généralités*

Compte tenu des limites des performances des DGT, un nouveau capteur passif a été développé par l'IPREM: le Milli-Gel Diffusive (DMG) (référence). Ce capteur est composé de billes contenant une résine complexante (Chelex 100) incorporée dans un gel de polyacrylamide. Chaque bille présente au sein du capteur, piège donc les métaux. La composition du capteur est similaire à celle du gel chélatant des dispositifs DGT, cependant le principe de fabrication et leur géométrie sont différents.

Les capteurs DMG ont été synthétisés en utilisant un procédé millifluidique. Il permet la synthèse de petites billes de polymères possédant un diamètre d'environ un millimètre. Grâce à cette technique, la composition de chaque lot de synthèse est strictement identique.

L'objectif principal de ce nouveau type de capteur est l'amélioration du piégeage des métaux et l'obtention d'un contact favorisé entre l'échantillonneur passif et le sol. Dans ce but, le capteur DMG présente une géométrie sphérique avec un petit diamètre afin de disposer d'une surface d'échange élevée et un rapport aire/volume optimal. Cette géométrie sphérique conditionne notamment la diffusion des métaux au sein du capteur passif. Elle va se faire selon trois dimensions contrairement à la DGT où elle s'effectue en deux dimensions.

Afin de déployer le capteur, il faut que celui-ci soit enterré dans le sol. De cette manière, toute la surface des billes est en contact avec le sol et la surface d'échange est considérablement augmentée par rapport à celle de la DGT. L'augmentation de la surface d'exposition permet également une augmentation de la sensibilité.

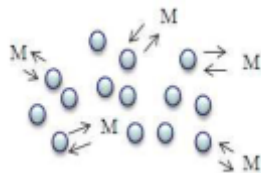


Figure 7 Billes du capteurs passifs DMG

Ces capteurs ont été testés dans le cadre de la thèse de Magalie Perez. Afin d'optimiser les conditions de préparation, le broyage des particules de Chelex a été nécessaire afin d'être incorporées dans le milligel. Le broyage n'a eu aucune influence sur la capacité de la Chelex à capturer les ions  $\text{Cu}^{2+}$ .

Afin d'évaluer les caractéristiques et les performances de ce nouveau type de capteur, trois types de billes DMG ont été synthétisés : les DMG-N sans incorporation de Chelex, les DMG-A avec incorporation de 7,5 % Chelex et DMG-B avec incorporation de 15% de Chelex. Les DMG-N induisent une légère absorption du cuivre, ce qui peut s'expliquer par une diffusion simple de cuivre dans le gel. Concernant les DMG-A et DMG-B, la capacité de piégeage du cuivre était directement liée à la quantité de Chelex.

Les capteurs DMG ont été capables d'adsorber des ions  $\text{Cu}^{2+}$  en solution aqueuse avec une bonne répétabilité pour trois temps d'exposition. Les capteurs DMG ont ensuite été testés pour quantifier du cuivre dans cinq sols viticoles possédant des caractéristiques différentes et une pollution en cuivre reconnue. Pour ce faire, les billes DMG ont été placés dans entre deux compresses de gaze.

Afin de déterminer si le capteur DMG est un bon indicateur de biodisponibilité, Magalie Perez a comparé la quantité de cuivre absorbé par le capteur DMG et la quantité de cuivre extraite à l'EDTA. Cette comparaison a mis en évidence une corrélation significative entre les quantités de cuivre mesurées par le capteur et extraite à l'EDTA. Magalie Perez en a donc déduit que le capteur passif DMG pourrait être utilisé comme indicateur d'évaluation de la labilité du cuivre dans les sols.

Cependant, en fonction des caractéristiques physico-chimiques de chaque sol, les quantités de cuivre retenues dans le capteur DMG étaient variables. En effet, la capacité des DMG à adsorber le cuivre est fortement influencée par le pourcentage d'humidité du sol et le temps d'exposition. L'absorption de cuivre par le capteur DMG dans un sol à 30% d'humidité est significativement plus faible que l'absorption avec une humidité de 60%.

Par ailleurs, différents temps d'exposition des dispositifs DMG ont été testés avec une humidité du sol à 60%. Aucun temps d'exposition n'a été déterminé comme le temps optimal pour l'utilisation des capteurs DMG.

*b) Comparaison DMG et DGT*

Afin de mettre en évidence l'intérêt des DMG, les valeurs obtenues entre le capteur DMG et le dispositif DGT ont été comparées. Les expériences ont été réalisées dans deux solutions de sols bien agitées, à 23°C et pendant 24 heures.

Ces expériences ont montré des différences significatives entre les deux capteurs. La quantité de cuivre retenue par le dispositif DGT représente environ 25% de celle retenue par le capteur DMG. Selon Magalie Perez, cette différence peut être expliquée par la géométrie sphérique du capteur DMG. La surface d'échange élevée du capteur DMG permettrait une absorption plus efficace du cuivre dans le sol. D'après Magalie Perez, la comparaison des deux capteurs met donc en évidence, une meilleure capacité du capteur DMG à absorber le cuivre, avec des concentrations relativement proches de celle de la solution du sol.

Cependant, cette forte corrélation entre les concentrations en cuivre retenue par la DMG et la solution de sol montre que l'utilisation de ce dispositif n'apporte aucune information supplémentaire par rapport à la concentration mesurée dans la solution de sol. Le capteur DMG surestimerait donc la quantité de cuivre biodisponible présente dans les sols.

## Démarche expérimentale

Au vue de la contribution importante des végétaux à la contamination alimentaire en cadmium pour les consommateurs, il a été décidé de déterminer la biodisponibilité de ce métal vis-à-vis de la laitue. Cette espèce a été choisie puisqu'elle accumule des métaux à des niveaux relativement élevés dans ses feuilles, étant donné son efficacité d'absorption des racines et de translocation vers les pousses.

Afin de déterminer la biodisponibilité du cadmium dans les sols, deux capteurs passifs ont été utilisés : le capteur DGT, dont les performances sont déjà connues, et le capteur DMG, qui a récemment été développé et dont les performances restent à être démontrées.

L'état des connaissances a montré que le capteur DMG était capable d'absorber du cuivre en solution aqueuse et dans des sols viticoles. Différents temps d'exposition des dispositifs DMG ont déjà été testés sur des sols viticoles mais aucun temps d'exposition n'a été déterminé comme le temps optimal pour l'utilisation des capteurs DMG. De plus, la réponse de ce capteur n'a pas été comparée au prélèvement par un végétal, et donc sa potentialité pour évaluer la biodisponibilité n'a pas encore été testée.

La comparaison entre les réponses du capteur DMG et du capteur DGT a été réalisée seulement en solution de sols pour une durée d'exposition de 24 heures. La concentration en cuivre mesurée par le capteur DMG était amplement plus élevée que celle mesurée par la DGT. Cette différence de concentration mesurée par les deux capteurs est-elle due à un meilleur piégeage des métaux par le capteur DMG ? La concentration en cuivre absorbée par le capteur est-elle vraiment représentative de la fraction biodisponible pour une plante ? Le capteur DMG est-il capable d'absorber d'autres métaux ?

Afin d'essayer de répondre à ces différentes questions, l'objectif de ce stage a donc été de déterminer les conditions dans lesquelles les capteurs DMG et DGT sont les plus performants et de s'assurer de leur capacité à prédire la biodisponibilité du cadmium dans différents sols en condition contrôlée et en condition de sols cultivés en serre. Les sols choisis sont issus de parcelles conduites en maraîchage, soit en agriculture biologique, soit en agriculture conventionnelle et ont été fournis par l'ITAB (Institut Technique de l'Agriculture Biologique) et le CTIFL (Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes).

Dans un premier temps, afin de déterminer les conditions dans lesquelles les capteurs DMG et DGT sont les plus performants, les performances analytiques (temps de déploiement, répétabilité, capacité d'accumulation) des dispositifs ont été testées en conditions contrôlées.

Pour cela, deux expérimentations ont été réalisées. La première ayant pour objectif de déterminer le temps optimal de déploiement des deux capteurs en condition contrôlée sur un sol. La deuxième ayant pour but de déterminer la répétabilité de la mesure des capteurs en utilisant deux états différents du sol (frais ou sec).

Dans un deuxième temps, afin d'estimer la capacité des capteurs DMG et DGT à évaluer la biodisponibilité du cadmium vis-à-vis de la laitue, les réponses ont été examinées au cours d'une culture de laitue d'une période de 30 jours et comparées aux concentrations finales en cadmium dans la plante. Cette expérimentation a été réalisée sur 8 sols maraichers possédant des caractéristiques physico-chimiques et des concentrations en ETM différentes. La composition de la solution du sol, collectée par des bougies poreuses, la réponse DGT et DMG ont été suivies pendant un mois et les laitues ont été récoltées au bout d'un mois pour analyser la biomasse et les concentrations en cadmium des parties aériennes et racinaires et la surface des racines.

## Résultats et discussion

Un total de 8 sols maraîchers, fournis par les instituts techniques agricoles CTIFL et l'ITAB ont été utilisés dans le cadre de cette étude. Parmi ces sols, 6 sont issus de l'agriculture biologique et 2 sont issus de l'agriculture conventionnelle (Damazan et St Priest). L'utilisation de 8 sols avec des caractéristiques physico-chimiques différentes doit permettre de couvrir une gamme de variabilité de la biodisponibilité du Cd. Leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le tableau 1.

Commune de prélèvement	Argile (<2 µm)*	Limons fins*	Limons grossiers*	Sables fins*	Sables grossiers*	Matière organique*	Calcaire total*	CEC*	[Cd] totale**	pH eau**
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	cmol+/kg	mg/kg	
La Chapelle Basse Mer	78	38	18	172	694	18.8	11	6.4	0.1	7.74
St Colomban	116	151	139	187	407	48.7	0	6	0.06	6.73
Foulayronnes	391	244	214	106	45	47.8	30	22	0.23	6.23
Morlaix	141	234	391	129	70	21.9	<0.1	8.7	0.1	7.03
Saint Cassien	153	327	271	69	181	37.7	0.1	?	0.13	7.51
Peaugres	180	126	268	143	245	23	8	14	0.17	7.25
Damazán	158	?	?	?	?	10.6	?	?	0.15	7.49
St Priest	244	?	?	?	?	234	?	?	0.88	7.94

\* Données fournies par les instituts techniques

\*\* Paramètres mesurés à l'INRA au cours du stage

Tableau 1 Caractéristiques physicochimiques des différents sols utilisés pour le projet EQUAVEG

Ces sols ont donc été choisis pour leurs pH et quantité de matière organique et d'argile différents. En effet, ces caractéristiques physicochimiques sont bien connues pour influencer la biodisponibilité des métaux. Plus le pH du sol est faible, plus les ions métalliques sont biodisponibles. La variation du pH entre les sols est comprise entre 6,2 et 7.9. Cette variation va permettre en théorie de jouer sur la biodisponibilité du Cd dans les différents sols. Concernant le pourcentage d'argile et de matière organique, plus celui-ci est faible, plus les ions métalliques sont biodisponibles. En effet, la matière organique peut influencer l'acidité du sol. De plus, elle peut adsorber efficacement les ions métalliques par complexation. Les argiles, quant à elles, peuvent contenir des ions entre les feuillets de phyllosilicates et également adsorber les ions sur leur surface (Deschamps et al. 2006).

La mesure des concentrations en Cd total montre une faible variation entre les sols, contrairement à ce qui était attendu. Seul le sol St Priest se démarque par rapport aux autres avec une concentration de 0,88mg Cd/kg de sol. Effectivement, il est le seul à posséder une concentration en Cd supérieure à la valeur médiane des sols français de 0,23 mg/kg (RMQS).

## I. Test des capteurs DMG et DGT en conditions contrôlées

### 1. Test des temps d'exposition des DGT et des DMG

Les capteurs DGT et DMG ont été déployés sur un même sol (Damazan, dont les caractéristiques sont résumées dans le tableau 1) à différents temps d'exposition, en conditions contrôlées (humidité et température), afin de déterminer leur capacité d'accumulation du Cd et la répétabilité de la mesure au cours du temps.

Les concentrations en Cd obtenues par le capteur DGT et le capteur DMG pour les différents temps d'exposition sont présentées sur la Figure 8. Afin de pouvoir comparer des dispositifs de géométries différentes, les concentrations en Cd mesurées ont été rapportées à la quantité de résine Chelex dans chacun des dispositifs. Pour cela, les concentrations en Cd ont été divisées par la masse de Chelex dans le gel chélatant de la DGT d'une part et dans les billes DMG d'autre part.

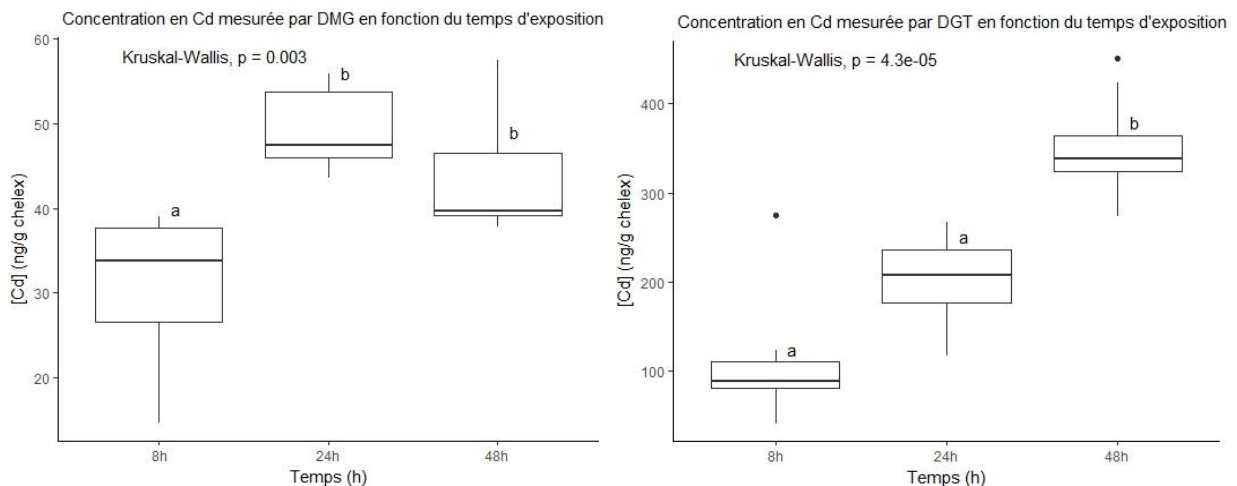


Figure 8 Evolution des concentrations en Cd obtenues par les capteurs DGT et DMG au cours du temps

Afin de déterminer s'il existe une différence significative entre les concentrations en Cd obtenues par les deux capteurs à différents temps d'exposition, un test de Kruskal-Wallis a été effectué. Ce test statistique non paramétrique a révélé pour le capteur DMG, que les concentrations en Cd obtenues à 8h sont significativement différentes de celles obtenues à 24h (p-value = 0.003) et à 48h (p-value = 0.04). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations obtenues à 24h et à 48h (p-value = 0.63). Pour le dispositif DGT, le même test statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les concentrations en Cd obtenues à 48h et celles obtenues à 8h (p-value = 2.5e-05) et 24h (p-value = 0.02). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations obtenues à 8h et à 24h (p-value = 0.17). Ainsi, pour les deux capteurs, les concentrations de Cd accumulées après 48h d'exposition sont significativement différentes de celles obtenues après 8h d'exposition.



Les deux capteurs ont montré leur capacité d'accumulation du Cd au cours du temps. Cette observation n'est pas inattendue, puisque la résine Chelex, contenue dans les deux capteurs, chélate les cations métalliques. Ainsi, les ions  $\text{Cd}^{2+}$  vont s'accumuler au cours du temps dans la résine Chelex.

Pour les différents temps d'exposition testés, une comparaison des concentrations en Cd mesurées par les capteurs est présentée en figure 9.

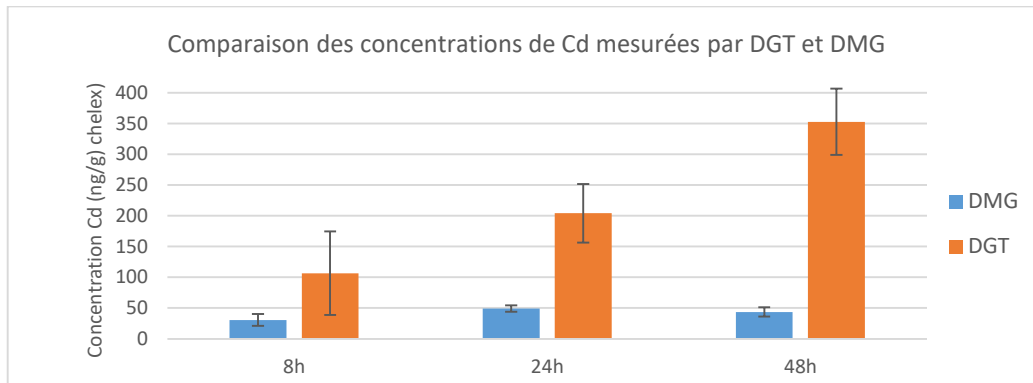


Figure 9 Comparaison des concentrations de Cd mesurées par les deux capteurs passifs

Cette comparaison montre que les deux capteurs DGT et DMG n'accumulent pas la même quantité de Cd. La mesure DGT permet d'obtenir une concentration de Cd 3 fois plus importante que la mesure DMG après 8h d'exposition. Cette différence augmente avec le temps d'exposition. En effet, le capteur DGT a accumulé 4 fois plus que le capteur DMG après 24h d'exposition, et 8 fois plus après 48h d'exposition. Ainsi, le capteur DGT a tendance à accumuler du Cd au cours du temps. Cette tendance n'est pas observée pour le capteur DMG, ce qui explique que les deux capteurs DGT et DMG n'accumulent pas la même quantité de Cd.

Cette différence d'accumulation peut s'expliquer par une surface d'exposition moins importante pour le capteur DMG. Les billes DMG possèdent un diamètre de 1 mm et donc une surface de  $0.09 \text{ cm}^2$ . Le gel Chelex présent dans le capteur DGT possède, quant à lui, une surface de  $4.9 \text{ cm}^2$ . De plus, la présence d'un sachet de thé, dans lequel sont présentes les billes DMG, peut entraîner un contact insatisfaisant de celles-ci avec le sol. Par ailleurs, elles peuvent se retrouver collées entre elles. Ainsi, il est possible d'émettre l'hypothèse que la diffusion ne s'effectue pas sur la totalité de la surface de la bille.

Les coefficients de variation des concentrations mesurées par les deux capteurs ont été calculés afin de déterminer quel temps de déploiement du capteur permet d'obtenir une mesure répétable des concentrations en Cd pour la suite des expérimentations (Figure 10).

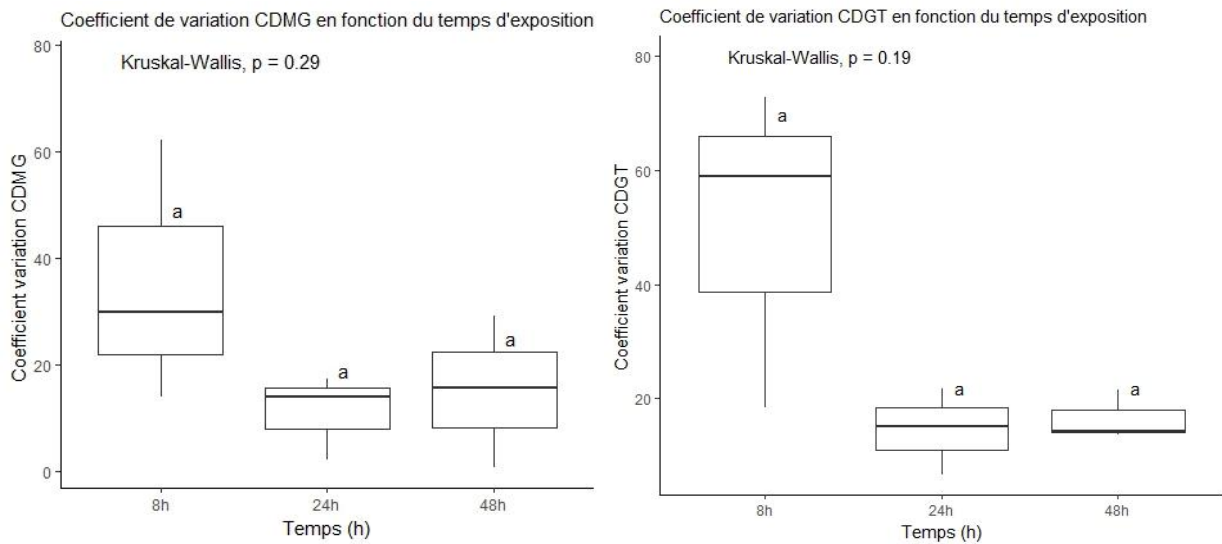


Figure 10 Evolution du coefficient de variation des concentrations en Cd au cours du temps d'exposition

La figure 3 montre que le coefficient de variation a tendance à diminuer au cours du temps. Cependant, cette tendance n'est pas significative d'après un test statistique de Kruskal-Wallis pour le capteur DMG (p-value = 0.29) et pour le capteur DGT (p-value = 0.19).

Les coefficients de variation des concentrations mesurées par les deux capteurs montrent une tendance à une plus faible variabilité à partir de 24h. Le temps d'exposition de 24h étant un temps intermédiaire, celui-ci a été retenu pour réaliser les deux expérimentations qui ont suivies celle-ci.

## 2. Test de la gamme de réponse des capteurs sur deux états du sol en condition contrôlée

Pour cette expérimentation, les analyses des capteurs DMG n'ayant pu être réalisées, seuls les résultats des mesures DGT seront présentés et discutés.

Afin d'estimer si l'état du sol a un effet sur la capacité du dispositif DGT à mesurer la concentration en Cd biodisponible, 3 sols ayant des caractéristiques physico-chimiques différentes ont été choisis : Foulayronne, Morlaix et St Priest (Tableau 1).

Avant d'être réhumectés à 100% de la capacité au champ pour effectuer la mesure DGT, les 3 sols étaient dans deux états différents : sec (séché à 70°C) et frais (conservé aux conditions d'humidité du champ). Afin de déterminer si l'état du sol a un effet sur l'accumulation en Cd par le dispositif DGT, un test de Kruskal-Wallis a été effectué (Figure 11).

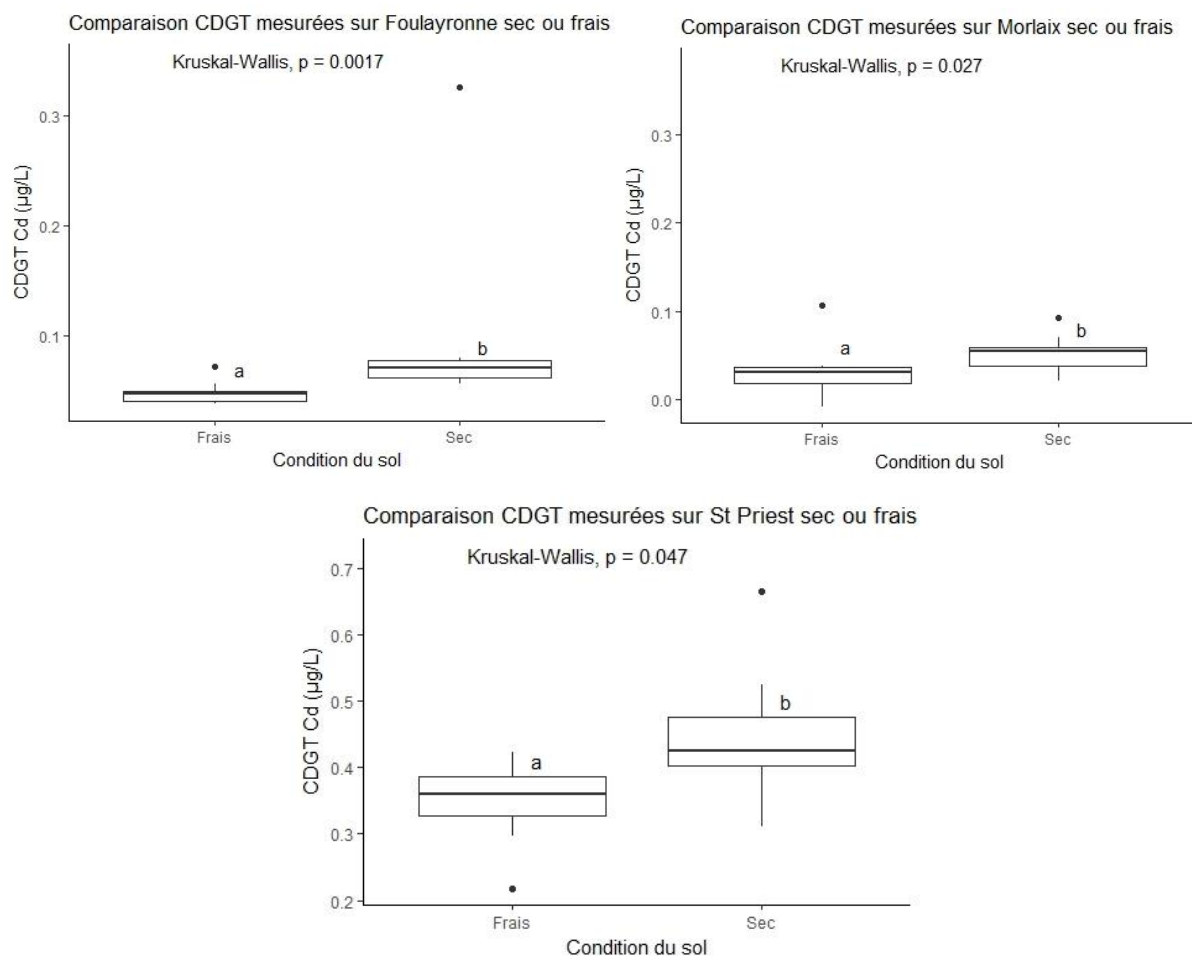


Figure 11 Comparaison des concentrations en Cd mesurées par DGT sur deux états différents du sol

Ce test statistique a montré que l'état du sol a un effet significatif sur les concentrations en Cd mesurées par DGT pour les 3 sols étudiés. Effectivement, les concentrations en Cd sont significativement plus élevées lorsque le sol a été séché. Le même phénomène a également été observé au niveau de la solution du sol.

Le séchage des sols permet d'obtenir des sols qui se trouvent dans les mêmes conditions et donc de permettre la standardisation de la mesure DGT. Cependant, au travers des résultats de cette expérience, il a été montré que sécher le sol a pour effet de surestimer la concentration en Cd biodisponible. Ceci s'explique par la reprise de la minéralisation des matières organiques lors de la réhumectation, qui conduit souvent à augmenter temporairement la concentration de métaux en solution (Cornu et al., 2011). Ainsi, il est plus pertinent d'utiliser le dispositif DGT avec des sols qui sont à l'état frais qu'avec des sols qui ont été séchés. Pour l'expérience suivante, il a donc été décidé d'utiliser des sols frais pour réaliser la mesure de la biodisponibilité du Cd par les capteurs passifs. En effet, l'utilisation d'un sol frais pour la mesure DGT permet d'éviter de s'éloigner excessivement de la réalité du terrain.

Par ailleurs, la figure 5 montre que les concentrations en Cd mesurées par DGT sont plus élevées pour St Priest (CDGT ~ 0.4 µg/L) que pour les deux autres sols (CDGT < 0.1 µg/L). Un test de Kruskal-Wallis a révélé que cette différence est significative (sol frais p-value = 3e-05 ; sol sec p-value = 6.2e-05). Ce résultat était celui attendu au vue des caractéristiques physicochimiques du sol. Les concentrations en Cd mesurées par DGT entre Foulayronne et Morlaix, quant à elles, ne sont pas significativement différentes. Morlaix possède donc une biodisponibilité du Cd équivalente à celle de Foulayronne. Ainsi, une gamme de biodisponibilité du Cd n'a pas été observée comme ce qui avait été souhaité.

Afin de déterminer si la différence d'état du sol a un effet sur la répétabilité de la mesure DGT, les coefficients de variation des concentrations en Cd mesurées par DGT ont été calculés pour chacune des conditions (figure 12).

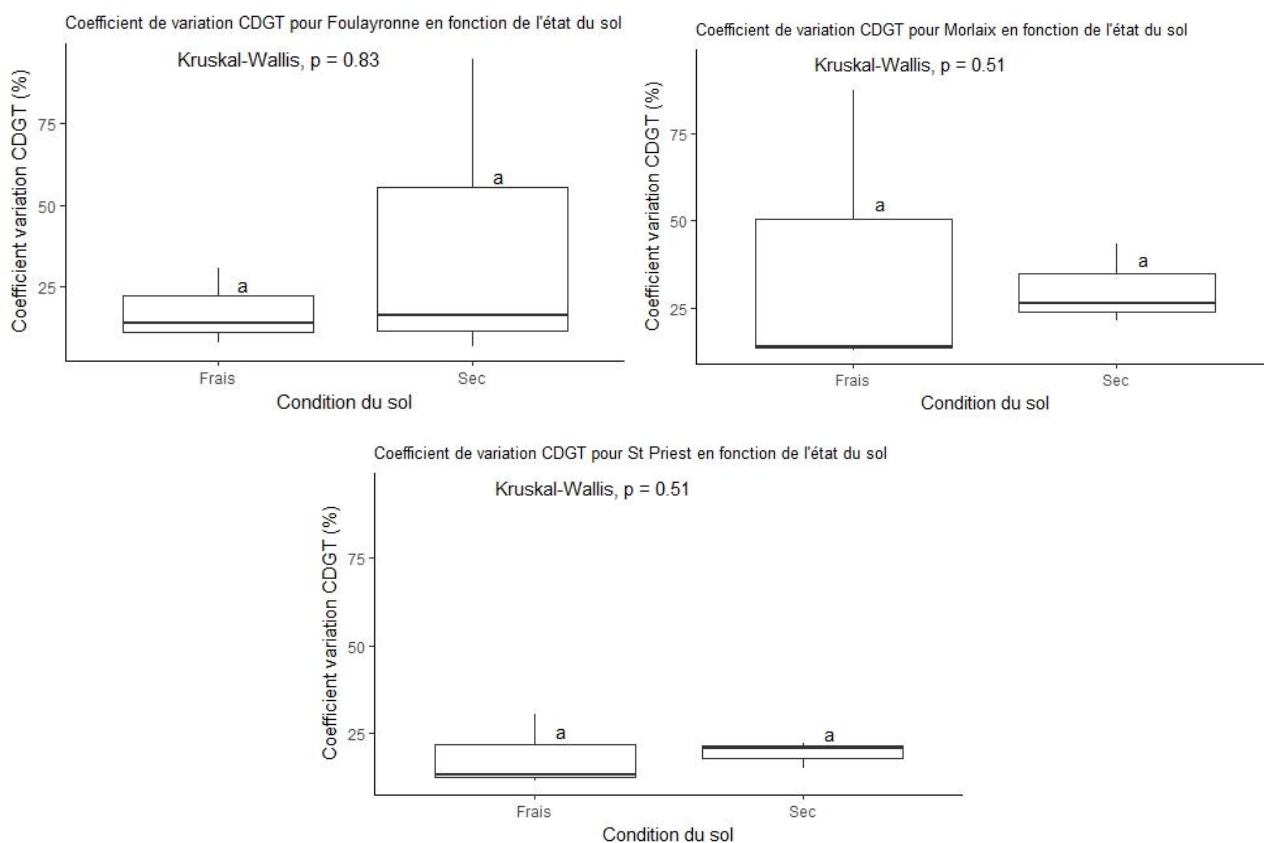


Figure 12 Comparaison des coefficients de variation en fonction de l'état du sol

Pour les trois sols étudiés, le coefficient de variation de la concentration en Cd mesurée par DGT n'est pas significativement différent entre les deux états du sol (frais et sec). Pour Foulayronne, le coefficient de variation peut atteindre 95% lorsque le sol a été séché. Pour Morlaix, le phénomène inverse est observé : le coefficient de variation peut atteindre 87% pour le sol frais. Quant à St Priest, les coefficients de variation des deux conditions, sont moins élevés et ne dépassent pas les 30%.

Les concentrations en Cd total de Morlaix et de Foulayronne sont plus faibles que celle de St Priest (tableau 1). Ainsi, la présence de faibles concentrations en Cd total dans le sol est susceptible d'être responsable de l'augmentation de la variation de la mesure DGT. L'utilisation du dispositif DGT serait donc plus adaptée à des sols présentant des concentrations en Cd total moyennes voir élevées qu'à des concentrations en Cd total faibles.

## II. Estimation de la capacité de prédiction des transferts sol-plantes en Cd par les 2 capteurs

### 1. Suivi cinétique de la biodisponibilité par les 2 capteurs

Les 8 sols présentés dans le tableau 1 ont été utilisés pour cette dernière expérimentation. Une culture de laitue a été mise en place sur ces différents sols pendant une durée de 30 jours. Pour chaque sol, 4 pots ont été utilisés avec une laitue par pot, soit 4 réplicats par sol. Afin d'assurer le suivi cinétique de la biodisponibilité du Cd, les capteurs DGT et DMG ont été déployés à 3 temps différents pendant la culture de laitue : t0, t15 et t30. Les analyses n'étant pas terminées pour les capteurs DMG, seuls les résultats obtenus par le dispositif DGT sont présentés.

La figure 13 présente les concentrations en Cd mesurées par DGT pour les 8 sols à t0. Ces concentrations sont nettement plus élevées pour deux sols : St Priest et Damazan.

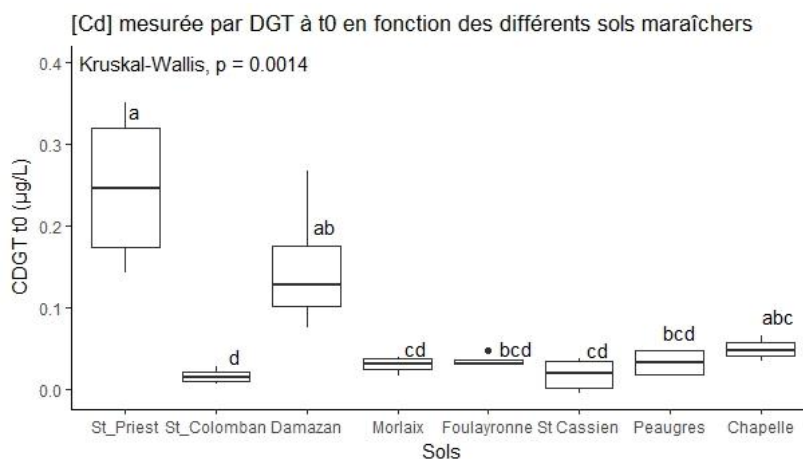


Figure 13 Comparaison de la concentration en Cd mesurée à t0 entre les différents sols

Un test de Kruskal-Wallis a montré que les concentrations en Cd mesurées à t0 par le dispositif DGT sont significativement différentes entre certains sols (Figure 13). Ainsi, les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT pour St Priest, Damazan et La Chapelle sont significativement différentes de celles de St Colomban. Par ailleurs, les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT pour Damazan sont significativement différentes de celles mesurées pour Morlaix et St Cassien. Les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT pour Morlaix, Foulayronne, St Cassien, et Peaugres sont significativement différentes de celles mesurées pour St Priest. En revanche, ces concentrations ne

sont pas significativement différentes entre elles. Ainsi, le gradient de biodisponibilité attendue n'est pas observé. Le même test statistique a montré que pour t15, les concentrations en Cd mesurées par DGT pour St Priest, sont significativement différentes de celles de La Chapelle (p-value = 0,021). Pour t30, les concentrations en Cd mesurées par le dispositif DGT pour St Priest sont significativement différentes de Morlaix (p-value = 0.0035) et de Peaugres (p-value = 0.0181). Aucune autre différence significative n'a été observée entre les concentrations en Cd mesurées à t15 et à t30 entre les différents sols. Ainsi, aucun gradient de biodisponibilité n'est observé par la mesure DGT à t15 et à t30.

Les concentrations en Cd dans les solutions de sol ont été également mesurées pour ces 8 sols à t0, t15 et t30. Pour St Priest et Damazan, les concentrations sont celles qui sont les plus importantes. Cette observation permet d'expliquer les concentrations élevées en Cd mesurées pour ces deux sols par le dispositif DGT. Un test de Kruskal-Wallis a montré que les concentrations en Cd de la solution sol de Damazan et St Priest sont significativement différentes de celles de Morlaix, St Cassien et La Chapelle (Figure 14).

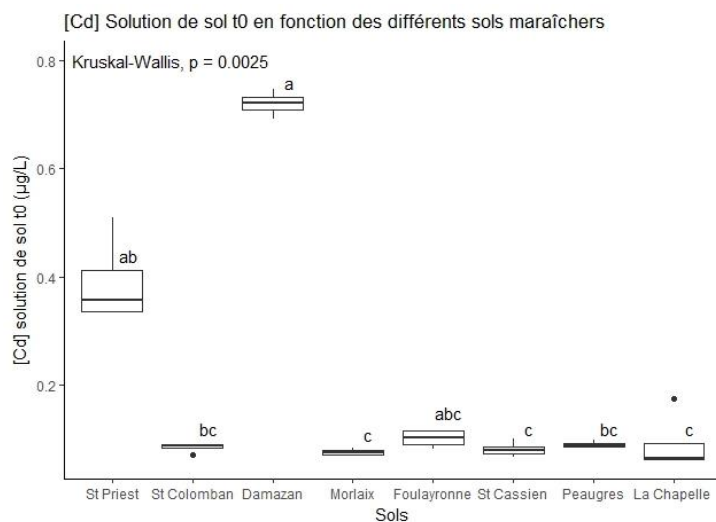


Figure 14 Comparaison de la solution de sol à t0 entre les différents sols

A t15, les concentrations en Cd de la solution de sol de Morlaix sont significativement différentes de celles de St Priest et Damazan. Par ailleurs, une différence significative existe entre les concentrations en Cd de la solution de Damazan et de Peaugres. A t30, les concentrations en Cd de la solution sol de St Priest sont significativement différentes de celles de Morlaix, et Peaugres.

Le suivi cinétique de la mesure de la biodisponibilité en Cd dans les sols par le dispositif DGT est représenté sur la figure 15.

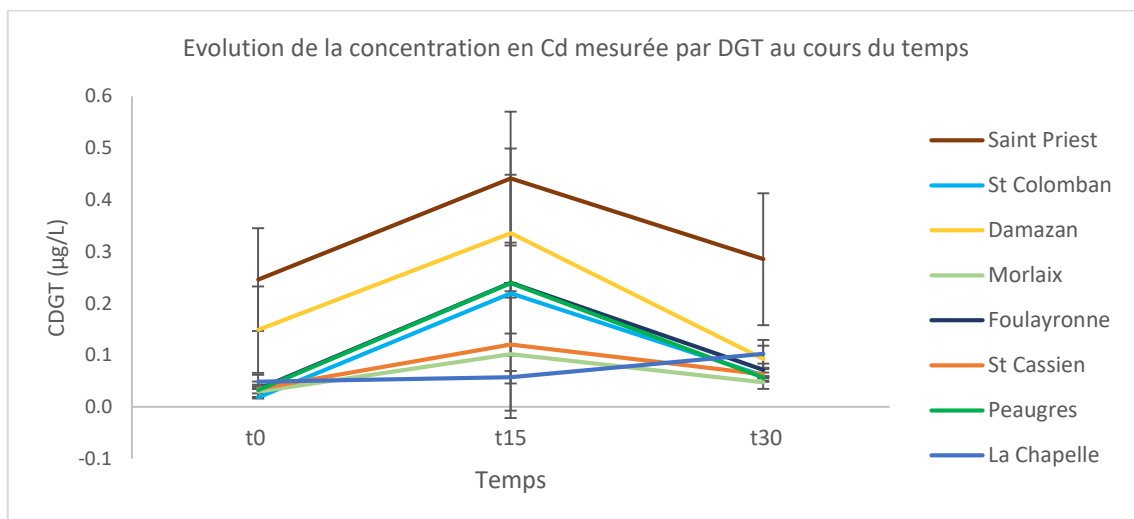


Figure 15 Suivi cinétique de la concentration en Cd mesurée par DGT

Pour tous les sols étudiés, les concentrations en Cd mesurées par DGT ne sont pas restées constantes au cours du temps. En effet, pour tous les sols sauf pour La Chapelle, une augmentation des concentrations en Cd mesurées par DGT a eu lieu entre la mesure DGT t0 et t15, suivie d'une diminution entre la mesure DGT t15 et t30. Pour La Chapelle, une autre tendance a été observée : les concentrations DGT sont restées stables entre t0 et t15 et ont ensuite augmenté entre t15 et t30.

Afin de déterminer si ces variations de la concentration en Cd mesurées par DGT sont significatives au cours du temps, une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée. Ce traitement statistique a permis de mettre en évidence que ces variations sont significatives pour certains sols : St Colomaban (p-value= 0.002), Damazan (p-value = 0.006), Foulayronne (p-value < 0.001), St Cassien (p-value < 0.001), La Chapelle (p-value = 0.006).

La concentration en Cd dans la solution de sol a également été mesurée au cours du temps (Figure 16).

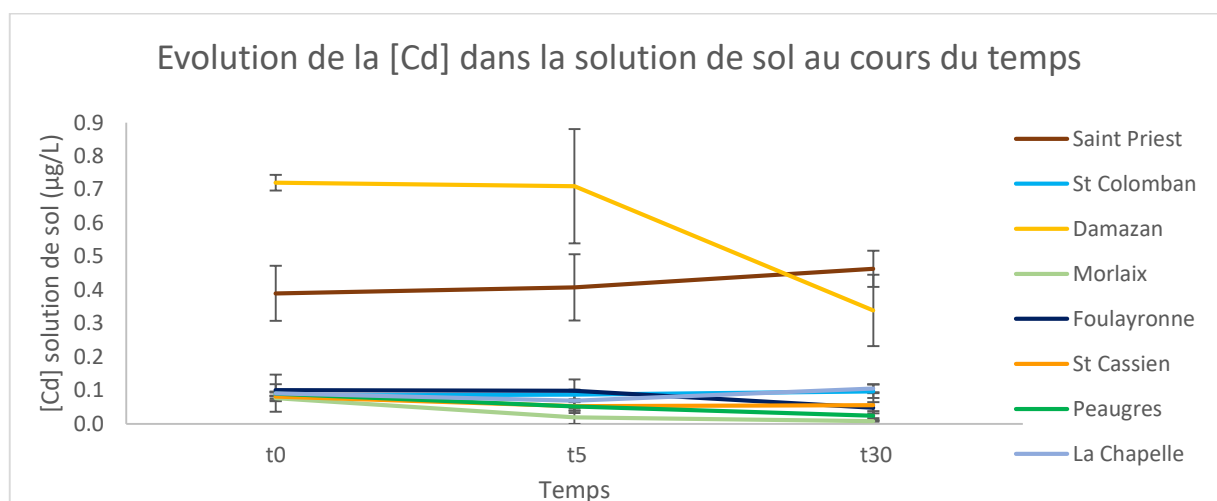


Figure 16 Cinétique de la concentration en Cd dans la solution de sol

Pour certains sols, une analyse de variance (ANOVA) a permis de mettre en évidence que les concentrations en Cd de la solution de sol sont significativement différentes au cours du temps: Morlaix (p-value < 0.001), Damazan (p-value = 0.005), Foulayronne (p-value = 0,02), Peaugres (< 0.001). Par ailleurs, l'évolution des concentrations en Cd dans la solution de sol entre t0 et t15 ne semblent pas expliquer l'augmentation des concentrations en Cd mesurées par DGT à t15.

Le suivi cinétique du pH de la solution de sol a aussi été réalisé pour les 8 sols (Figure 17).

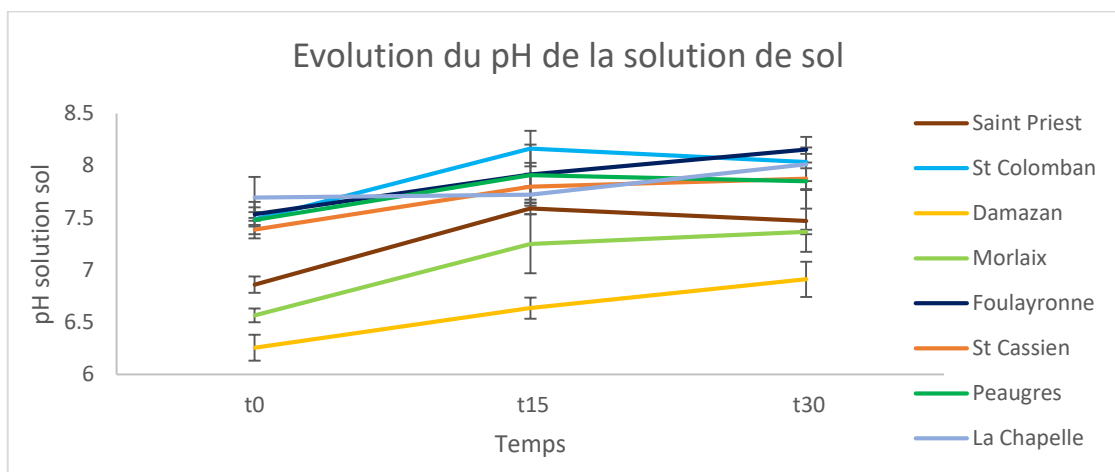


Figure 17 Evolution du pH de la solution de sol au cours du temps

Aucune variation importante du pH n'a été observée entre t0 et t15 qui aurait pu expliquer les variations significatives observées pour les concentrations en Cd mesurées par DGT sur certains sols. Cependant, une tendance à une légère augmentation du pH de la solution de sol a été observée au cours du temps. Cette tendance, d'après une analyse de variance (ANOVA), est significative pour tous les sols (p-value < 0,03) sauf pour Peaugres (p-value = 0,082). Cette tendance peut être expliquée par la respiration des micro-organismes du sol. En effet, le CO<sub>2</sub> produit par les organismes va former avec les protons H<sup>+</sup> du bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et de l'acide carbonique (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), diminuant ainsi la concentration en protons H<sup>+</sup> et entraînant une augmentation du pH du sol.

Les concentrations du Cd et le pH de la solution de sol n'ont pas permis d'expliquer les variations des concentrations en Cd mesurées par DGT. L'expérimentation étant réalisée en serre, la température du sol au moment des mesures DGT n'était pas contrôlée. Les variations des températures du sol au cours du temps sont présentées sur la figure 18.



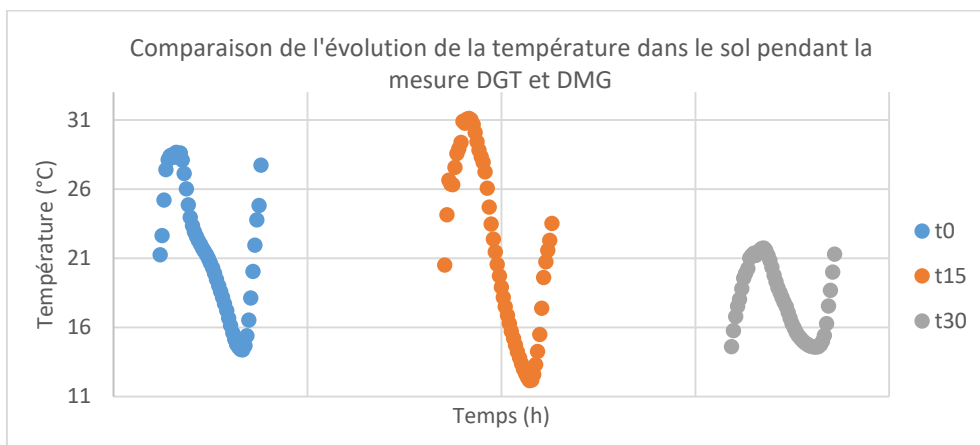


Figure 18 Comparaison de l'évolution de la température au cours des mesures DGT

Au moment de la mesure à t15, les variations de températures du sol entre le jour et la nuit ont été plus importantes qu'au moment de la mesure DGT à t0 et t30. De plus, les températures ont été plus élevées à t15 qu'à t0 et à t30. Les températures du sol à t15 ont atteint 31°C en milieu de journée, ce qui a entraîné un assèchement de certains sols pendant la mesure DGT. Ces conditions peuvent peut-être expliquer les variations obtenues pour les concentrations en Cd mesurées par DGT.

Cette forte variation de température sera peut-être également observée pour la mesure DGT sur les sols en plein champ. Ainsi, pour la suite du projet EQUAVEG, sur le terrain, ce facteur devra être pris en compte. Il est possible d'imaginer de placer le dispositif DGT à l'intérieur du sol, afin d'éviter de réaliser la mesure sur la couche supérieure du sol. En effet, celle-ci est directement en contact avec le milieu extérieur et subit de fortes variations de température entre le jour et la nuit. De plus, en cas de forte température, elle est rapidement asséchée.

## 2. Etude de la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue

Afin de déterminer la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue, une culture a été mise en place sur les 8 sols fournis par les instituts techniques agricoles (Tableau 1). De façon à obtenir 4 réplicats par sol, 4 pots par sol ont été préparés. Une plante par pot a été plantée et récoltée au bout de 30 jours (t30). Ainsi, pour chacun des sols, les moyennes des biomasses sèches, ainsi que les moyennes des concentrations en Cd (exprimées en mg/kg de matière sèche) sont présentées pour les parties aériennes et les parties racinaires dans le tableau 2. Afin d'obtenir des concentrations en Cd dans les feuilles exprimées en mg/kg de matière fraîche, les concentrations en Cd dosées dans les feuilles séchées ont été rapportées à leur masse fraîche (Tableau 2).

	MS Feuilles	MS Racines	[Cd] Feuilles	[Cd] Racines	[Cd] Feuilles
	g	g	mg/kg de MS	mg/kg de MS	mg/kg de MF
<b>St Priest</b>	6.24 ( $\pm 2.7$ )	2.84 ( $\pm 1.57$ )	0.4 ( $\pm 0.14$ )	0.45 ( $\pm 0.18$ )	0.04 ( $\pm 0.01$ )
<b>St Colomban</b>	2.48 ( $\pm 0.62$ )	1.75 ( $\pm 0.6$ )	0.11 ( $\pm 0.02$ )	0.08 ( $\pm 0.01$ )	0.02 ( $\pm 0$ )
<b>Damazan</b>	3.03 ( $\pm 2.05$ )	1.15 ( $\pm 0.9$ )	0.33 ( $\pm 0.14$ )	0.43 ( $\pm 0.03$ )	0.04 ( $\pm 0.01$ )
<b>Morlaix</b>	2.73 ( $\pm 1.61$ )	1.61 ( $\pm 0.48$ )	0.35 ( $\pm 0.02$ )	0.3 ( $\pm 0.05$ )	0.05 ( $\pm 0.01$ )
<b>Foulayronne</b>	8.06 ( $\pm 0.67$ )	2.63 ( $\pm 0.47$ )	0.32 ( $\pm 0.02$ )	0.27 ( $\pm 0.04$ )	0.03 ( $\pm 0$ )
<b>St Cassien</b>	4.53 ( $\pm 0.73$ )	2.24 ( $\pm 0.26$ )	0.32 ( $\pm 0.02$ )	0.35 ( $\pm 0.03$ )	0.04 ( $\pm 0$ )
<b>Peaugres</b>	7.64 ( $\pm 0.45$ )	2.58 ( $\pm 0.81$ )	0.35 ( $\pm 0$ )	0.2 ( $\pm 0.03$ )	0.04 ( $\pm 0$ )
<b>La Chapelle</b>	3.49 ( $\pm 0.23$ )	2.24 ( $\pm 0.54$ )	0.18 ( $\pm 0.02$ )	0.16 ( $\pm 0.02$ )	0.02 ( $\pm 0$ )

Tableau 2 Moyennes des biomasses et des concentrations en Cd pour les laitues de chaque sol (écarts-types entre parenthèses)

Un test statistique de Kruskal Wallis a permis de mettre en évidence que la biomasse sèche totale des laitues cultivées n'est pas significativement différente entre les sols ( $p$ -value = 0,0051). Cette observation peut s'expliquer par la forte variabilité de la biomasse des laitues au sein d'un même sol (Figure 19).

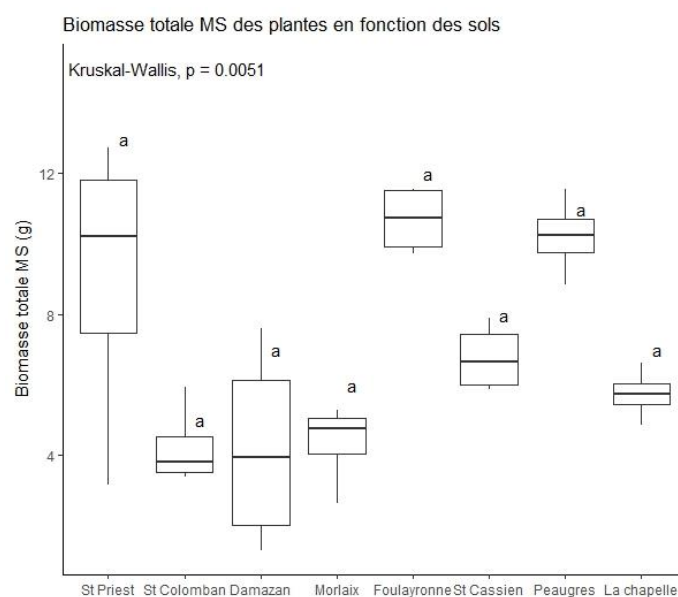


Figure 19 Biomasse totale des plantes séchées pour les différents sols

Toutefois, il a été possible d'observer des biomasses plus importantes pour les laitues cultivées sur les sols St Priest, Foulayronne et Peaugres. Cette différence de biomasse n'est pas liée à un effet de toxicité du Cd pour les sols qui présentent les biomasses les plus faibles. En effet, parmi les 8 sols de cette étude, les concentrations en Cd totale pour St Priest, Foulayronne et Peaugres sont celles qui sont les plus élevées. Cette différence de biomasse peut éventuellement être causée par la différence de fertilité de ces sols. La quantité de matière organique, de phosphore, de potassium entre les sols peut influencer la fertilité des sols. Le pourcentage de matière organique des sols de ces études ne

permet pas d'expliquer la différence de fertilité. La quantité de matière organique pour Foulayronne et St Colomban est quasiment équivalente (47,8 mg/kg et 48,7 mg/kg respectivement), mais la biomasse totale des laitues cultivées sur Foulayronne est plus élevée que celle des laitues cultivées sur St Colomban. Les teneurs en phosphore et potassium n'ayant pas été réalisées sur tous les sols, il n'est pas possible de conclure sur ces paramètres de fertilité des sols.

D'après le même test statistique, les concentrations en Cd dans les feuilles des laitues sont, quant à elles, significativement différentes entre les sols (Figure 20).

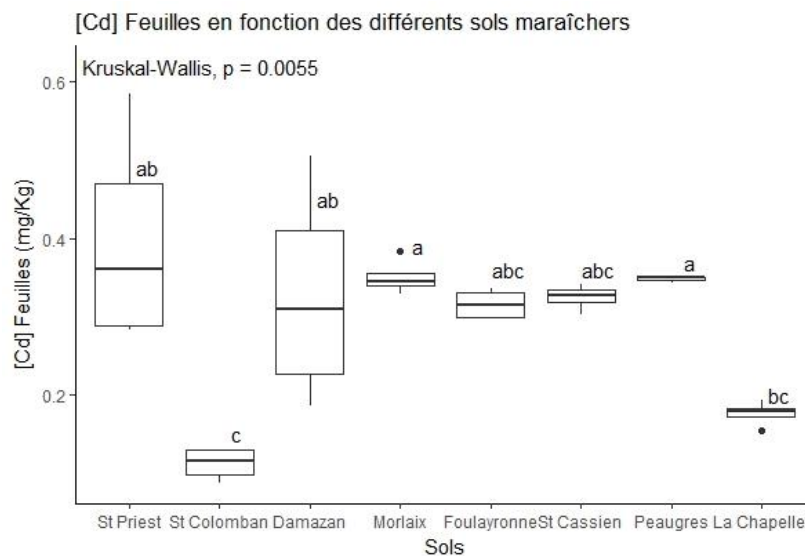


Figure 20 Concentrations en Cd dans les feuilles des laitues pour les différents sols

Les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des laitues ayant poussé sur St Priest et sur Damazan sont significativement différentes de celles des laitues ayant poussé sur Colomban. De plus, celles des laitues ayant poussé sur St Priest sont significativement différentes de celles des laitues ayant poussé sur La Chapelle. Les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des laitues ayant poussées sur Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres ne sont pas significativement différentes de celles des laitues ayant poussées sur St Priest et Damazan. Ainsi, les différences entre les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des différents sols sont moins marquées que pour celles observées par les mesures DGT.

La réglementation européenne et française (Règlement CE 1881/2006 et Directive 2002/32/CE) impose des valeurs limites en Cd dans les denrées alimentaires. La valeur maximale réglementaire des légumes-feuilles est fixée à 0.2 mg de Cd/kg de poids frais. Pour tous les sols, les concentrations en Cd dans les feuilles, exprimées en mg/kg de matière fraîche, sont inférieures à cette réglementation (Règlement CE 1881/2006).

Parmi le lot de plantules utilisées pour l'étude, trois d'entre elles n'ont pas été plantées dans les sols. Celles-ci ont permis de déterminer la biomasse moyenne et les concentrations moyennes en Cd à t0, pour les parties aériennes et racinaires (Tableau 3).

	<b>MS Feuilles</b>	<b>MS Racines</b>	<b>[Cd] Feuilles</b>	<b>[Cd] Racines</b>	<b>[Cd] Feuilles</b>
Plantules	0.52 ( $\pm 0.15$ )	0.19 ( $\pm 0.04$ )	1.43 ( $\pm 0.49$ )	2.67 ( $\pm 1.11$ )	0.17 ( $\pm 0.11$ )

Tableau 3 Moyennes des biomasses et des concentrations en Cd pour les plantules à t0 (écarts- types entre parenthèses)

Les concentrations en Cd dans les feuilles et les racines sont amplement supérieures à celles mesurées dans les plants de laitues cultivés sur les 8 sols. Le terreau dans lequel ont été semées les plantules possédait certainement des concentrations en Cd élevées. Les plantules utilisées étaient pourtant issues de l'agriculture biologique. Cependant, cette hypothèse semble la plus logique pour expliquer cette observation.

Les concentrations en Cd dans les feuilles des plantules exprimées en mg/kg de matière fraîche sont 3 fois plus élevées que celles des plantes de laitues cultivées sur les sols de l'étude. Ainsi, ces concentrations sont proches de la valeur maximale réglementaire des légumes-feuilles fixée à 0.2 mg/kg de poids frais. La diminution des concentrations en Cd entre les plantules à t0 et les plants de laitues cultivés sur les sols et récoltés à t30, doit certainement être causée par l'augmentation de la biomasse au cours de la période de culture.

### 3. Estimation de la capacité des capteurs à prédire la biodisponibilité du Cd

Afin d'estimer la capacité du capteur DGT à évaluer la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue, il est nécessaire de déterminer s'il existe un facteur de proportionnalité entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines.

Des régressions linéaires ont donc été testées afin d'identifier l'existence d'une relation entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines (Figure 21). Aucune corrélation ne se dégage lorsque l'ensemble des sols est considéré. Cependant, en observant la figure 14, il apparaît deux groupes de sols qui semblent réagir différemment vis-à-vis du capteur DGT.

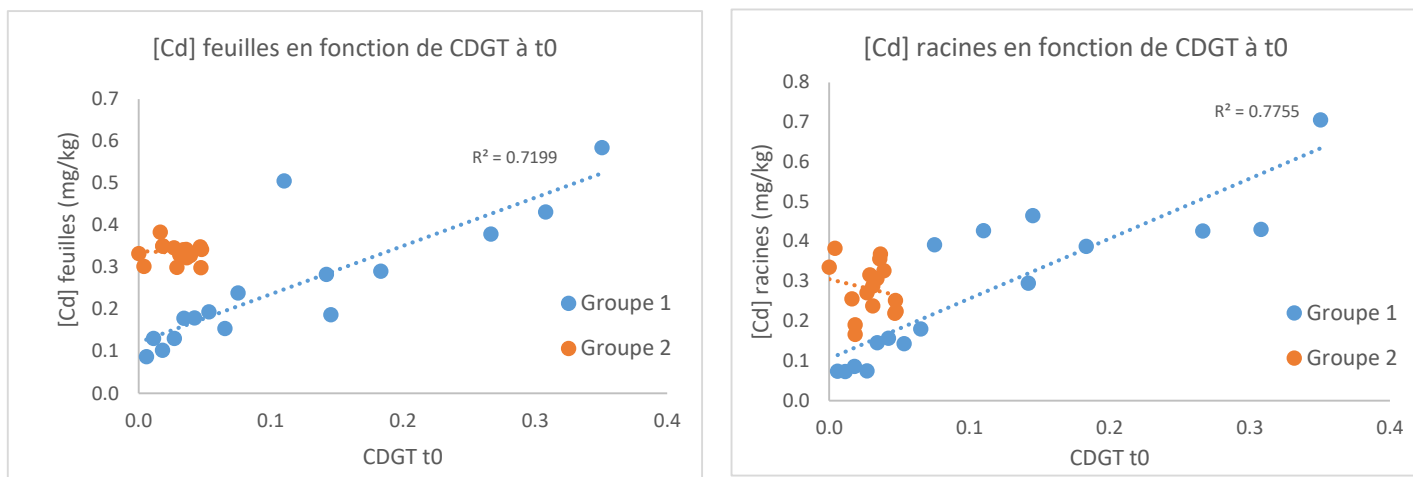


Figure 21 Régressions linéaires entre les CDGT et les quantités de Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines des laitues

Une corrélation linéaire significative existe entre les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ( $R^2 = 0,720$ ) et dans les racines ( $R^2 = 0,7755$ ) pour un groupe de 4 sols (groupe 1) : La Chapelle, St Colamban, Damazan, et St Priest. Par contre pour les autres sols (groupe 2), à savoir Foulayronne, Morlaix, St Cassien et Peaugres, les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT ne semblent pas être corrélées avec les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ( $R^2 = 0,009$ ) et dans les racines ( $R^2 = 0,035$ ). Pour les temps t15 et t30, les corrélations ne sont pas significatives par rapport à t0.

Un traitement statistique de la régression linéaire a permis de mettre en évidence que, pour le groupe 1, la corrélation linéaire entre les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ( $R^2 = 0,7199$ ) est significative ( $p\text{-value} < 0,001$ ). Cependant, à t30, la corrélation observée pour les concentrations en Cd mesurées par DGT avec les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles n'est pas significative ( $p\text{-value} = 0,097$ ). Ce résultat peut être expliqué par la perturbation du sol au cours du temps, notamment par des variations de température et d'humidité que le sol n'a pas connu à t0. La présence des laitues à t15 et à t30 pour la mesure DGT a peut être également perturbé le sol par rapport au temps t0.

Pour le groupe 2, les corrélations entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ne sont pas significatives aussi bien pour les mesures DGT à t0 ( $p\text{-value} = 0,741$ ) qu'à t30 ( $p\text{-value} = 0,28$ ).

Afin d'estimer la quantité en Cd prélevée par la laitue pendant la période de culture, le flux de Cd à travers le dispositif DGT a été multiplié par la surface racinaire des laitues et par 24h. Ce calcul, proposé par Zarrouk et al. (2014) est basé sur l'hypothèse que l'apex des racines en croissance

est la région racinaire vraisemblablement où le flux de cadmium est le plus important (Laporte et al., 2013), et donc de Cd est le plus important.

En comparant ces quantités en Cd mesurées calculées grâce au flux DGT et les quantités en Cd accumulées par la laitue, il apparaît que ces valeurs ne sont pas significativement différentes pour les sols de Damazan, Saint Priest et La Chapelle, trois sols du groupe 1. En revanche, cette comparaison montre, pour les sols du groupe 2 (Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres), une sous-estimation des quantités en Cd calculées à partir du flux DGT par rapport aux quantités en Cd réellement prélevées par la laitue (Figure 22).

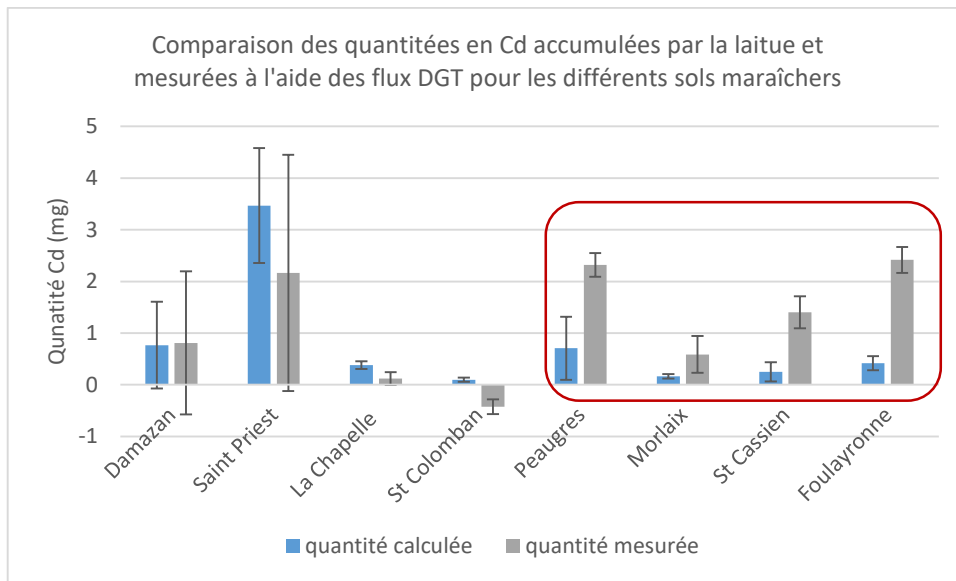


Figure 22 Comparaison des quantités en Cd accumulées par la laitue et les quantités mesurées grâce aux flux DGT

Le paramètre pH des sols ne permet pas d'expliquer la différence observée pour ces 2 groupes de sols au niveau de la mesure DGT. Effectivement, les pH des sols du groupe 1 sont compris entre 6,7 et 7,9 et ceux du groupe 2 sont compris entre 6,2 et 7,5.

Aucun paramètre pédologique (pH, matière organique, etc.) n'explique cette répartition en deux groupes. La différence de l'efficacité de la mesure DGT entre ces deux groupes de sol peut être expliquée, seulement en partie, par la granulométrie de ces sols. En effet, les sols appartenant au groupe 2 sont des sols moins sableux, qui possèdent des concentrations plus importantes en limons par rapport aux sols du groupe 1. Pour comprendre les différences entre les deux groupes, différentes hypothèses peuvent être envisagées.

Sauvé et al, (2000), ont mis en évidence que le Cd à pH 6, était en partie sous forme de complexes organiques et à des pH plus élevés, sous forme de complexes inorganiques. Il se trouve que les sols utilisés pour cette étude possèdent des pH supérieurs à 6. La plante réalise un prélèvement

actif qui peut probablement impliquer l'absorption de cadmium initialement présent sous forme de complexes en solution qui se dissocient dans la zone rhizosphérique que le capteur DGT n'est pas capable d'adsorber en tant que capteur passif. Ainsi, il est possible d'imaginer que, pour les sols du groupe 2, le dispositif DGT soit dans l'incapacité de désorber certains complexes en Cd organiques ou inorganiques de la solution de sol, que peut prélever la plante, ces complexes étant moins présents dans les sols du groupe 1.

Le transport membranaire du cadmium dans les cellules est à priori réalisé grâce à des transporteurs d'autres ions métalliques, notamment ceux du fer et du zinc et probablement aussi grâce aux canaux calcium (Aoun, 2008). Par conséquent, si la concentration en zinc dans le sol est faible, la plante va augmenter sa capacité d'absorption du zinc afin de répondre aux besoins des cellules de la plante (Zorrig et al., 2010). En augmentant sa capacité d'absorption du zinc, la quantité de Cd prélevée par la plante sera également augmentée. L'induction de l'absorption du zinc en réponse au Cd n'a été observée qu'en présence d'une faible concentration en fer dans le milieu (Thys et al., 1991).

Il serait intéressant de pouvoir déterminer s'il existe une différence des concentrations en zinc et en fer dans la solution de sol entre ces différents groupes de sols. Ainsi, une différence de ces concentrations pourrait expliquer le mécanisme de prélèvement actif du Zn et donc du Cd par la plante et dans le même temps, la différence entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et mesurées dans les feuilles pour les sols du groupe 2.

Par ailleurs, la présence de carbonates dans les sols entraîne une augmentation du pH et donc une diminution de la biodisponibilité des ions métalliques. De plus, il a été montré que pour les sols carbonatés, les capteurs DGT ne sont pas efficaces pour prédire les contaminations en Cd dans la plante. Vraisemblablement, les phénomènes d'absorption par la plante sont différents de ceux du capteur dans ces sols.

Le capteur DGT est disposé au niveau de la surface du sol afin d'effectuer la mesure. Cependant, au niveau de la rhizosphère de la plante les conditions physico-chimiques peuvent être différentes de celles présentes en surface du sol. Tout d'abord, la température du sol peut éventuellement être différente entre ces deux profondeurs du sol et les variations de température jour-nuit le sont peut être également. De plus, dans les sols agricoles, les quantités de nitrates sont importantes. Ainsi, le prélèvement en nitrate est supérieur à celui en potassium ou en calcium. Par ce phénomène, la rhizosphère peut s'alcaliniser, créant ainsi un environnement différent de celui de la surface du sol (Girard et al, 2017).

## Conclusion

Au travers de cette étude, différents temps d'exposition des capteurs DGT et DMG ont été testés. Les résultats ont permis de mettre en évidence, pour les deux capteurs passifs, une tendance à une plus faible variabilité de la mesure à partir de 24h. De plus, une différence entre les deux capteurs a pu être montrée. En effet, le dispositif DGT accumule des quantités de Cd par quantité de Chelex plus importante que le capteur DMG. Cependant, cette différence peut s'expliquer par une surface d'exposition des capteurs différente. Ainsi, afin de comparer les capteurs, il serait judicieux de comparer les flux de Cd mesurés par ces deux capteurs.

La réponse du capteur DGT a été évaluée en conditions contrôlées en fonction de l'état initial du sol, sec ou humide. Les résultats pour le dispositif DGT ont révélé que la concentration en Cd est surestimée lorsque les mesures DGT sont réalisées à partir d'un sol qui a été séché puis réhumecté pour la mesure.

Le suivi cinétique de la biodisponibilité du Cd par le capteur DGT pour des sols cultivés en serre a démontré une variation des mesures DGT au cours du temps. Cette variation n'a pas été expliquée par des variations de concentrations en Cd et du pH dans la solution de sol. Cette variation est vraisemblablement causée par des variations de température et d'humidité au cours de la mesure.

Les résultats de l'étude de la capacité des capteurs à prédire la biodisponibilité du Cd ont prouvé qu'il existe une relation entre les concentrations en Cd mesurées à  $t_0$  par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines pour un groupe de 4 sols. Pour l'autre groupe de sol (Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres), une sous-estimation des quantités en Cd calculées à partir du flux DGT a été observée par rapport aux quantités en Cd réellement prélevées par la laitue. La différence de l'efficacité de la mesure DGT entre ces deux groupes de sol n'a pas pu être expliquée.



## Perspectives

En ce qui concerne le capteur DMG, nous attendons les résultats d'analyse afin de réaliser la comparaison avec le capteur DGT pour le test des conditions d'utilisation (sol frais, sol sec) et l'expérimentation pour la culture de laitue. Cependant, compte tenu de la difficulté de préparation et de l'utilisation du dispositif en sachets de thé, il serait intéressant de trouver un autre contenant pour les billes DMG afin d'améliorer le contact avec le sol et d'éviter que les billes restent collées entre elles pour que la diffusion des métaux se réalise sur toute leur surface.

De plus, l'extraction des métaux devrait être réalisée uniquement à partir des billes DMG et non pas à partir du capteur entier. En effet, le sachet de thé contient des particules de sols après avoir été mis à son contact, même après rinçage à l'eau ultra pure. Les ions métalliques présents dans ces particules de sol vont être analysés et interprétés comme des ions métalliques biodisponibles. Ainsi, la mesure de la biodisponibilité du Cd par le capteur, peut être faussée.

Par ailleurs, des études doivent encore être menées vis-à-vis du capteur DMG afin de pouvoir calculer des flux de diffusion comparables à la DGT. Les coefficients de partage et de diffusion doivent être déterminés afin de pouvoir réaliser des calculs permettant d'estimer la concentration en Cd biodisponible dans les sols.

De plus, les variations de température pour la mesure DGT sont à éviter. Ainsi, pour la suite du projet EQUAVEG, il serait intéressant d'enterrer le dispositif DGT à l'intérieur du sol, afin d'éviter de réaliser la mesure sur la surface du sol, qui subit des variations de température et d'humidité au cours du temps.

Des études supplémentaires seront nécessaires à mettre en œuvre afin de déterminer pour quels types de sol, la biodisponibilité du Cd ne peut pas être estimée par le dispositif DGT.

## Hygiène et sécurité

A l'arrivée au laboratoire, il est important de s'informer, auprès de l'assistant de prévention ou auprès d'un responsable, des bonnes pratiques de travail et des dispositions à prendre en cas d'accident.

De plus, les dangers liés à la manipulation et à l'utilisation de substances dangereuses doivent être identifiés. Pour cela, il existe des fiches de données de sécurité des produits. Dans le cadre de ce stage, l'inspection de ces fiches a permis de mettre en évidence que l'acrylamide, utilisée pour la préparation des gels présents dans le dispositif DGT, est une substance CMR, c'est-à-dire Cancérogène, Mutagène et toxique pour la Reproduction. Le persulfate d'ammonium et le nitrate de sodium, sont quant à eux des produits inflammables, capables de provoquer des irritations et des allergies. L'acide nitrique peut engendrer des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Ainsi, les consignes portées sur les étiquettes des produits chimiques ou sur les fiches de données de sécurité doivent être respectées.

Par ailleurs, au cours des manipulations, il est essentiel de se protéger en utilisant des équipements de protections individuels : gants, blouse, lunettes en cas de projection, masque pour éviter de respirer de la poussière ou des substances volatiles. Le matériel de protection collectif (sorbonnes, hottes, appareil de détection...) mis à disposition est également indispensable pour se protéger pendant les manipulations.

Avant chaque manipulation, il faut vérifier si le matériel utilisé est en bon état. Une fois les manipulations terminées, il est important de bien nettoyer les paillasse et le matériel utilisé afin d'éviter toutes contaminations d'une manipulation à une autre.

Il est important de rappeler que dans un laboratoire, il est interdit de manger et de boire. Ainsi, cela permet d'éviter d'inhaler des produits inconnus par inadvertance. Les cheveux doivent être attachés pour une question d'hygiène et des chaussures fermées doivent protéger les pieds par mesure de sécurité.

## Références bibliographiques

- Anses, Avis « de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail », 2011.
- Cornu, Jean-Yves, et Laurence Denaix. 2006. « Prediction of Zinc and Cadmium Phytoavailability Within a Contaminated Agricultural Site Using DGT ». *Environmental Chemistry* 3 (1): 61-64. <https://doi.org/10.1071/EN05050>.
- Cheng, Tao, et Herbert E. Allen. « Prediction of uptake of copper from solution by lettuce (*Lactuca sativa* Romance) ». *Environmental toxicology and chemistry* 20, n° 11 (2001): 2544–2551.
- Darracq Dauguet, Sylvie, Laurence Denaix, Christophe Nguyen, Eric Royer, P Levasseur, M Potin-Gautier, Gaetane Lespes, et al. 2013. « Mesure des flux d'éléments traces (Pb, Cd, As, Cu, Zn) dans les sols, végétaux, porcs et lisiers des exploitations porcines du Sud-Ouest ». *Innovations Agronomiques*, juin, 175-90.
- Denaix, Laurence. « MEMOIRE D'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES ». PhD Thesis, Université de Montpellier, 2007.
- Deschamps, Thomas, Mostafa Benzaazoua, Bruno Bussière, Tikou Belem, et Mamert Mbonimpa. 2006. « Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels ». *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*, no Volume 7 Numéro 2 (septembre). <https://doi.org/10.4000/vertigo.2171>.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). « Statement on Tolerable Weekly Intake for Cadmium: Tolerable Weekly Intake for Cadmium ». *EFSA Journal* 9, n° 2 (février 2011): 1975. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.1975>.
- Ernstberger, H., H. Zhang, A. Tye, S. Young, et W. Davison. « Desorption Kinetics of Cd, Zn, and Ni Measured in Soils by DGT ». *Environmental Science & Technology* 39, n° 6 (mars 2005): 1591-97. <https://doi.org/10.1021/es048534d>.
- Godt, Johannes, Franziska Scheidig, Christian Grosse-Siestrup, Vera Esche, Paul Brandenburg, Andrea Reich, et David A. Groneberg. 2006. « The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health ». *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 1 (septembre): 22. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-1-22>.
- Kim, Rog-Young, Jeong-Ki Yoon, Tae-Seung Kim, Jae E. Yang, Gary Owens, et Kwon-Rae Kim. 2015. « Bioavailability of Heavy Metals in Soils: Definitions and Practical Implementation—a Critical Review ». *Environmental Geochemistry and Health* 37 (6): 1041-61. <https://doi.org/10.1007/s10653-015-9695-y>.
- Koster, Marijke, Lucas Reijnders, Nathalie R. van Oost, et Willie J.G.M. Peijnenburg. 2005. « Comparison of the Method of Diffusive Gels in Thin Films with Conventional Extraction Techniques for Evaluating Zinc Accumulation in Plants and Isopods ». *Environmental Pollution* 133 (1): 103-16. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.05.022>.
- Laporte, Marie-Aline. « Contribution to the cadmium absorption modeling by sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) in relation with root system architecture ». PhD Thesis, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 2013.
- McLaughlin, M. J, D. R Parker, et J. M Clarke. 1999. « Metals and micronutrients – food safety issues ». *Field Crops Research* 60 (1): 143-63. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3).

- Mench, Michel, et Denis Baize. « Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces. » *Le Courrier de l'environnement de l'INRA* 52, n° 52 (2004): 31–56.
- Nolan, Annette L., Hao Zhang, et Mike J. McLaughlin. 2005. « Prediction of Zinc, Cadmium, Lead, and Copper Availability to Wheat in Contaminated Soils Using Chemical Speciation, Diffusive Gradients in Thin Films, Extraction, and Isotopic Dilution Techniques ». *Journal of Environmental Quality* 34 (2): 496-507. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0496>.
- Peijnenburg, W., R. Baerselman, A. de Groot, T. Jager, D. Leenders, L. Posthuma, et R. Van Veen. 2000. « Quantification of Metal Bioavailability for Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) in Field Soils ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39 (4): 420-30. <https://doi.org/10.1007/s002440010123>.
- Perez, Magali. « Développement de capteurs passifs pour le diagnostic et la gestion environnementale du cuivre en zone viticole ». PhD Thesis, Pau, 2015.
- Qasim, Bashir Hussein. « Détermination, spéciation et biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les sols contaminés et technosols ». PhD Thesis, Université d'Orléans, 2015.
- Sauvé, Sébastien, Wendell A. Norvell, Murray McBride, et William Hendershot. « Speciation and Complexation of Cadmium in Extracted Soil Solutions ». *Environmental Science & Technology* 34, n° 2 (janvier 2000): 291-96. <https://doi.org/10.1021/es990202z>.
- Vanthomme, P., E. Schrevens, et M. PROFT. « Interactions of Cd with Zn, Cu, Mn and Fe for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in hydroponic culture ». *Plant, Cell & Environment* 14, n° 7 (1991): 713–717.
- Wang, Peifang, Teng Wang, Yu Yao, Chao Wang, Cui Liu, et Ye Yuan. 2016. « A Diffusive Gradient-in-Thin-Film Technique for Evaluation of the Bioavailability of Cd in Soil Contaminated with Cd and Pb ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13 (6): 556. <https://doi.org/10.3390/ijerph13060556>.
- Zarrouk, Senda, Alain Bermond, Naïma Kolsi Benzina, Valérie Sappin-Didier, et Laurence Denaix. 2014. « Diffusive Gradient in Thin-Film (DGT) Models Cd and Pb Uptake by Plants Growing on Soils Amended with Sewage Sludge and Urban Compost ». *Environmental Chemistry Letters* 12 (1): 191-99. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0431-5>.
- Zhang, Hao, et William Davison. 2015. « Use of Diffusive Gradients in Thin-Films for Studies of Chemical Speciation and Bioavailability ». *Environmental Chemistry* 12 (2): 85. <https://doi.org/10.1071/EN14105>.
- Zhang, Hao, Fang-Jie Zhao, Bo Sun, William Davison, et Steve P. Mcgrath. 2001. « A New Method to Measure Effective Soil Solution Concentration Predicts Copper Availability to Plants ». *Environmental Science & Technology* 35 (12): 2602-7. <https://doi.org/10.1021/es000268q>.
- Zorrig, Walid, Aïda Rouached, Zaïgham Shahzad, Chedly Abdelly, Jean-Claude Davidian, et Pierre Berthomieu. « Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce ». *Journal of Plant Physiology* 167, n° 15 (15 octobre 2010): 1239-47. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.04.012>.
- Aoun, Michel. « Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. » PhD Thesis, Université de Bretagne occidentale-Brest, 2008.

## **Annexes**

**ANNEXE 1 : PRESENTATION DU LABORATOIRE**

**ANNEXE 2 : MATERIELS ET METHODES**

# Annexe 1 : Présentation du laboratoire

## Présentation de l'INRA

L'INRA, l'Institut National de Recherche Agronomique, est un organisme national de recherche publique. Créé en 1946, il est placé sous la double tutelle du Ministère de la Recherche et du Ministère de l'Agriculture. Les recherches menées au sein de cet institut concernent trois domaines : l'alimentation, l'agriculture et l'environnement. Les 4 grandes priorités de l'INRA sont les suivantes : les agricultures multi-performantes, le changement climatique, les usages énergétiques et chimiques de la biomasse et la sécurité alimentaire. Les principales missions de l'INRA sont de diffuser des connaissances scientifiques, de partager son expertise, et de concevoir des innovations pour la société.

## Présentation du Centre de Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux

L'INRA est présent dans 17 centres régionaux dont celui du Centre Nouvelle-Aquitaine Bordeaux. Les deux axes de recherche du centre sont l'écologie fonctionnelle et évolutive des écosystèmes continentaux et la biologie intégrative des plantes. Les recherches menées sont donc inscrites dans de nombreux domaines scientifiques : agronomie, génétique, physiologie et pathologie des végétaux, écologie, chimie et physique de l'environnement.

## Présentation de l'UMR ISPA

L'UMR ISPA « Interactions Sol Plante Atmosphère » est implantée sur le centre de recherche INRA Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux. L'UMR est une unité mixte de recherche INRA et de Bordeaux Sciences Agro. Elle est sous la tutelle du département Environnement et Agronomie (EA) et du département Écologie des Forêts, Prairies et Milieux Aquatiques (EFPA). Elle s'intéresse à la compréhension et à la modélisation des flux et cycles de matières et d'énergie dans les écosystèmes anthropisés, agricoles et forestiers. Au sein de cette unité, il existe 5 équipes différentes dont l'équipe BIOGET (Biogéochimie des Eléments Traces).

## Présentation de l'équipe BIOGET

L'objectif global de l'équipe est de garantir que les cultures de plantes à vocation alimentaire respectent les limites réglementaires pour les teneurs en éléments traces métalliques. Ainsi, les recherches menées par cette équipe sont les suivantes : la modélisation de la biodisponibilité des ETM dans les sols cultivés, la modélisation de l'absorption des ETM par le système racinaire et la construction d'un modèle prédisant le transfert des ETM du sol vers les parties comestibles des plantes.

## Annexe 2 : Matériels et méthodes

### Sols sélectionnés

#### *Sélection des sols*

Huit sols ont été choisis selon leurs caractéristiques pédologiques et leurs concentrations en cadmium à partir du réseau de parcelles suivies par le CTIFL et l'ITAB de manière à obtenir des biodisponibilités en cadmium différentes.



Figure 1 Sols maraîchers utilisés pour le projet EQUAVEG

#### *Echantillonnage*

Les sols utilisés dans le cadre du projet EQUAVEG proviennent de 5 régions différentes : Bretagne, Pays de Loire, Aquitaine, Languedoc-Roussillon et Auvergne-Rhône-Alpes. Au total, 8 parcelles, provenant soit d'agriculture biologique ou conventionnelle ont été échantillonnées. Tous les prélèvements de sols ont été effectués à une profondeur de 0 - 25 cm, à différents endroits de la parcelle puis homogénéisés afin d'obtenir un échantillon représentatif de la parcelle.

#### *Préparation du sol*

Les 8 sols utilisés ont été tamisés à 4 mm et conservés à leur humidité initiale à une température de 4°C avant le début des manipulations. Pour l'expérience menée dans le but de déterminer l'influence de l'état du sol en conditions contrôlées, deux kilogrammes de sols provenant de Morlaix, Foulayronnes et de St Priest ont été séchés à l'air libre et tamisés à 2 mm. Deux kilogrammes supplémentaires ont été tamisés frais à 2 mm et conservés à 4°C avant le début de la manipulation.

#### *Mesure de la capacité au champ*

La capacité au champ correspond à la quantité maximale d'eau que peut contenir le sol. Pour chaque sol, 3 dispositifs remplis d'environ 50 g de sol ont été disposés dans une barquette en aluminium contenant un fond d'eau. Les dispositifs ont été laissés pendant 24h à reposer afin que l'eau remonte par capillarité. Ils ont ensuite été égouttés, puis pesés pour déterminer la quantité d'eau retenue dans le sol. Le sol a été mis à sécher à l'étuve pendant 24h à 105°C. Une fois que le sol sec,

il a été pesé afin de pouvoir calculer la capacité au champ grâce à la formule suivante :

$$\text{Capacité au champ (\%)} = \frac{\text{masse (sol humide)} - \text{masse(sol sec)}}{m(\text{sol humide})}$$

### *Mesure de l'humidité résiduelle*

Pour chaque sol, l'humidité résiduelle a été déterminée afin d'estimer le volume d'eau nécessaire à ajouter pour obtenir un sol à 50% ou à 100% de sa capacité au champ. Cette mesure de l'humidité résiduelle a été réalisée en triplicats pour chaque sol. Après avoir placé 30 g de sol dans un dispositif, celui-ci a été mis à sécher à l'étuve à 105°C pendant 48h. Le sol sec est pesé afin de déterminer l'humidité résiduelle du sol qui est calculée de la manière suivante :

$$\text{Humidité résiduelle (\%)} = \frac{m(\text{sol humide}) - m(\text{sol sec})}{m(\text{sol humide})}$$

### *Mesure des pH de sol*

Afin de déterminer le pH de chaque sol, 5 g de sol ont été mélangés à 10 g d'eau ultra-pure et agités pendant 1h. Une fois l'agitation terminée, le pH du sol a été mesuré grâce à une électrode combinée.

### *Mesure de la concentration en cadmium total dans les sols*

Pour tous les sols, les concentrations totales en cadmium ont été déterminées par une extraction à l'eau régale. L'eau régale est un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique, permettant d'extraire la totalité des métaux présents dans un échantillon de sol.

Pour une extraction à l'eau régale, le sol est séché, tamisé puis broyé grâce à un broyeur à billes planétaire (RETSCH PM 400). Puis, 0,5 g de sol sont placés dans 3.75 mL d'acide chlorhydrique (HCl 37%, Panreac) et 1.75 mL d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub> 69%, ARISTAR). L'échantillon est chauffé dans un four à micro-onde par rampe de température jusqu'à 190°C pendant 45 min. Le minéralisat est ensuite filtré et analysé. Une référence (BCR-145 R) a été également minéralisée afin de s'assurer que la minéralisation a correctement été effectuée. De plus, des blancs (3.75 mL de HCL et 1,75 mL d'HNO<sub>3</sub>) ont été réalisés pour chaque minéralisation.

## Préparation des DGT et des DMG

### *Préparation des DGT*

Afin de réaliser les gels nécessaires au montage d'un dispositif DGT, il faut créer une solution mère, qui sert de base pour préparer les solutions de gel diffusif et de gel Chelex. Celle-ci contient du cross-linker à 2% (DGT Research Ltd, Lancaster LA2 0QJ, UK), une solution d'acrylamide à 40% (VWR Life Science AMRESCO) et de l'eau ultra-pure.



Le gel diffusif et le gel Chelex sont composés d'un initiateur (le persulfate d'ammonium à 10% (VWR Chemicals Prolabo)) et un catalyseur (le TEMED). Le gel Chelex va contenir de la résine Chelex 100 (sodium form, Sigma-Aldrich) qui possède une forte affinité pour les métaux divalents.

Les gels, une fois coulés et polymérisés, ont été découpés en disque au moyen d'un emporte-pièce de diamètre de 2.5 cm et stockés au réfrigérateur dans une solution de  $\text{NaNO}_3$  (Sigma-Aldrich) à 0.01 M pour les gels diffusifs et dans de l'eau ultra-pure pour les gels Chelex.

Les dispositifs DGT sont assemblés la veille ou le jour même de leur utilisation. Le gel Chelex est déposé sur le piston, suivi du gel diffusif et du filtre (cellulose acétate, Sartorius Stedim Biotech) qui permet d'empêcher l'adhésion de particules de sol à la surface du gel. Afin de maintenir l'ensemble, un anneau est placé autour du piston.

Un test de performance a été réalisé sur le lot de DGT fabriqué en vérifiant leur capacité d'accumulation du cadmium dans une solution de  $10\mu\text{g/L}$  de cadmium préparée à partir d'une solution étalon d'Absorption Atomique ( $1002\ \mu\text{g/mL}$ , 4%  $\text{HNO}_3$ , SCP SCIENCE) diluée dans de l'eau ultrapure. Ce test a permis de mettre en évidence que les gels Chelex réalisés accumulaient correctement le Cd présent en solution. De plus, les concentrations calculées à partir des concentrations en Cd mesurées par DGT étaient proches de celle de la solution préparée.

### Préparation des capteurs DMG

Comme pour la fabrication des dispositifs DGT, les billes DMG sont composées de polyacrylamide, de résine Chelex et d'un initiateur de la réaction (le persulfate d'ammonium). La synthèse des billes de DMG a été réalisée à l'IPREM à Pau. La résine Chelex contenue dans les billes DMG a été broyée, la veille de la synthèse, au vibro-broyeur oscillant à billes, à trois reprises, pendant 10 minutes, à une fréquence de 30 Hz. Afin de préparer une bille DMG, 1 % de Chelex broyée est incorporée dans la solution de polyacrylamide. Le mélange de la solution de polyacrylamide et de la Chelex broyée est dégazé à froid par désoxygénation. Ce mélange est, par la suite, utilisé pour remplir une seringue sous agitation. Une autre seringue est remplie avec l'initiateur de la réaction. La synthèse des billes DMG est ensuite réalisée grâce à un dispositif millifluidique utilisant une huile porteuse.

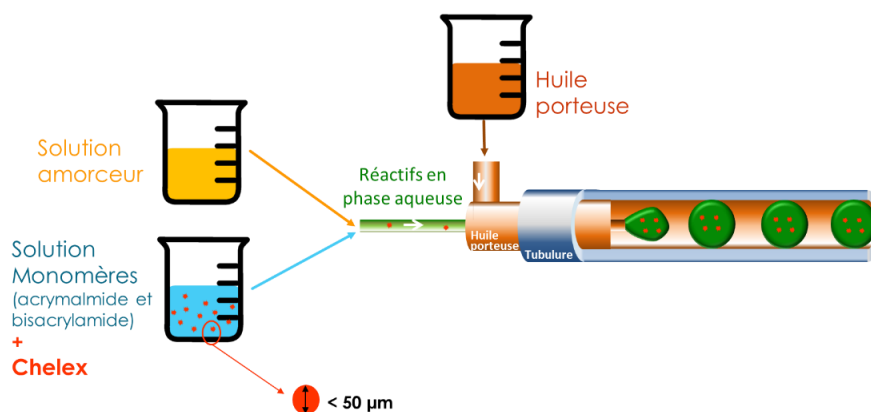


Figure 2 Schéma du protocole expérimental de la synthèse des billes DMG ( C. Moreau, 2018)

Les billes DMG, une fois synthétisées, ont été rincées trois fois pendant 20 minutes dans de l'eau ultra-pure, sous agitation. Jusqu'à leur utilisation, les billes sont stockées au réfrigérateur dans une solution de  $\text{NaNO}_3$  à 0.01 M.

La préparation des capteurs DMG a été réalisée à l'INRA. Pour assembler le capteur DMG, 30 billes ont été comptées à l'aide d'une pince en plastique. Les billes mesurant 1 mm de diamètre, le comptage et leur manipulation se sont avérés fastidieux. Il est important de ne pas pincer trop fort la bille DMG avec la pince au risque de la voir éclater. Les billes ont ensuite été placées dans un sachet de thé à l'aide d'une cuillère en plastique. Le sachet de thé est fermé grâce à un collier de serrage en plastique.



Figure 3 Lot de billes DMG



Figure 4 Fermeture du sachet de thé par un collier de serrage

## Déploiement des capteurs DGT et DMG dans le sol

### Mise en place des capteurs DGT et DMG dans le sol

Avant de réaliser les mesures DGT et DMG, pour chacune des expériences réalisées, le sol a tout d'abord été réhumecté avec de l'eau osmosée à 50% de la capacité au champ. Afin que le sol se stabilise, il a été mis à incuber à l'étuve pendant 72 h à 20°C. Puis, le sol a été réhumecté à 100% de la capacité au champ. Le sol est comme précédemment mis à incuber à l'étuve à 20°C pendant 24 h.

Une fois le sol réhumecté à 100% de la capacité au champ, les capteurs DGT sont placés au contact du sol en les enfonçant légèrement afin de créer un effet dit « ventouse ». Les capteurs DMG sont quant à eux enterrés dans le sol, de manière à être bien être recouverts par celui-ci.



Figure 5 Mise en place d'une DMG dans le sol



Figure 6 DMG enterré et DGT enfoncé dans le sol

## *Récupération des capteurs DGT et DMG et analyse des concentrations en cadmium*

A la fin du temps d'exposition, les capteurs ont été sortis du sol. Il est important de noter que les capteurs DMG doivent être manipulés avec précaution au moment de leur sortie, sous peine de déchirer le sachet de thé et de perdre des billes. La fragilité du dispositif DMG est une information qui sera nécessaire de prendre en compte pour son usage futur.

Une fois sortis du sol, les dispositifs DGT, ont été démontés et les gels Chelex ont été rincés avec de l'eau ultra-pure avant d'être mis à éluer dans 2 mL d' $\text{HNO}_3$  à 1M pendant 24h. Les capteurs DMG sont envoyés à l'IPREM pour extraire le Cd accumulé dans les billes de DMG. Pour ce faire, les capteurs sont placés avec de l' $\text{HNO}_3$  à 10% dans un flacon DigiPREP qui est chauffé à 65°C pendant 24h.

L'analyse des concentrations en cadmium dans les éluats de DGT a été réalisée à l'INRA par spectroscopie d'absorption en four graphite (PinAAcle900T Perkin Elmer). A chaque analyse, de l'eau ultrapure (Synergy UV, Merck) est utilisée pour réaliser un blanc, et un étalon de référence certifié (EnviroMAT Eau souterraine, Basse ES-L-2, SCP Science) est utilisé pour réaliser un contrôle de qualité. Une solution certifiée d'Absorption Atomique (1002  $\mu\text{g/mL}$ , 4%  $\text{HNO}_3$ , SCP SCIENCE) est diluée à 5 $\mu\text{g/L}$  afin de réaliser une solution étalon. L'analyse des concentrations en cadmium mesurées par DMG, quant à elle, a été réalisée à l'IPREM par ICP-MS.

## Suivi de la solution du sol

La solution du sol est collectée dans les barquettes servant à tester les capteurs passifs, par centrifugation de 30 g de sol humidifié à 100% de la capacité au champ. Elle a été extraite des pots de culture, au moyen de bougies microporeuses ((Rhizon, Eijkelkamp) de 9 cm de long et 4.5 mm de diamètre, insérées dans le sol. La bougie microporeuse est mise en dépression à l'aide d'une seringue placée à son extrémité. La dépression permet de créer un déplacement de la solution du sol vers l'intérieur de la bougie.

Le pH de la solution de sol a été mesuré grâce à une microélectrode combinée (pHC4000-8 E16M331). La concentration en cadmium dans la solution de sol a été analysée après avoir été acidifiée à 2% avec du  $\text{HNO}_3$  ultrapur.

## Test des temps d'exposition des capteurs DGT et DMG

Afin de déterminer le meilleur temps de déploiement des 2 capteurs, trois temps d'exposition ont été testés : 8h, 24h et 48h. Ces 3 temps ont également été testés afin de vérifier que le capteur DMG ne saturait pas au bout de 8h ou 24h. Trois barquettes contenant 500 g de sol séché et tamisé à 4 mm, provenant de Damazan, ont été préparées pour chaque temps d'exposition. Chacune contenait 3 capteurs DGT et 2 capteurs DMG. Par ailleurs, un dispositif DGT et un capteur DMG, n'ayant pas été mis au contact du sol ont servi de blanc pour cette manipulation. De plus, un blanc sachet a été

placé dans une des 3 barquettes pour chacun des temps d'exposition. Les barquettes de sol sont placées à l'étuve à une température de 20°C pendant le temps d'exposition des capteurs.

Afin de comparer les résultats obtenus par les 2 capteurs, la solution de sol a été extraite par bougies poreuses, en même temps que la mesure DGT et DMG.

### Test des capteurs DMG et DGT en conditions contrôlées

Parmi les 8 sols sélectionnés pour le projet EQUAVEG, 3 sols ont été choisis afin de couvrir une gamme de biodisponibilité du cadmium : Foulayronnes, Morlaix et St Priest. L'effet de l'état initial du sol (sec ou humide) a été testé afin de vérifier la répétabilité des mesures. Au total, 3 réplicats par condition (sol sec / sol frais) et par sol ont été préparés comme précédemment.

### Evaluation de la réponse des capteurs DGT et DMG vis-à-vis de la biodisponibilité des métaux pour la laitue

Pour cette expérience, les 8 sols frais fournis par l'ITAB et le CTIF ont été utilisés. Afin de standardiser la quantité de sol à mettre en pot pour les différents sols, l'équivalent de 2 kg de sol sec a été réhumecté à 50% de la capacité au champ. Une fois cette étape terminée, chaque sol a été réparti dans 4 pots afin d'obtenir 4 réplicats par sol pour la manipulation. Après 72h de stabilisation, les sols sont réhumectés à 100% de la capacité au champ afin de réaliser les mesures DGT et DMG.

Dans le cas de cette étude, afin de fertiliser les sols, un apport de 50 mg d'azote a été réalisé grâce à l'ajout de 143 mg d'ammonium nitrate extra pure (Merck) dans chacun des pots.

A t<sub>0</sub>, la mesure de la biodisponibilité du cadmium par les capteurs DGT et DMG a été réalisée pour chaque sol. Au total, un dispositif DGT et un capteur DMG ont été déployés pendant 24h dans chaque pot et la solution du sol a été extraite par bougies poreuses.

Une fois les capteurs retirés, une plantule de laitues (variété Appia) a été plantée par pot, soit 4 laitues par sol. Les 32 plantules de laitues utilisées pour cette étude proviennent d'un même lot et sont issues de l'agriculture biologique. Trois plantules ont été séchées à 50°C et minéralisées afin de déterminer la concentration en cadmium présente à t<sub>0</sub>.

Au cours de l'expérience, les laitues ont été arrosées au moins une fois par jour afin de maintenir le sol à 80 % de la capacité au champ. La température du sol, la température ambiante et l'humidité relative de l'air ambiante ont été mesurées grâce à un thermocouple durant toute la durée de l'expérience.

A t<sub>15</sub> et à t<sub>30</sub>, les capteurs DMG et DGT ont à nouveau été déployés dans les pots pendant 24h et la solution de sol a été prélevée de la même manière qu'à t<sub>0</sub>. La veille du déploiement des capteurs passifs, le sol était réhumecté à 100% de la capacité au champ.

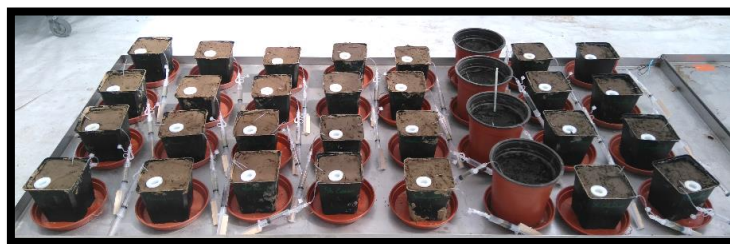


Figure 7 Déploiement des capteurs DGT et DMG et des bougies poreuses à t0



Figure 8 Plantules de laitues dans le sol après t0



Figure 9 Déploiement des capteurs DGT et DMG à t15



Figure 10 Déploiement des capteurs DGT et DMG à t30

A t30, une fois les capteurs retirés du sol, toutes les laitues ont été récoltées. Après séparation des parties aériennes et racinaires, celles-ci ont été rincées à l'eau ultra-pure et séchées à l'étuve à 50°C pendant 4 jours. La surface racinaire a été mesurée par un scanner EPSON Expression 10.000XL. Les données ont été traitées via le logiciel WinRHIZO Pro. La masse sèche et la masse fraîche des parties aériennes, d'une part, et des parties racinaires, d'autre part, ont été déterminées par pesée.



Figure 11 Séparation des parties aériennes et des parties



Figure 12 Feuilles et racines de laitues nettoyées

Les parties racinaires et les parties aériennes, ont été broyées grâce à un broyeur à billes planétaire en zirconium (RETSCH PM400). Les petites racines ont été broyées à l'aide d'un vibro broyeur oscillant (RETSCH MM400). Ensuite, celles-ci ont été minéralisées au bain marie (DigiPrep), après l'ajout de 4 mL de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, Ultrex II, J.T. Baker) et de 1

mL d'HNO<sub>3</sub> pur dans 250 mg d'échantillon broyé. Pour chaque minéralisation des végétaux, une référence (Tomato Leaves, NIST) a été utilisée afin de s'assurer que la minéralisation a correctement été effectuée. De plus, des blancs (4 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 1 mL d'HNO<sub>3</sub>) ont été réalisés pour chaque minéralisation. Les solutions de minéralisation ont par la suite été filtrées et analysées.

Le dosage du cadmium dans les solutions de filtration a été réalisé par spectroscopie d'absorption en four graphite.

## Calculs DGT

A partir la concentration en Cd dosée dans les solutions d'élution du gel Chelex, la masse de Cd accumulée sur celui-ci  $M$  (ng) a pu être calculée en utilisant le calcul suivant :

$$M = \frac{C_e * (V(\text{HNO}_3) + V(\text{gel Chelex}))}{f_e}$$

Avec :

$C_e$  = concentration en Cd dosée dans les solutions d'élution du gel Chelex ( $\mu\text{g/L}$ )

$V(\text{HNO}_3)$  = volume de HNO<sub>3</sub> utilisé pour l'élution du gel Chelex (mL)

$V(\text{gel Chelex})$  = volume du gel Chelex

$f_e$  = facteur d'élution du Cd

Pour le capteur DGT, la masse de Cd accumulé sur la résine Chelex ainsi que la concentration en ions mesurée dans les solutions d'élution permettent, à l'aide de la loi de Fick, le calcul du flux de Cd à travers le dispositif :

$$F = \frac{M}{A * t}$$

La concentration du métal "labile" dans la solution d'élution ( $C_{\text{DGT}}$ ) a été calculée à partir du flux de Cd labile:

$$C(\text{DGT}) = \frac{F * \Delta g}{D}$$

Avec :

$F$  = flux de forme labile de métal ( $\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )

$M$  = masse de l'ion métallique accumulée sur la résine ( $\mu\text{g}$ )

$A$  = l'aire de la surface de gel exposée au sol (fixée à  $3.14 \text{ cm}^2$ )

$t$  = temps du déploiement du DGT (s)

$C(\text{DGT})$  = concentration de métal labile dans la solution ( $\mu\text{g/L}$ )

$\Delta g$  = épaisseur de la couche de gel de diffusion (fixée à  $0.093 \text{ cm}$ )

$D$  = coefficient de diffusion de l'ion (dépend de la température,  $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$ )

## Traitement statistiques

Le traitement statistique a été réalisé à l'aide du logiciel RStudio pour effectuer des tests de Kruskal Wallis, car les conditions d'applications n'étaient pas respectées pour réaliser des analyses de variances (ANOVA). Les tests Kruskal Wallis ont été effectués afin de déterminer si les concentrations de Cd mesurées par le dispositif DGT sont significativement différentes : entre trois temps d'exposition du capteur, entre deux états différents du sol avant la mesure DGT, et entre différents sols maraîchers. A l'aide de ce test statistique, les concentrations de Cd mesurées dans la solution de sol de différents sols maraîchers ont pu être comparées ainsi que les biomasses sèches de laitues cultivées sur ces sols.

Des analyses de variances ont été réalisées afin de déterminer si les concentrations en Cd mesurées par DGT et dans la solution de sol étaient significativement différentes au cours du temps. Le même test statistique a été réalisé pour déterminer si les variations du pH de la solution de sol étaient significatives.

Afin de déterminer si la concentration en cadmium dans les feuilles et les racines de la laitue pouvait être corrélée à la concentration en Cd mesurée par DGT, des corrélations linéaires ont été testées à l'aide du logiciel Excel. Afin de vérifier que ces corrélations sont significatives, des régressions linéaires ont été réalisées à l'aide du logiciel SYSTAT.