



HAL
open science

Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par méthodes isotopiques

Émilie Gérard

► **To cite this version:**

Émilie Gérard. Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par méthodes isotopiques. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2000. Français. NNT : 2000INPL092N . tel-01749934

HAL Id: tel-01749934

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01749934>

Submitted on 29 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

1360255240

00INPL09EN

(1) 2000 GERARD, E.

Institut National Polytechnique de Lorraine

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Ecole Doctorale Ressources, Procédés, Produits et Environnement

Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA/INRA

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

Thèse

Présentée en vue d'obtenir le titre de Docteur de l'INPL

Spécialité Sciences Agronomiques

Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par des méthodes isotopiques

par

Emilie GERARD

Soutenue publiquement le 23 octobre 2000 devant la commission d'examen :

Corinne LEYVAL , Directeur de Recherches CNRS-CPB Vandœuvre	Rapporteur
Mike McLAUGHLIN , Research Group Leader CSIRO Australie	Rapporteur
Michel ROBERT , Directeur de Recherches INRA	Rapporteur
Jean-Claude FARDEAU , Ingénieur de Recherches, INRA	Examineur
Jean-Louis MOREL , Professeur ENSAIA/INRA Vandœuvre	Examineur
Siobhán STAUNTON , Chargée de Recherches INRA Montpellier	Examineur
Thibault STERCKEMAN , Ingénieur de Recherches ENSAIA/INRA Vandœuvre	Examineur

Avant propos

Le Conseil Régional du Nord – Pas de Calais a développé un Programme de Recherches Concertées (PRC) intitulé « Environnement et activités humaines » dans le but de caractériser les liens entre la qualité de l'environnement et les activités humaines dans le bassin minier du Nord – Pas de Calais. En effet, 140 sites, sur les 896 sites pollués recensés en 1996 par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, sont localisés dans cette région. Avec la diminution des activités liées à l'exploitation minière et à l'industrie métallurgique, une étude approfondie de l'impact de ces activités sur la qualité des milieux est nécessaire à la requalification des friches industrielles.

Ce travail de recherche, partie intégrante du PRC « Environnement et Activités Humaines - Etude d'un secteur pollué par les métaux », a été financé à hauteur de 50 % par le Conseil régional de la région Nord Pas - de Calais.

Le département Environnement et Agronomie de l'INRA a également contribué à hauteur de 50 %.

Cette recherche a débuté par un stage et un mémoire de DEA effectués au laboratoire Sols et Environnement, ENSAIA-INRA (Vandœuvre-lès Nancy) et s'est poursuivi par une thèse de doctorat sur une période de 3 ans dans le même laboratoire.

Remerciements

Je remercie Jean-Louis Morel, directeur de thèse, qui m'a fait l'honneur de m'accorder sa confiance pour réaliser ce travail de recherche. Il a su m'aider tout au long de ces 3 ans à construire la réflexion et à franchir les caps difficiles.

Je tiens ensuite à remercier Thibault Sterckeman, co-directeur de la thèse, pour ses conseils avisés et ses corrections toujours très consciencieuses. Il m'a aidée à prendre le recul nécessaire par rapport aux phases d'expérimentation, à poser les bonnes questions et à ne pas perdre de vue la ligne directrice du travail. Merci également à Nicolas Proix et Henri Ciesielski.

Mes sincères remerciements vont ensuite à Christian Morel qui m'a été d'un grand soutien. Ses critiques toujours très rigoureuses m'ont permis de remettre constamment en question la qualité de mon travail et m'ont également ouvert de nouvelles voies de réflexion. Je le remercie aujourd'hui pour son amitié et pour avoir porté tant d'intérêt à ces travaux.

Un grand merci à Jean-Claude Fardeau, très présent tout au long de ce travail. Son expérience dans le domaine et ses explications m'ont été indispensables pour me mettre à l'aise dans la démarche « isotopique ». Je le remercie pour le temps passé sur les rapports intermédiaires et au cours de la rédaction, pour sa bonne humeur, ses bons mots, et les encouragements qui m'ont été d'un grand soutien. Je le remercie également pour sa participation au jury.

Je remercie Corinne Leyval, Mike McLaughlin et Michel Robert pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ma thèse. Je remercie également Siobhán Staunton pour avoir accepté d'être examinatrice du travail.

Je remercie ensuite Guillaume Echevarria pour m'avoir aidée à comprendre le principe des méthodes isotopiques, ainsi que pour ses conseils lors de la rédaction.

Je voudrais également remercier Christophe Schwartz pour sa disponibilité et sa sympathie. Merci à Séit Shallari pour m'avoir aiguillée durant mon DEA sur le dur chemin des calculs de valeurs E !

Je tiens ensuite à remercier pour leurs précieux conseils toutes les personnes contactées au cours de ces 3 ans : Isabelle Lamy, Michel Jauzein, Michel Sardin, Philippe Cambier, Serge Bourgeois, Siobhán Staunton, Mike MacLaughlin, Rebecca Hamon...

Merci à Mathilde Dechette pour l'aide apportée durant son stage. Merci également à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ces travaux : Karen Perronnet, Michel Schiavon, Corinne Perrin Ganier, Eric Lichtfouse, Salem Hayar, Louis Florentin, Stéphane Colin, Bernard Colin, P.C. Wong, Jame Rouillé et Sandra Novak.

Je remercie Nicole Jolain et Madeleine Lerouillois pour leur disponibilité et leur sympathie.

Je tiens également à saluer tous mes collègues et amis du laboratoire qui m'ont épaulée et grâce à qui ces 3 ans se sont déroulés dans la bonne humeur.

Merci aussi à Léna, Romain, Julie, ma famille... Et enfin une pensée toute particulière pour Sébastien.

Table des matières

Introduction générale	10
Chapitre 1 : Cadmium phytodisponible dans les sols, Bilan des connaissances et problématiques	12
I. Le cadmium : occurrence et toxicité	12
I.1. Abondance naturelle	12
I.2. Sources de pollution anthropiques	12
I.3. Propriétés physico-chimiques	15
I.4. Risques sanitaires	16
II. Phytodisponibilité du cadmium dans les sols agricoles	17
II.1. Phytodisponibilité et offre du sol	17
II.2. Formes chimiques du Cd dans les sols	18
II.2.1. Facteurs liés au sol	18
II.2.2. Facteurs liés à la plante	23
III. Devenir du cadmium dans la plante	25
III.1. Absorption racinaire	26
III.2. Translocation du métal dans la plante	27
III.3. Organes d'accumulation	28
III.4. Toxicité du Cd pour les végétaux	28
III.5. Stratégies des plantes vis-à-vis des métaux	29
IV. Estimation de la phytodisponibilité des éléments en trace dans les sols	30
IV.1. Méthodes biologiques	30
IV.1.1. Utilisation de végétaux	30
IV.1.2. Tests microbiologiques	31
IV.2. Méthodes chimiques	31
IV.2.1. Cinétiques et isothermes de sorption-désorption	31
IV.2.2. Extractions chimiques simples	32
IV.3. Méthodes isotopiques	34
IV.3.1. Principe de la dilution isotopique	34
IV.3.2. Application à l'estimation de la fraction phytodisponible des éléments dans les sols	34

IV.3.3. Valeurs E et L du Cd et propriétés des sols	37
IV.3.4.1 Influence de la plante sur les pools labiles	37
IV.3.5. Application étendue : les cinétiques d'échange isotopique	39
V. Conclusion et problématique	42
Chapitre 2 : Matériel et méthodes, Validation des techniques utilisées	44
I. Matériels	44
I.1. Plantes choisies	44
I.1.1. Ray grass	44
I.1.2. Laitue	44
I.1.3. <i>Thlaspi caerulescens</i>	45
I.2. Terres utilisées	45
I.3. Isotope choisi	47
I.4. Echantillonneurs de solution de sol	47
II. Méthodes	48
II.1. Fertilisation des terres	48
II.2. Marquage du Cd ²⁺ isotopiquement échangeable	48
II.2.1. Méthode employée	48
II.2.2. Expressions mathématiques et unités de composition isotopique	49
II.2.3. Détermination du temps de mise à l'équilibre des terres	50
II.3. Conditions de culture	53
II.4. Echantillonnage de la solution du sol	54
II.4.1. Méthode employée	54
II.4.2. Influence de l'échantillonneur sur la CI ₅ de Cd	54
II.5. Analyse des éléments en trace en solution, et spéciation du cadmium dans la solution du sol.	56
II.5.1. Matériel et méthode de la spéciation en solution	56
II.5.2. Résultats	57
II.5.3. Discussion	58
II.6. Analyse des éléments en trace dans les végétaux	59
II.7. Comptage de la radioactivité	59
II.8. Traitement statistique	59

Chapitre 3 : Caractérisation du cadmium phytodisponible par la mesure de la composition isotopique du Cd²⁺ dans les plantes	61
I. Matériel et méthodes	61
II. Résultats	61
II.1. Production de biomasse.....	61
II.2. Teneurs du Cd dans les végétaux.....	63
II.3. Prélèvements de Cd par les végétaux.....	65
II.4. Compositions isotopiques du Cd ²⁺ dans les végétaux	67
II.5. Origine du Cd phytodisponible.....	68
II.6. Quantités de Cd phytodisponible.....	71
III. Conclusion	72

Chapitre 4 : Caractérisation du cadmium phytodisponible par la mesure de la composition isotopique du Cd²⁺ dans la solution du sol	74
I. Cd²⁺ isotopiquement échangeable mesuré dans la solution du sol	74
I.1. Matériel et méthodes	74
I.2. Comparaison entre les CI _P et les CI _S dans la solution des terres cultivées.....	74
I.3. Comparaison entre les CI _P et les CI _S dans la solution des terres nues	76
I.4. Quantités de Cd ²⁺ non isotopiquement échangeable initialement accessible à la laitue et <i>T. caerulescens</i>	76
I.5. Conclusion	77
II. Evolution des compositions isotopiques et ioniques de la solution du sol	79
II.1. Matériel et méthodes.....	79
II.2. Suivi de la composition isotopique du Cd ²⁺ en solution	79
II.3. Evolution des compositions ioniques en solution.....	80
II.3.1. pH.....	80
II.3.2. Cd, Zn, Pb en solution	81
II.3.3. Ca et K en solution.....	85
II.3.4. Conclusion partielle	87
III. Conclusion	88

Chapitre 5 : Etude dynamique du Cd²⁺ isotopiquement échangeable	89
I. Matériel et méthodes	89
1.1. Terres étudiées	89
1.2. Cinétique d'échange isotopique du Cd ²⁺ dans un système terre-eau	89
1.3. Efficacité de l'azide de sodium	91
1.4. Influence des conditions opératoires sur les résultats des cinétiques d'échange isotopique	92
1.4.1. <i>Influence du rapport terre-eau sur n, r_l/R et CI_S</i>	92
1.4.2. <i>Rapport terre-eau, quantités de Cd en solution et force ionique</i>	94
II. Résultats et discussions	97
II.1. Composition isotopique du Cd ²⁺ dans la solution du sol	97
II.1.1. <i>Cd²⁺ stable en solution</i>	97
II.1.2. <i>Radioactivité en solution</i>	99
II.1.3. <i>Compositions isotopiques du Cd²⁺ en solution</i>	100
II.1.4. <i>Quantités de Cd²⁺ isotopiquement échangeable en fonction du temps</i>	101
II.2. Modélisation de la cinétique d'échange isotopique des ions Cd ²⁺	103
II.2.1. <i>Utilisation d'un modèle mathématique préexistant</i>	103
II.2.2. <i>Ajustement du modèle mathématique pour les terres carbonatées</i>	105
II.2.3. <i>Quantités de Cd peu ou non isotopiquement échangeable</i>	106
II.2.4. <i>Représentation dynamique des quantités de Cd²⁺ isotopiquement échangeable</i>	105
II.2.5. <i>Conclusions sur la labilité de Cd²⁺ dans les sols</i>	109
II.3. Cinétique d'échange isotopique du Cd ²⁺ dans les poussières industrielles	110
II.3.1. <i>Matériel</i>	110
II.3.2. <i>Méthodes</i>	110
II.3.3. <i>Résultats et discussion</i>	111
II.4. Comparaison des CI _S obtenues avec les cinétiques d'échange isotopique et avec le prélèvement direct de solution du sol	113
II.5. Comparaison des CI _S obtenues avec les cinétiques d'échange isotopique avec les CI _P du Cd dans les plantes	114
III. Conclusion	116

Chapitre 6 : Application du principe de dilution isotopique au choix d'extractants chimiques pour mesurer le Cd phytodisponible dans les sols ..	117
I. Matériel et méthodes	117
I.1. Terres étudiées	117
I.2. Extractants choisis.....	117
I.3. Protocole.....	118
II. Caractérisation du Cd extrait	118
II.1. Compositions isotopiques du Cd ²⁺ dans l'extrait, CI _{SE} , comparées à celles dans les plantes	118
II.2. Choix d'un réactif chimique pour estimer le Cd phytodisponible.....	120
III. Conclusion	120
Conclusion générale	122
Références bibliographiques	129
Lexique	145
Annexes	146
Annexe 1 : Photographies	
Annexe 2 : Analyse chimique des solutions de terres carbonatées	
Annexe 3 : Zn, Pb, Ca et K dans les végétaux	

Introduction générale

Le cadmium (Cd) n'est pas un élément essentiel à la plante. Il est cependant susceptible d'être prélevé, d'entrer dans la chaîne alimentaire et de provoquer des intoxications. Les quantités contenues dans les végétaux ne présentent pas toujours un risque direct pour la plante mais elles peuvent nuire à la santé de leurs consommateurs, qu'ils soient animaux ou humains, en fonction de la fréquence de consommation et de la concentration du Cd dans l'aliment.

Les métaux en traces sont présents dans les sols agricoles en général de façon naturelle et artificielle. A proximité d'exploitations minières ou d'usines métallurgiques, il est fréquent d'observer dans ces sols des teneurs allant jusqu'à 100 mg kg⁻¹ de Cd et 5000 mg kg⁻¹ de Zn. Ces éléments sont présents sous différentes formes chimiques dans le sol et y sont plus ou moins mobiles, c'est-à-dire qu'ils passent plus ou moins facilement d'un compartiment à un autre jusqu'à la solution du sol. Une fraction est dite phytodisponible lorsqu'elle peut être absorbée par un végétal. Ceci implique en plus de la mobilité, une aptitude à franchir les défenses ou barrières biologiques mises en œuvre par la plante. La toxicité de l'élément met en jeu des phénomènes liés à la mobilité, la phytodisponibilité mais aussi à l'expression d'effets physiologiques au sein du végétal en réponse à la dose appliquée. Pour étudier le transfert sol-plante des éléments en traces et évaluer le risque de contamination de la chaîne alimentaire, il est nécessaire de connaître la fraction phytodisponible de l'élément dans les sols. Les quantités phytodisponibles sont-elles les mêmes quelle que soit la plante étudiée ? Quelle est la nature de la fraction assimilable de l'élément ? Comment ces quantités évoluent-elles en fonction du temps ? Quelle est l'influence des caractéristiques des sols sur la phytodisponibilité du Cd ? Quel outil conseiller en routine pour l'évaluation des quantités assimilables de Cd dans les sols agricoles ?

Ce travail a pour objet de caractériser le cadmium phytodisponible dans les sols agricoles et de fournir des outils et des informations pour évaluer le risque de transfert du Cd du sol vers les végétaux supérieurs.

La synthèse bibliographique du premier chapitre a pour objectif d'abord de présenter l'élément cadmium (occurrence, utilisation, risques pour la santé, propriétés physico-chimique) et le comportement de l'élément vis à vis des plantes supérieures (absorption racinaire, translocation, toxicité et tolérance). Dans le même chapitre, un bilan est fait des

différents facteurs sol (pH, matière organique etc.) et plantes (interception, exsudats racinaires) qui interviennent sur la phytodisponibilité du Cd et d'autres éléments en traces. Les méthodes existant pour caractériser la biodisponibilité de ces éléments sont décrites. Enfin, un bilan des connaissances et des lacunes est proposé afin de définir les problématiques de la thèse. Dans le deuxième chapitre, le matériel commun aux différentes expérimentations est décrit, ainsi que la validation des méthodes employées : dilution isotopique, prélèvement de la solution du sol, analyses des éléments en traces stables et radioactifs. Le chapitre 3 est consacré à la caractérisation de la fraction de Cd assimilée par des plantes à prélèvements variés. La démarche repose sur la dilution isotopique, en utilisant les végétaux comme instruments de prélèvement du Cd²⁺ dans les quantités de Cd isotopiquement diluables. Le quatrième chapitre propose une caractérisation du Cd assimilable par un prélèvement *in situ* de la solution du sol et une mesure des quantités de Cd²⁺ isotopiquement échangeable. L'influence de la plante sur les quantités de Cd phytodisponible et les cations en solution est alors étudiée. Une cinétique d'échange isotopique des ions Cd²⁺ est réalisée dans le cinquième chapitre de la thèse, afin d'avoir une représentation dynamique des quantités isotopiquement échangeables ou phytodisponibles dans les sols. Enfin, la dernière partie est consacrée à l'étude d'extractants chimiques utilisés en routine pour estimer le Cd phytodisponible des sols agricoles. Chaque méthode utilisée a permis de caractériser diverses propriétés du Cd des sols assimilable par les plantes. Un bilan des connaissances acquises au cours de la thèse est réalisé en conclusion, et le choix d'un outil pratique d'évaluation du risque de transfert sol-plante de l'élément est discuté.

Chapitre 1 : Cadmium phytodisponible dans les sols

Bilan des connaissances et problématiques

Le cadmium (Cd) est un élément en trace étudié pour sa toxicité depuis les années 60, époque à laquelle il a été découvert responsable de graves troubles du métabolisme humain (maladie d'Itaï-Itaï, 1966). Depuis, de nombreuses études ont permis de cerner ses propriétés physico-chimiques ainsi que de caractériser les facteurs déterminant les transferts sol- plante de l'élément. Ce chapitre de synthèse bibliographique propose un bilan des connaissances acquises, avec un accent mis sur les méthodes existant pour caractériser la phytodisponibilité de l'élément, et les lacunes qu'elles sous-tendent. La conclusion pose les problématiques de la thèse, les objectifs du travail, ainsi que la démarche adoptée pour y répondre.

I. Le cadmium : occurrence et toxicité

1.1. Abondance naturelle

L'eau de mer vaporisée, les particules volcaniques, les poussières portées par les vents et les feux de forêt sont les sources naturelles de Cd dans l'atmosphère. Les quantités impliquées ($0,96 \cdot 10^6 \text{ kg an}^{-1}$), sont relativement faibles par rapport aux émissions totales ($20 \cdot 10^6 \text{ kg an}^{-1}$) (Nriagu, 1979). L'activité volcanique serait la plus grande source naturelle de Cd dans l'atmosphère (10 t an^{-1} de Cd émises pour l'Etna en Sicile) (Hutton, 1983). L'altération des matériaux de la croûte terrestre entraîne également un enrichissement en Cd des sols et des systèmes aquatiques.

1.2. Sources de pollution anthropiques

Le terme **contamination**, cadmiée par exemple, qualifie un apport issu de l'extérieur du site qui a pour conséquence une élévation de leur teneur originelle (Bourrelier et Berthelin, 1998). Cette expression n'indique pas les conséquences que pourrait avoir cette élévation de la teneur en Cd sur le comportement des organismes vivants qui utilisent ce site.

Une **pollution** serait une contamination ayant pour conséquence une perturbation du milieu ou de l'usage qui en est fait habituellement. La terre servant de témoin peu pollué, utilisée dans le cadre de la thèse, a subi une **pollution diffuse** d'origine lointaine. Il s'agit ici d'une contamination atmosphérique qui affecte tous les secteurs du territoire. Elle est due aux retombées de poussières ou d'aérosols transportés à longue distance. Sa caractéristique est

l'origine non ou mal identifiable des contaminants transportés (rejets fins industriels, poussières volcaniques, éoliennes).

Utilisations du cadmium

Le cadmium est principalement utilisé pour les revêtements électriques et les pigments (Tableau 1).

Tableau 1 : Utilisation commerciales du Cadmium (Korte, 1983 ; Merian, 1984).

Utilisation	% des quantités totales utilisées
Revêtements électriques	40 %
Pigments	25 %
Industrie plastique	10 %
Batteries	20 %
Cellules photosensibles, alliage, divers.	5 %

Pollution industrielle

Il y a deux processus utilisés pour la production primaire de cadmium et zinc : la fonte thermique et l'extraction électrolytique (Hutton, 1983). Les installations thermiques émettent les plus fortes quantités de Cd dans l'atmosphère en raison des températures élevées utilisées lors du grillage et de la fonte. Cela ne fait qu'environ 60 ans que l'on produit du Cd, avec de nos jours (données pour 1997) environ 19 000 tonnes produites dans le monde par an (Frémy et Frémy, 1999). Environ 2/3 de la production mondiale est dissipée dans l'environnement. Le Cd diffère des autres produits chimiques industriels car la pollution ne provient pas majoritairement de sa production stricte mais est souvent liée à celle du zinc ou du plomb (Korte, 1983).

Autres sources de pollution

Beaucoup d'émissions de Cd résultent de la combustion de fuel fossile. Le charbon contient de 1 à 9 mg Cd kg⁻¹ (Cottenie, 1981). Les émissions globales dues à la combustion du charbon représentent environ 7 000 t par an. A ces quantités on peut ajouter l'incinération de déchets ménagers et la combustion du bois. Les boues de station d'épuration concentrent le Cd et peuvent en contenir jusqu'à 300 mg kg⁻¹ (moyenne de 10 à 20 mg kg⁻¹) (Cottenie, 1981). Ceci représente une production de 1500 t Cd an⁻¹ dans la Communauté Européenne (Merian, 1984). Environ 75 % est épandu sur les sols agricoles et 25 % est incinéré. La pollution provient également de l'application d'engrais phosphatés dans les sols agricoles. Les superphosphates

contiennent entre 2 et 20 mg Cd kg⁻¹, ce qui correspond pour les Etats-Unis à des apports de 100 t Cd an⁻¹ pour les sols agricoles (Merian, 1984). En effet, les gisements de minerais phosphatés sont souvent le lieu d'accumulation d'éléments en trace. La teneur en Cd dans les engrais phosphatés est en relation étroite avec leur origine géographique, avec par exemple 100 mg kg⁻¹ dans les gisements de l'Afrique de l'Ouest (Bourrelier et Berthelin, 1998).

Cadmium atmosphérique et dépôt

Les émissions atmosphériques annuelles dans le monde sont estimées à 8100 t dont 7300 t sont anthropiques (Nriagu, 1979). Elles sont principalement dues à la production des métaux non ferreux (Tableau 2). Le dépôt sur les sols a été estimé à 5700 t an⁻¹.

Tableau 2 : Sources atmosphériques de pollution cadmiée en 1979, d'après Pacyna (1987).

Source de pollution atmosphérique	Quantités émises en t Cd an ⁻¹
Production de métaux non-ferreux	1631
Combustion de charbon	144
Combustion de fuel	109
Incinération de déchets	84
Production de fer et acier	60

Dans l'air, l'élément est plus accumulé que d'autres métaux sur de très fines particules. L'air de zones industrialisées peut contenir entre 0,002 à 0,005 µg Cd m⁻³, les plus fortes concentrations à proximité de zones industrielles atteignent 0,2 à 0,6 µg Cd m⁻³. Il semble que le Cd atmosphérique soit principalement sous la forme d'oxydes et de chlorures (Merian, 1984). A proximité d'industries métallurgiques et d'usines d'incinération de plantes, 10 à 200 µg Cd m⁻² jour⁻¹ sont déposés et environ 0,4 à 1 200 µg Cd m⁻² jour⁻¹ dans les zones urbanisées. Les espèces prédominantes sont Cd²⁺, CdCO₃, Cd(OH)₂ et CdS.

Teneurs du cadmium dans les sols

La croûte terrestre contient environ 0,15 mg kg⁻¹ de Cd, associé souvent au zinc dans des proportions de 1:1000 à 1:200 (Page, 1981). Les sols contiennent entre 0,05 et 1 mg kg⁻¹ de Cd, et jusqu'à 100 mg kg⁻¹ à proximité d'exploitations de mine de zinc (Zn), plomb (Pb) ou cuivre (Cu). Il a été montré, qu'en fonction de diverses interventions humaines, les terres de jardins potagers peuvent contenir des niveaux élevés de Cd (Schwartz *et al.*, 1997). Dans de rares cas ces sols peuvent contenir jusqu'à 800 mg kg⁻¹ de Cd.

Tableau 3 : Concentrations maximales admises pour le Cd dans les sols. Directive du Conseil n°86-278 du 2 juin 1986.

Valeurs limites...	
...de concentration en métaux lourds dans les sols	1 à 3 mg Cd kg ⁻¹ matière sèche
...de concentration en métaux lourds dans les boues destinées à l'utilisation en agriculture	20 à 40 mg Cd kg ⁻¹
...pour les quantités annuelles de métaux lourds pouvant être introduites dans les sols cultivés	0,15 kg/ha/an

1.3. Propriétés physico-chimiques

Dans la classification périodique, le Cd est situé dans la même colonne que Zn. Son comportement se rapproche aussi de celui de Cu au degré d'oxydation II (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). L'ion Cd²⁺ a un comportement proche de certains cations comme Zn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺ et, dans certains cas, Ca²⁺.

Le Cd est stable dans l'eau sous forme de cation Cd²⁺ hydraté. L'élément est chargé positivement et a un caractère acide (acide faible de Lewis) si bien qu'une ou plusieurs molécules d'eau de la sphère d'hydratation peuvent se déprotoner ce qui conduit à des complexes aquo-hydroxo, par exemple CdOH(H₂O)₂⁵⁺ (Bourrellet et Berthelin, 1998).

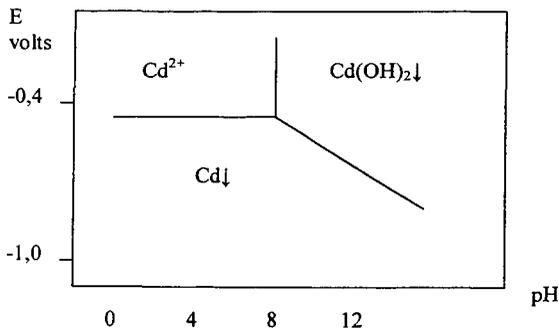


Figure 1 : Potentiels normaux apparents des systèmes oxydo-réducteurs du Cd.

Lorsque la charge du complexe diminue par déprotonation successive, il peut y avoir condensation des complexes par olation. Le Cd peut former également des hydroxydes. Lors d'altérations de la phase solide, le Cd rejoint la solution, et, bien qu'il soit souvent sous la

forme Cd^{2+} , il forme également des complexes avec d'autres ions : $CdCl^+$, $CdSO_4$, $CdOH^+$, $CdHCO_3^+$, $CdCl_3^-$, $CdCl_4^{2-}$, $Cd(OH)_3^-$, et $Cd(OH)_4^{2-}$. Le Cd peut également former des complexes avec des acides organiques en solution. Les facteurs contrôlant principalement la mobilité de l'ion Cd^{2+} sont le pH et le potentiel redox (Figure 1) (voir paragraphe II.2. sur la spéciation).

Sous des conditions très oxydantes, le Cd peut former des minéraux (CdO , $CdCO_3$) et peut aussi être accumulé dans les phosphate et les dépôts de biolithe. Peu de choses sont connues sur la volatilisation du Cd et en particulier sa biométhylation. Il a été montré récemment que des souches de bactéries résistantes au Cd *Pseudomonas sp.* étaient capables de le volatiliser sous forme de diméthylcadmium par interaction avec le diméthylsulfate bactérien produit (Panichev *et al.*, 2000).

1.4. Risques sanitaires

C'est en 1966 que la relation a été faite entre la pollution cadmiée de la rivière Jinzu contaminée par une exploitation de Pb et Zn et la maladie d'Itaï-Itaï. Cette maladie, qui touche principalement les femmes, a pour symptômes majeurs des douleurs dans les extrémités, des difficultés à marcher, des fractures osseuses et également des modifications d'activités enzymatiques (Korte, 1983). Cette maladie est à rapprocher de l'ostéomalacie. L'altération des tubules rénaux est causée par un empoisonnement dû au Cd et est suivie d'ostéomalacie.

Tableau 4 : Concentrations maximales admises pour le Cd dans les denrées alimentaires (matière fraîche)

Denrées alimentaires	Valeur limite en mg Cd kg ⁻¹
Céréales et produits dérivés	0,1
Légumes	0,1
Poissons	0,1
Viandes	0,1
Reins	2
Jus de fruits	0,02
Vins, bières	0,02

Le Cd et certains composés cadmiés (oxydes de Cd, sulfates) semblent avoir un fort potentiel de risque carcinogène (Merian, 1984). Une exposition au Cd sous certaines formes

(probablement les oxydes) accroît le risque de cancer de la prostate et des voies respiratoires chez l'être humain. La plupart du Cd est ingérée par le biais de la nourriture et cette voie est prédominante pour les sujets non exposés à une pollution industrielle. L'Organisation Mondiale pour la Santé conseille un maximum consommé tolérable de 400 à 500 μg de Cd par semaine, seuil dans lequel la nourriture contribue à 50 % et plus. L'eau potable ne devrait pas contenir plus de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (1996) propose pour les denrées alimentaires une liste des concentrations maximales (Tableau 4).

II. Phytodisponibilité du cadmium dans les sols agricoles

II.1. Phytodisponibilité et offre du sol

La mobilité d'un élément susceptible d'intervenir dans le fonctionnement ou la qualité des récoltes ou des eaux est l'aptitude de cet élément à passer dans les compartiments du sol où il est de moins en moins énergiquement retenu. Le compartiment ultime est représenté par la phase liquide du sol (Juste, 1988).

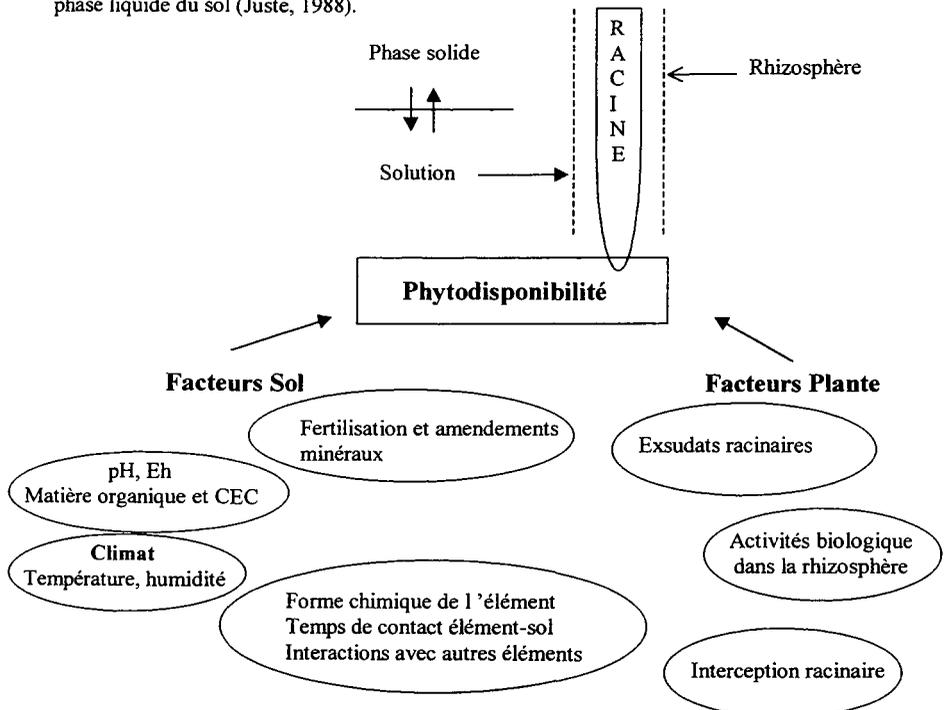


Figure 2 : Facteurs influant sur la phytodisponibilité des éléments en trace.

La biodisponibilité d'un élément serait son aptitude à être transféré d'un compartiment quelconque du sol vers un organisme vivant (racine d'une plante, micro-organisme,...).

La phytodisponibilité est ici la biodisponibilité de l'élément pour un végétal supérieur. Comme les végétaux puisent le Cd dans la solution du sol, les techniques d'estimation de la mobilité potentielle du Cd (offre du sol) peuvent rendre compte de sa phytodisponibilité. Cependant il existe des limites à la prédiction des quantités assimilables par l'appréciation de l'offre du sol à cause de certains facteurs liées à la plante et de l'interaction entre éléments en trace.

II.2. Formes chimiques du Cd dans les sols

La spéciation est la définition de la forme chimique ou de la phase porteuse, dans laquelle se trouve l'élément (forme ionique, structure moléculaire, association physique, support minéral ou organique) dans un milieu donné. Cependant, ce terme est surtout réservé à la définition des formes chimiques de l'élément quand celles-ci sont bien séparées et identifiées. Par exemple pour le Cd : Cd^{2+} , CdCl^+ , CdSO_4 etc. Cette spéciation est alors réalisée principalement en solution. La forme chimique des éléments, la nature et la localisation physique des parties du sol où se trouvent les éléments sont déterminantes pour la mobilité, que ce soit sous forme dissoute ou particulaire. Divers facteurs influent sur la forme chimique du Cd dans les sols et la phytodisponibilité. Ils sont liés principalement au sol lui-même et à la plante considérée (Figure 2). Le terme « terre » sera préféré à « sol » lorsqu'il s'agit d'études sur des échantillons de sol et non de caractéristiques des sols en général.

II.2.1. Facteurs liés au sol

La mobilité et la forme chimique du Cd dans les sols varient suivant les propriétés physiques et chimiques du milieu : taille et aire de surface des particules, masse volumique, température, aération, quantité et type de matière organique, pH, capacité d'échange cationique... (Ross, 1994). Le Cd peut être retenu dans la trame minérale d'argiles secondaires, incorporé dans des sesquioxides ou des sels insolubles, fortement lié aux surfaces de la phase solide ou encore peut exister en tant que cation échangeable dans des fractions organiques et inorganiques.

Le processus régissant la liaison du Cd avec les argiles serait principalement l'adsorption compétitive avec les autres cations (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Les concentrations de Cd en solution seraient déterminées plus par des processus d'adsorption que de précipitation jusqu'à ce qu'un certain seuil de pH soit dépassé. La solubilité de Cd apparaît comme étant très dépendante du pH. Le diagramme de solubilité du Cd indique qu'au-dessus d'un pH égal à 7,5, le Cd sorbé sur la phase solide n'est pas très soluble. Par conséquent, la solubilité de

CdCO_3 , et probablement de $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$ devrait jouer un rôle important sur la mobilité du Cd dans les terres. Dans les terres acides, la matière organique et les sesquioxydes déterminent la solubilité du Cd, et dans les terres de pH élevés, les composés de précipitation du Cd sont ceux qui prédominent sur l'équilibre (Street *et al.*, 1978). La nature des sites d'adsorption et des ligands organiques joue également un rôle important.

Pour déterminer la distribution du Cd entre différentes formes chimiques, on utilise successivement une série d'extractants, en débutant par le moins agressif et en terminant par le plus agressif. L'extractant le plus faible du système est le plus spécifique. Il existe un très grand nombre d'extractions séquentielles utilisées pour les sols, tentant d'identifier les métaux dans 9 fractions ou plus (Tessier *et al.*, 1979 ; Miller *et al.*, 1985 ; Sposito *et al.*, 1982).

Une extraction séquentielle, dans le cas d'un site de fonderie de cuivre, donne, pour le Cd, la répartition suivante (Hickey et Kittrick, 1984) :

- Echangeable : 35 %
- Carbonates : 15 %
- Oxydes de fer : 30 %
- Fraction organique : 2 %
- Phase résiduelle : 20 %

En général, le Cd est surtout dans la phase dite « échangeable » ou lié à la phase carbonatée. On le retrouve parfois lié aux acides humiques dans des solutions de sol (Bolton et Evans, 1991).

Influence du pH

Le pH influence significativement la mise en solution du Cd. En général, plus le pH est faible, plus le Cd est mobile (McBride *et al.*, 1997). En effet, les protons s'échangent avec les ions Cd^{2+} , notamment ceux sorbés sur les oxydes de fer et d'aluminium, et les libèrent dans la solution (Ross, 1994). Cependant, il n'y aurait pas de relation simple entre pH et Cd en solution (Malher *et al.*, 1982). Ainsi, on observe exceptionnellement de plus fortes concentrations de Cd dans des extraits de terres calcaires que dans des terres acides, à teneur en élément total égale.

Influence de la matière organique et de la capacité d'échange cationique

L'influence de la matière organique (MO) et celle de la propriété des sols à échanger des cations (CEC) sur les formes du Cd dans les sols sont discutées. En effet, certains les considèrent comme négligeables devant l'influence du pH (Chlopecka *et al.*, 1996). D'autres, comme Sanchez-Martin et Sanchez-Camazano (1993), ont montré l'influence de la CEC et du pool des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} sur l'adsorption et la mobilité du Cd. La quantité maximale de Cd

adsorbée dans les sols a été corrélée avec le contenu en matières organiques et la CEC (Levi-Minzi *et al.*, 1976), montrant que les ions Cd^{2+} étaient retenus sur la phase solide par des phénomènes d'échange ionique et de complexation. Une mesure pertinente pour l'évaluation de la capacité des sols à immobiliser les métaux lourds est celle de la quantité de métal qui peut être adsorbée, pour une faible activité donnée de la solution du sol. L'adsorption de Cd^{2+} semble en général suivre l'isotherme d'adsorption de Langmuir (Cavallaro et McBride, 1978). La capacité de rétention du Cd, ou encore la quantité de sites d'échange disponibles occupés par Cd^{2+} a été déterminée pour une activité de Cd^{2+} faible (10^{-5} M) pour plusieurs types de terres des USA, et le paramètre a été mis en relation avec les propriétés physiques de ces terres (McBride *et al.*, 1981). L'adsorption maximale du Cd serait corrélée principalement avec les bases échangeables (surtout Ca^{2+}), de manière moins importante avec la CEC et le pH, et faiblement avec les argiles et la matière organique. Ces résultats ont été trouvés également dans le cas d'autres métaux lourds comme Pb et Cu (Harter, 1979). Cd^{2+} est adsorbé sur la phase solide du sol par échange avec des cations basiques (Ca^{2+}) sur les argiles et la matière organique. Des études sur des argiles pures ont montré la capacité de Al^{3+} sur les sites d'échange à empêcher l'adsorption de Cd^{2+} (Garcia-Miragaya et Page, 1977). Cela semble être également le cas dans les sols.

La teneur totale et le type de matière organique modifient la mobilité de Cd dans les sols. Ce dernier peut alors former des complexes ou des sels, soit avec des molécules organiques naturellement présentes dans les sols (acides aliphatiques, polysaccharides...), soit avec des produits chimiques organiques issus de l'agriculture, de l'industrie ou des activités urbaines. La matière organique soluble aurait une plus grande capacité de complexation du Cd dans les terres calcaires qu'acides, ce qui expliquerait les fortes concentrations de Cd dans les extraits de certaines de ces terres (Malher *et al.*, 1982). Le Cd se lie aussi avec les matières organiques acido-solubles, possédant, du fait de leur solubilité, une grande capacité de transport des métaux toxiques.

Salinité des terres

La salinité des terres augmente fréquemment la phytodisponibilité (Bingham *et al.*, 1983 ; Li *et al.*, 1994) et la spéciation du Cd en solution (McLaughlin *et al.*, 1997). Une salinité élevée entraîne des concentrations élevées de Cd dans les tubercules de pomme de terre (McLaughlin *et al.*, 1994).

Influence de la fertilisation et des amendements minéraux

Souvent, la mobilité de Cd se trouve modifiée après des amendements minéraux (chaux, engrais) du fait de l'évolution consécutive du pH. Par exemple, l'azote sous forme

ammoniacale induit une augmentation des prélèvements de Cd par la plante par rapport à la forme ammoniaco-nitrique car le pH est abaissé (Wu *et al.*, 1989). D'autres apports comme les oxydes de manganèse hydratés (HOM) immobilisent ou limitent le transport de Cd (Didier *et al.*, 1993). Ceci serait dû aux sites réactifs de la surface des HOM qui se lieraient avec le Cd, ou encore à la formation d'oxydes de fer dans les sols (Mench *et al.*, 1994).

Dans les terres calcaires ou alcalines, les réactions de Cd^{2+} comme la précipitation de CdCO_3 ou la chemisorption sur les carbonates, en plus de l'échange ionique, doivent être prises en compte (Street *et al.*, 1977 ; McBride, 1980). La chemisorption de Cd^{2+} en présence de carbonates de calcium contrôlerait l'activité de Cd^{2+} en solution dans les terres calcaires et rendrait la solubilité plus faible que celle prédite par le produit de solubilité de CdCO_3 . La substitution de Ca^{2+} par Cd^{2+} sur les carbonates est à relier au rayon ionique très proche de ces deux cations (0,99 Å pour Ca^{2+} et 0,97 pour Cd^{2+}). Une diminution du prélèvement de Cd par les plantes est souvent observé pour des pH élevés, résultant de la précipitation et de l'adsorption du Cd sur la phase solide du sol (McBride, 1980), la compétition entre Cd^{2+} et Ca^{2+} sur les surfaces racinaires (Malher *et al.*, 1978 ; Costa et Morel, 1993), et/ou la déplétion de la translocation de Cd^{2+} des racines vers les parties aériennes due à un excès d'ions Ca^{2+} (Tyler et McBride, 1982). Par contre, le chaulage ne diminue pas toujours le prélèvement de Cd par les plantes (Hemphill *et al.*, 1982 ; Pepper *et al.*, 1983). Dans certains cas, les plantes ayant poussé sur des terres chaulées vs les mêmes terres non chaulées ont une teneur en Cd plus élevée (Mitchell *et al.*, 1978 ; Erikson, 1989, He et Singh, 1994).

Eh

Quand le potentiel redox décroît, le Cd devient moins disponible. Le prélèvement de Cd par des pousses de riz est contrôlé par Eh (Ross, 1994 ; Morel, 1997). Lorsque Eh est faible, le Cd est probablement précipité sous forme de sulfures, résultat qui peut être prédit par les diagrammes de solubilité de l'élément en fonction du potentiel redox et du pH.

Température du sol et humidité

Les réactions chimiques impliquant le Cd dans les sols sont gouvernées entre autres par la température, le contenu du sol en eau et son aération. L'élément est transporté dans la matrice du sol par diffusion ou convection, processus qui sont liés à T et H. Lorsque la température du sol est basse, la vitesse des réactions chimiques en général est ralentie. L'augmentation de la température accroît la phytodisponibilité du Cd (Haghiri, 1974, Giordano *et al.*, 1979). Giordano *et al.* (1979) ont montré des augmentations significatives des concentrations de Cd dans des brocolis et pommes de terre lorsque la température du sol augmente. Haghiri (1974) a fait la même observation avec des pousses de soja : la teneur du Cd dans le soja passe de 5,6

mg kg⁻¹ de matière sèche à 15,5 °C à 9,8 mg kg⁻¹ à 32,2 °C. Bien que l'augmentation de la température des sols ait tendance à augmenter l'absorption de Cd par les plantes, l'effet n'a pas vraiment été observé pour toutes les plantes (Giordano *et al.*, 1979).

Spéciation de l'apport

Ce ne sont pas seulement les quantités de Cd dans le sol qui influencent la mobilité ou la biodisponibilité du Cd mais aussi surtout la forme sous laquelle ce Cd a été incorporé (voire par la suite transformé) dans ce sol. Cunningham *et al.* (1975) ont étudié le prélèvement de Cd par le maïs et le seigle cultivés sur des terres amendées par différents types de boues de station d'épuration et ont observé des différences de prélèvement de Cd par les plantes quand la source de Cd variait entre plusieurs boues. Korcak et Fanning (1978) ont ajouté du Cd à une terre (2 mg Cd kg⁻¹) sous forme de sels inorganiques (CdSO₄) et la même quantité sous forme de boues de station d'épuration. La détermination du Cd dans les parties supérieures du maïs a montré que le prélèvement avait été 5 à 18 fois plus important quand la terre avait été amendée par CdSO₄ que par la boue, bien que le pH des terres dans ce dernier cas ait été légèrement inférieur.

Temps de contact entre le Cd et le sol

La biodisponibilité du Cd pour les cultures dépendrait également du temps d'incubation du Cd dans le sol (Jensen et Mosbaek, 1990). Hinesly *et al.* (1979) ont suivi la biodisponibilité du Cd pour le maïs sur une période de 5 ans après une application de Cd sous forme de boues de station d'épuration. Les résultats ont montré une baisse significative de la concentration de Cd dans les feuilles avec le temps écoulé depuis le dernier amendement. Par contre, Street *et al.* (1978) ont observé que la disponibilité du Cd pour les pousses de maïs diminuait avec le temps lorsque le Cd était apporté sous forme de CdSO₄ mais le prélèvement augmentait quand le Cd avait été apporté sous forme de boue. L'auteur a suggéré que cette disponibilité accrue du Cd pour les plantes cultivées sur des terres amendées par des boues de station d'épuration était due au passage en solution de Cd adsorbé sur la matière organique par le biais de la décomposition microbienne de celle-ci. Hamon *et al.* (1998) ont réalisé une étude pour examiner les changements en terme de Cd total et biodisponible dans une terre ayant été enrichie en Cd par fertilisation phosphatée (superphosphates) à différentes doses depuis 1948. Un modèle a été développé et le Cd serait fixé par la terre à un taux de 1 à 1,5 % du total ajouté par an. Cependant, la cinétique d'adsorption à long terme du Cd sur la phase solide de 2 terres (un sable limoneux et un limon sableux) a été étudiée par Christensen (1974). Après 20 h d'équilibration, le Cd en solution n'a pas diminué de plus de 11 % en 67 semaines et cette diminution était plus faible que l'erreur expérimentale. Les données de prélèvement de

Cd par les végétaux dans des essais à long terme n'ont pas permis de conclure quant à une diminution de la biodisponibilité du Cd avec le temps.

Interactions entre éléments

L'absorption de Cd par les plantes dépend également de la présence d'autres éléments comme Zn et Ca au voisinage des racines (Malher *et al.*, 1978 ; Costa et Morel, 1993) avec compétition pour des sites d'absorption ou des transporteurs transmembranaires.

En conclusion, le Cd est relativement mobile dans les sols par rapport à d'autres éléments en trace comme Pb et Cu (Alloway, 1995) mais la concentration totale dans la terre ne suffit pas pour évaluer le risque de transfert de l'élément vers la plante. La taille des compartiments de Cd phytodisponible est dépendante des propriétés du sol puisque le métal est associé à la phase solide et présent sous des formes chimiques variées. Certains processus végétaux peuvent modifier également les quantités assimilables.

II.2.2. Facteurs liés à la plante

Pour certains éléments majeurs, la fraction assimilable est la même quelle que soit la plante étudiée. Par exemple, le pool des ions phosphate biodisponibles est le même pour la plupart des espèces végétales (Fardeau et Jappé, 1976 ; Fardeau *et al.*, 1979, Morel et Plenchette, 1994). Cependant, les conditions rhizosphériques (acidification, exsudats, microflore) sont susceptibles de modifier la mobilité du Cd. Les racines exercent une forte influence sur leur environnement dans le sens où elles produisent des composés organiques et inorganiques qui sont relâchés dans le sol. Le terme « exsudats racinaires » est un terme générique concernant des composés allant des ions H⁺ à des molécules de haut poids moléculaire. Tout élément transféré vers la surface racinaire par diffusion et mass flow est sujet à des processus de mobilisation-immobilisation à l'interface sol-racine.

Exsudats racinaires, activité des micro-organismes de la rhizosphère

Certains exsudats ont des propriétés d'acides faibles et sont susceptibles de former des liaisons avec le Cd modifiant ainsi sa mobilité (Morel *et al.*, 1986). Ils interagissent avec les colloïdes du sol de nombreuses façons conduisant soit à une désorption ou une adsorption des contaminants dans la rhizosphère (McLaughlin, 1998). Relâchés au niveau de zones racinaires spécifiques, les exsudats diffusibles (acides organiques et aminés) peuvent augmenter la mobilité du Cd. Au contraire et à cause de leur nature pectique, les mucilages sont capables de lier, et par conséquent d'immobiliser, les ions aluminium et d'autres éléments en trace dans une mesure qui dépend de l'élément (Pb²⁺>Cu²⁺>>Cd²⁺>Zn²⁺) (Morel *et al.*, 1986).

Une augmentation du prélèvement de Cd par les plantes pour des pH élevés dans la terre pourrait résulter, dans le cas des graminées, de la production de phytosidérophores par les racines en réponse à une carence en fer (Fe) et/ou en Zn induite par le pH. L'acidification de la rhizosphère peut aussi être due à une nutrition azotée sous forme d'ions ammonium dont l'absorption par les racines entraîne une sécrétion de protons induisant une augmentation de la solubilité et du transfert de Cd vers les plantes (Wu *et al.*, 1989). La fixation d'azote atmosphérique chez les légumineuses est un autre facteur de diminution du pH rhizosphérique (Marschner *et al.*, 1986).

Le lupin blanc (*Lupinus albus* L.) est une légumineuse connue pour augmenter les quantités de P assimilable et d'autres éléments nutritifs par l'excrétion de citrate, d'acide citrique (Dinkelaker *et al.*, 1989) et d'ions H⁺ (Gardner et Parbery, 1982a et b). C'est dans les terres de pH relativement élevé que l'on peut observer la formation de racines protéoïdes et une mobilisation accrue de P, Fe et Mn (Gardner et Parbery, 1982a). Sur une terre calcaire de pH 7,5 déficiente en P (Dinkelaker *et al.*, 1989), des racines protéoïdes se sont développées en 13 semaines à hauteur de 50 % du poids racinaire total. Dans ces zones, le pH a été abaissé jusqu'à 4,8 et de nombreux précipités de citrate de calcium ont été visibles. Dans les zones proches de racines protéoïdes les concentrations en P biodisponible (eau, extractible à l'acétate lactate de calcium, Olsen) ont baissé et celles de Fe, Mn et Zn (eau, DTPA) ont augmenté. Un prélèvement de Cd plus élevé pour le tabac que pour le maïs a été attribué à l'architecture racinaire, à un pH plus faible dans la rhizosphère et à une plus forte capacité de liaison des exsudats racinaires de tabac (Mench *et al.*, 1989).

Les microorganismes de la rhizosphère sont également susceptibles de modifier la biodisponibilité du Cd dans les sols. « L'effet rhizosphère » correspond à une augmentation du nombre de microorganismes au voisinage des racines (Hiltner, 1904) due à la présence de carbone (exsudats) à l'interface sol-racine. Cette activité microbienne est susceptible d'altérer la solubilité des métaux (Marshner *et al.*, 1986, Marshner *et al.*, 1987). La biodégradation de la matière organique libère des ions métalliques dans la solution du sol ainsi que des composés organiques solubles qui sont susceptibles de maintenir les métaux en solution. Cependant les bactéries agissent sur les métaux de différentes façons : adsorption sur les surfaces cellulaires, complexation par des exopolysaccharides (Bitton et Freihoffer, 1978), liaison avec la paroi cellulaire (Boularbah *et al.*, 1992) et accumulation intracellulaire. Il a été montré que les bactéries pouvaient réduire de façon significative la phytodisponibilité du Cd (Boularbah, 1992).

L'effet des mycorrhizes sur le prélèvement d'éléments en trace par les plantes dépend des teneurs dans les terres (Li *et al.*, 1994 ; McLaughlin, 1998). Lorsque les concentrations sont faibles dans les sols, les mycorrhizes augmentent le prélèvement de l'élément par une augmentation de la surface racinaire ; surtout lorsque la diffusion de l'élément du sol vers les racines est faible. Dans les terres fortement polluées, le prélèvement peut être augmenté par la présence de mycorrhizes ou au contraire réduit par complexation de l'élément sur le mycelium externe ou les parois cellulaires.

Interception racinaire

La diffusion et le mass flow contribuent souvent peu à l'alimentation du végétal dans le cas des éléments en trace métalliques car ils sont le plus souvent énergiquement retenus sur la phase solide du sol (Juste, 1988). L'interception racinaire et la colonisation du sol par les racines compensent donc parfois la faible mobilité de l'élément. Par exemple, dans de petits vases de végétation, la betterave accumule plus de Cd que pour une même sol au champ (Page et Chang, 1978). Les ecto ou endomycorrhizes augmentent aussi la zone d'exploration racinaire (McLaughlin, 1998).

La phytodisponibilité du Cd dans les sols est donc une notion extrêmement complexe puisqu'elle fait intervenir une multitude de paramètres liés au sol et à la plante. Toutes les formes présentes dans la solution du sol n'ont pas forcément la même affinité pour les transporteurs membranaires des végétaux. Le concept de phytodisponibilité devrait donc concerner un couple « éléments en trace-végétal » et non pas seulement l'élément (Juste, 1988). Cependant une telle restriction équivaldrait à priver ce concept de toutes retombées opérationnelles dignes d'intérêt. Dans nos travaux les facteurs liés à la plante sont pris en compte lorsque celle-ci est le critère d'appréciation de la phytodisponibilité.

III. Devenir du cadmium dans la plante

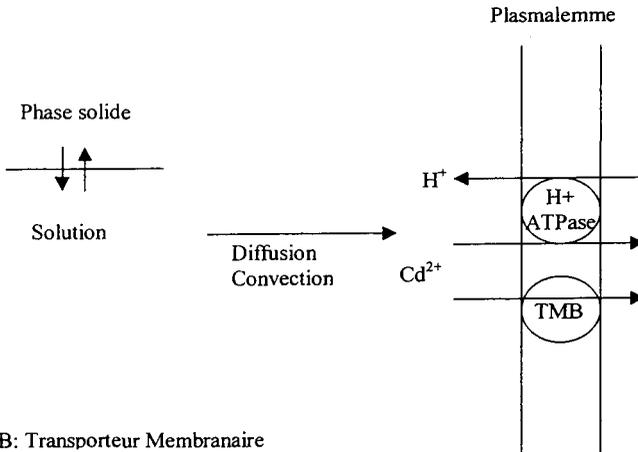
Le devenir du Cd dans la plante après absorption ne fait plus parti du concept de phytodisponibilité dans le sens où l'élément est effectivement assimilé. Par contre, les mécanismes de transfert lors de l'absorption au niveau de la racine, et l'effet « puits » que peuvent entraîner les prélèvements massifs d'élément par la plante, sont susceptibles d'influer sur les quantités assimilables. En effet, de forts prélèvements pourraient, en déplaçant les équilibres, entraîner le passage en solution d'une fraction de l'élément qui n'était pas phytodisponible à l'origine.

Les mécanismes homéostatiques faisant intervenir le Cd ne contrôlent pas les contenus en Cd des végétaux (Merian, 1984). Par exemple le riz contient 20 mg Zn kg^{-1} MS indépendamment du contenu en Cd de la terre considérée, alors que les concentrations du Cd varient entre environ $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ MS (pour une terre contenant moins de 1 mg kg^{-1} de Cd) et $3 \text{ à } 4 \text{ mg kg}^{-1}$ MS (pour des terres polluées par $2 \text{ à } 7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd).

III.1. Absorption racinaire

La forme ionique Cd^{2+} est celle immédiatement disponible pour la plante. Cependant, d'autres formes telles des complexes chlorés semblent être aussi assimilables par la plante, parfois au niveau de lésion dans les parois des cellules racinaires (Bingham *et al.*, 1984 ; Tyler et McBride 1982 ; Cabrera *et al.*, 1988 ; Smolders et Mclaughlin, 1996a ; Smolders et Mclaughlin, 1996b ; Smolders *et al.*, 1997 ; Mclaughlin *et al.*, 1997). La forme ionique est toutefois largement préférée aux formes chélatées (Cabrera *et al.*, 1988 ; Hamon *et al.*, 1995). La concentration instantanée de l'ion libre en solution est cependant insuffisante pour expliquer le prélèvement du métal par la plante, et la plupart du métal absorbé est issue de la phase solide. Les formes inorganiques du Cd des sols, en particulier les formes solubles, sont souvent plus disponibles que le Cd complexé avec des substances organiques (Ross, 1994).

Les mécanismes de transport du métal du sol vers la racine consistent en des flux convectifs et diffusifs. Le transport des métaux par convection est dû à la transpiration de la plante (Morel, 1985 ; Mullins et Sommers, 1986). La diffusion se fait sous un gradient de concentration du à un prélèvement de l'élément par la plante dépassant l'approvisionnement en celui-ci par mass flow. Ce flux constitue le principal mécanisme d'apports d'éléments au niveau de la racine. Les éléments pénètrent dans la racine par voie apoplasmique (jusqu'à l'endoderme), ou par voie symplasmique (Marshner, 1986) (Figure 3). L'absorption et l'accumulation du métal par les racines résultent à la fois de processus actifs et de processus passifs, dont l'importance dépend des concentrations dans les milieux (Cataldo *et al.*, 1981). L'absorption se fait grâce à des transporteurs membranaires protéiques ainsi que par la solubilisation de sels de la couche phospho-lipidique de la membrane plasmique. La racine se comporte alors comme une résine échangeuse d'ions, les métaux en traces s'associant à certaines molécules électronégatives (Haynes, 1990). Les mécanismes qualifiés d'actifs sont indirects. Ainsi, l'acidification du sol par excrétion de protons ou l'utilisation de molécules vectrices (ATP-ases) facilitent le transport du Cd de la solution d'absorption vers l'intérieur de la racine.



TMB: Transporteur Membranaire

Figure 3 : Entrée dans la cellule par voie symplasmique.

L'interaction avec d'autres éléments en trace peut influencer sur l'absorption du Cd par les racines. Le prélèvement du Cd par les plantes diminue lorsque la concentration en Zn assimilable dans la terre augmente (Vigue *et al.*, 1981). Il y aurait surtout compétitions entre les deux cations lorsque les concentrations du sol en Zn sont faibles (Oliver *et al.*, 1994). Par contre, une autre étude montre que plus les concentrations de Cd dans les terres augmentent, plus les prélèvements de Zn par la plante sont importants (Malher *et al.*, 1978). Dans ce cas, le fonctionnement des racines serait perturbé par le Cd et en conséquence les prélèvements de Zn seraient accrus.

III.2. Translocation du métal dans la plante

Le Cd est transporté dans les tissus sous forme ionique libre (Leita *et al.*, 1992) ou complexée et la translocation du Cd dans les tiges dépend de la transpiration des feuilles ou "mass flow" (Salt *et al.*, 1995). Cependant, le Cd peut être immobilisé dans la racine par des groupements pectiques et thiolates. Dans le xylème, le Cd peut être transporté sous forme liée avec des ligands azotés ou organiques (Salt *et al.*, 1995) ou sous forme libre, le Cd peut alors être piégé par des groupements COO^- ce qui limite son transfert. Il semble cependant que la plupart du temps, le Cd soit transporté dans les tissus sous forme complexée, certains facteurs affectant la stabilité de ces complexes (Mullins *et al.*, 1986; Goor *et al.*, 1976 ; White *et al.*, 1981).

La réduction des teneurs de Cd dans les parties aériennes de plantes cultivées sur terres chaulées est expliquée par une compétition entre Ca^{2+} et Cd^{2+} lors de l'absorption racinaire mais selon Tyler et McBride (1982) aussi lors de la translocation de l'élément des racines vers les feuilles.

III.3. Organes d'accumulation

La séquestration et l'accumulation du Cd permettent à la plante une détoxification de ses cellules. Les végétaux ont une capacité plus ou moins grande à accumuler le Cd. Les plantes fourragères ne contiennent souvent pas plus de 0,3 mg de Cd par kg de matière sèche (MS) (Wu *et al.*, 1989), alors que l'on trouve, chez des espèces hyperaccumulatrices comme *Thlaspi caerulescens*, des concentrations supérieures à 1000 mg kg^{-1} de MS (Brown *et al.*, 1994; Schwartz, 1997). Une plante comme *T. caerulescens* prélèverait jusqu'à 0,16 kg de Cd par hectare en un cycle cultural, pour des terres dont la concentration en Cd voisine les 14 mg kg^{-1} (Baker *et al.*, 1993; Schwartz, 1997). Le taux d'extraction de ces végétaux est alors au moins dix fois plus élevé que celui de plantes non accumulatrices.

La répartition du Cd dans les organes végétaux varie suivant les espèces et même suivant les variétés. Ainsi, Wagner et Yeagan (1986) expliquent que chez le tabac, la variété *rustica* accumule le Cd dans ses racines, alors qu'on le retrouve dans les racines et dans les feuilles de la variété *tabacum*. En général, la concentration du Cd dans les racines est trois fois plus importante que dans les parties aériennes (Chino et Baba, 1981). Dans les pommes de terre, on retrouve parfois plus de 0,1 mg de Cd kg^{-1} de matière fraîche (McLaughlin *et al.*, 1997). Enfin, le Cd s'accumule plus dans les feuilles et tiges que dans les organes reproducteurs (Sameni *et al.*, 1987).

III.4. Toxicité du Cd pour les végétaux

La courbe dose/réponse de la plante au Cd, qui n'est pas un élément essentiel, diffère de la « courbe en cloche » observée dans le cas du Zn par exemple. Deux domaines sont identifiables : la tolérance et la toxicité (Figure 4).

Quand la concentration du Cd dans les tissus atteint le seuil de toxicité, les fonctions physiologiques sont affectées et la croissance ralentie. La chlorose et la nécrose, dues le plus souvent à une carence en fer induite par l'excès de Cd, accompagnées d'une chute de rendement, sont les symptômes majeurs de la toxicité. Des désordres du métabolisme peuvent se manifester avant l'apparition même de symptômes visuels (réduction de la photosynthèse, déséquilibre d'autres éléments...).

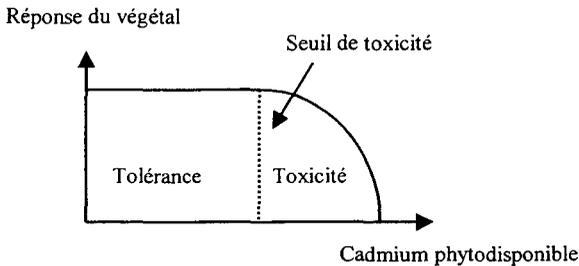


Figure 4 : Courbe de dose/réponse schématique des plantes aux Cd.

III.5. Stratégies des plantes vis-à-vis des métaux

Pour survivre en milieu pollué, les végétaux mettent en place des mécanismes qui comprennent l'exclusion du métal, l'exsudation et/ou la détoxification lors de l'accumulation d'éléments toxiques.

L'exclusion est basée, pour certains auteurs, sur la restriction des prélèvements par la plante. (Turner, 1994). Ainsi, la pénétration du métal dans les cellules peut être limitée par la formation de mycorhizes, l'altération de la perméabilité membranaire, l'exsudation de substances chélatantes et la prolifération de racines dans les horizons non contaminés (Uren et Reisenauer, 1988 ; Weissenhorn *et al.*, 1995). Pour d'autres, il n'y aurait en général pas de régulation des prélèvements, mais une restriction du transport de la racine vers les parties aériennes, phénomène nécessitant une détoxification ultérieure (Baker, 1981).

La détoxification est un mécanisme qui repose sur la complexation du métal, dans les cellules des racines, pendant le transport, ou dans les parties aériennes (Cataldo *et al.*, 1981 ; Boyd et Martens, 1991). En fait, le Cd se retrouve surtout dans l'apoplasme. En général au niveau cellulaire, on ne retrouve pas ou peu de Cd accumulé sous forme libre (Robinson, 1990), mais stocké dans les vacuoles (Vásquez et Barcelò, 1992; Vásquez *et al.*, 1989). Les phytochélatines (γ -glutamate-cystéine)_n-glycine joue un rôle dans la détoxification des cellules, de même que certaines protéines de liaison solubles (cystéine, méthionine), capables de retenir les ions métalliques par leurs groupements thiolates (Robinson, 1990 ; Leita *et al.*, 1992). Les phytochélatines seraient les composés majeurs responsables de la chélation des ions libres toxiques chez les plantes supérieures, mais leur production n'explique pas seule les mécanismes de tolérance (Turner, 1994).

L'évitement et la détoxification sont deux stratégies de tolérance qu'adopterait tour à tour une même espèce, s'adaptant ainsi à la concentration des métaux dans les sols (Baker, 1981). Suivant leur capacité à absorber, accumuler et tolérer le Cd dans leurs tissus (Wagner et Yeargan, 1986 ; Alloway, 1995), les plantes présentent trois principaux types de réponses au Cd. Avec l'exclusion, les plantes maintiennent le niveau de Cd dans leurs parties aériennes faibles et constant jusqu'à un niveau critique dans le sol. Les plantes indicatrices régulent le prélèvement de Cd de manière à ce que leur concentration interne reflète celle du sol. Enfin, les accumulatrices concentrent le Cd quelle que soit la teneur dans le sol (Baker, 1981). Les hyperaccumulateurs sont un type extrême d'accumulateur (Jaffré *et al.*, 1976 ; Brooks *et al.*, 1977) avec *Thlaspi caerulescens* ayant la capacité de contenir plus de 0,2 % de Cd dans ses parties aériennes (Brown *et al.*, 1994 ; Schwartz *et al.*, 1997).

IV. Estimation de la phytodisponibilité des éléments en trace dans les sols

La concentration totale en Cd dans les sols ne donne pas d'information précise sur le risque de transfert de cet élément vers la plante. La caractérisation des quantités de Cd phytodisponible consiste souvent en la mesure de la taille des compartiments qui approvisionnent la solution du sol en Cd²⁺ durant la période de culture de la plante. De nombreux chercheurs ont tenté de prédire la phytodisponibilité par des approches diverses : biologie, chimie, physique, démarches expérimentales plus ou moins perturbatrices du milieu étudié, et plus ou moins spécifiques de l'élément.

IV.1. Méthodes biologiques

IV.1.1. Utilisation de végétaux

Il s'agit dans certains cas de cultiver une espèce végétale sur la terre à étudier et d'analyser, au cours ou à la fin du cycle cultural, le prélèvement total en l'élément étudié. Cette méthode apporte une réponse précise à la question du transfert réel des métaux du sol vers une espèce, voire une variété végétale. Cependant, la quantité d'élément transférée dans la plante ne reflète évidemment pas, la plupart du temps, l'ensemble des quantités phytodisponibles. Pour cela, la plante (par exemple une hyperaccumulatrice) devrait absorber entièrement les quantités de l'élément assimilable durant la période de culture.

D'autres expériences sur végétaux comprennent des tests de germination, d'élongation de racines et des tests de croissance pour juger de la phytotoxicité et du risque de contamination

de la chaîne alimentaire. Les plantes peuvent être utilisées enfin pour déterminer les quantités labiles de Cd dans le sol, ceci grâce au principe de la dilution isotopique (cf. paragraphe IV.3.2). Les tests sur les végétaux donnent alors une image réelle de la phytodisponibilité et sont utiles pour tester la toxicité globale des sols pollués. Il existe cependant plusieurs inconvénients à l'utilisation de végétaux pour juger de la phytodisponibilité des éléments en trace dans les sols. Les expériences sont coûteuses en temps et la réponse est spécifique de la plante étudiée. D'autre part, le prélèvement d'éléments essentiels ou non par la plante perturbe le système étudié puisqu'il crée des déséquilibres en terme de concentrations dans le sol.

IV.1.2. Tests microbiologiques

Des microorganismes sont utilisés pour évaluer la biodisponibilité des métaux dans les sols et donnent une indication sur la phytodisponibilité. En effet, certaines activités ou biosynthèses enzymatiques sont inhibées par des éléments métalliques. Ainsi, MetPLATE, un test commercial, est basé sur l'inhibition de la β -galactosidase chez un mutant d'*Escherichia coli* par les métaux en traces présents sous des formes biodisponibles (Bitton *et al.*, 1994). La réponse de la bactérie aux métaux en traces est mesurée à partir de l'intensité de la coloration pourpre indicatrice de l'activité enzymatique. Le test donne une réponse corrélée à celle des plantes tests et permet ainsi de prévoir le comportement de la plante (phytotoxicité et accumulation de métaux dans les tissus) dans les sols contaminés. On pourrait y voir une application dans l'évaluation rapide du risque de transfert potentiel d'éléments polluants du sol vers les productions végétales agricoles.

Cette méthode ne perturbe pas le système étudié mais est peu spécifique par rapport à chaque élément en trace.

IV.2. Méthodes chimiques

IV.2.1. Cinétiques et isothermes de sorption-désorption

La concentration des éléments en trace en solution, et par conséquent, leur phytodisponibilité et leur toxicité, dépend principalement de réactions de sorption-désorption entre la solution et la phase solide (Swift et McLaren, 1991). Lors d'une cinétique de sorption, pour le Cd, on suit, en fonction du temps, l'évolution des quantités en solution, pour une concentration de Cd donnée introduite au départ. La valeur d'équilibre en solution permet de construire des isothermes d'adsorption, où l'on représente l'évolution des quantités adsorbées en fonction de cette valeur. Les modèles de Langmuir ou de Freundlich permettent alors de définir les paramètres caractéristiques de l'isotherme. Ces études décrivent en particulier les phénomènes

de sorption sur des substances modèles : argiles (McLaren *et al.*, 1998), oxydes (Bakes *et al.*, 1995), substances organiques (Morel, 1985). Réalisées sur des terres, elles ont permis de déterminer quels étaient les paramètres prédominant sur la sorption de Cd (par exemple le pH) (Filius *et al.*, 1998). Cependant, ces méthodes ne donnent pas d'indication directe sur les quantités de Cd phytodisponibles et ne prennent pas en compte d'autres réactions comme celles de dissolution-précipitation.

IV.2.2. Extractions chimiques simples

Les extractions chimiques sont utilisées comme alternative aux expériences avec les végétaux. Elles permettent de mesurer les possibilités de rupture de liaison entre élément et phase solide, c'est à dire la capacité de l'élément à être transféré de la phase solide du sol vers la solution. Elles visent à simuler la mise en solution des ions métalliques au cours d'un cycle cultural. Il existe plusieurs types d'extractants, plus ou moins agressifs vis à vis des constituants du sol. Certains montrent une bonne capacité à évaluer la fraction de Cd assimilable par la plante : DTPA, eau déionisée, CaCl_2 et NaNO_3 entre autres.

DTPA (Acide Diéthylène Triamine Pentacétique)

Ce complexant organique serait capable de mettre en solution les éléments échangeables, les éléments complexés, en particulier à la matière organique, ainsi que ceux fixés sur les hydroxydes du sol (Fe, Mn, Al). Il est utilisé par Lindsay et Norwell (1978) dans le mélange TEA (triéthanolamine) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, DTPA $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, ajusté à pH 7,3. En effet, CaCl_2 et TEA limitent la dissolution du CaCO_3 et la libération de métaux dans la solution. Le mélange permet, à pH 7,3, une complexation optimale de certains éléments en trace métalliques comme Fe, Mn, Cu ou Zn.

Cette méthode a été largement employée et donne de bons résultats pour l'évaluation de la biodisponibilité de Cu et Zn, dans le cas des cultures de maïs, sorgho, blé sur des terres neutres à alcalines. Le mélange DTPA-TEA- CaCl_2 de Lindsay et Norwell ne serait efficace que dans le cas de terres à pH basique ou neutre, et pour l'étude de carences en Cu, Zn, Fe et Mn (Lebourg, 1996). En général, la fraction de Cd extraite par DTPA-TEA- CaCl_2 est plus ou moins corrélée avec celle effectivement prélevée par les plantes. Rocca et Pomares (1991) ont pu obtenir une bonne estimation de l'assimilation du Cd par la laitue, sur une terre carbonatée polluée par des boues de station d'épuration. Par contre, Brown *et al.* (1989) n'ont obtenu aucune corrélation sol-plante dans le cas de la culture du ray-grass, sur des terres de différents pH, de même que Kuo (1990) pour des betteraves cultivées sur terres acides amendées par des boues, et Hooda et Alloway (1993) pour du ray-grass cultivé sur des terres acides amendées

par des boues ou enrichis par du $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. En effet, dans le cas de terres acides, la capacité de complexation du réactif serait saturée. De même, l'usage de ce mélange pour extraire les métaux de sols contaminés a été critiqué par O'Connor (1988) à cause d'une saturation de la capacité complexante de la solution.

Eau déionisée

Ce réactif simule l'extraction du Cd par les plantes, car les racines puisent l'élément dans la solution du sol. Cependant, les mesures de Cd sont perturbées par la présence en solution de particules colloïdales porteuses du métal. De plus, la faible quantité de Cd mis en solution pose des problèmes de limite de détection en spectrophotométrie d'absorption atomique (Lebourg, 1996).

CaCl_2

Cette solution saline permet la mise en solution du Cd par échange entre Ca^{2+} et Cd^{2+} . Ce passage en solution dépend aussi sans doute des capacités de complexation de Cl^- , voire de Ca^{2+} , avec le Cd (Lebourg, 1996). Des concentrations allant de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ à $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sont employées avec une efficacité souvent prouvée pour l'évaluation de la biodisponibilité du Cd (Gupta et Aten, 1993; Wu *et al.*, 1989). Certains auteurs (Jackson et Alloway, 1991) estiment cependant que le pH des terres doit être supérieur à 5,5, et que la formation de complexes entre Cl^- et Cd^{2+} peut entraîner une augmentation de la fraction de Cd.

NaNO_3

Il permet de pallier ces problèmes de complexation et est souvent utilisé à $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pour ses capacités à ne pas perturber le pH des terres et à ne pas avoir de propriétés complexantes (Gupta et Aten, 1993). L'extraction par NaNO_3 simule également les compétitions entre certains ions, les rôles du pH et de la CEC sur la disponibilité du Cd (Gupta et Stadelmann, 1984; Gupta, 1987).

Les facteurs liés à la plante sont rarement pris en compte par les méthodes chimiques qui permettent de caractériser la mobilité de l'élément plutôt que sa phytodisponibilité. Les extractions chimiques donnent une quantité d'élément en trace qui est corrélée dans certains cas avec celle prélevée par la plante test. Cependant, les corrélations entre phytodisponibilité et mobilité mesurée par le réactif ont été établies dans la majorité des cas pour un cultivar et un environnement racinaire unique. Or comme nous l'avons vu, certains facteurs du milieu ou des caractéristiques du végétal peuvent modifier fortement la phytodisponibilité d'un élément sans que la mobilité de ce dernier estimée par un réactif chimique soit affectée. De plus, même si les quantités sont statistiquement égales, les ions métalliques extraits par un réactif

chimique ne sont pas forcément ceux absorbés par la plante. En effet, l'utilisation des extractants perturbe fortement les propriétés du sol. Il peut y avoir mise en solution d'éléments qui ne sont pas phytodisponibles et d'autre part une immobilisation d'ions assimilables pour les plantes.

IV.3. Méthodes isotopiques

Les méthodes isotopiques, lorsqu'elles sont utilisées en conformité avec la théorie, ne sont pas perturbatrices du système dans le sens où l'isotope radioactif est ajouté en proportion négligeable par rapport à l'élément stable. Par contre la dilution de sol ou l'agitation de celui-ci avec de l'eau ou un électrolyte dans le but de mesurer des quantités isotopiquement échangeables peuvent être perturbatrices du milieu.

IV.3.1. Principe de la dilution isotopique

La méthode est basée sur la dilution d'un isotope dans un ensemble de l'élément à étudier. Dans un système complexe comprenant un grand nombre de compartiments (ou pools), un compartiment est défini comme étant un ensemble de composés qui ont statistiquement les mêmes propriétés cinétiques (Atkins, 1973). Lorsqu'un traceur isotopique est introduit dans un compartiment particulier, si deux échantillons qui ont été en contact avec lui ont la même activité spécifique (élément radioactif/élément stable) après une période d'échange donnée, on peut affirmer que l'élément présent dans les deux échantillons provient d'un même compartiment du système.

IV.3.2. Application à l'estimation de la fraction phytodisponible des éléments dans les sols

Le principe de la dilution isotopique a été appliqué au sol dès les années 40 pour étudier les éléments majeurs et en particulier le phosphore, en comparant l'activité spécifique du phosphate absorbé par les plantes et celle dans l'engrais ajouté à la terre étudiée (Fried et Dean, 1952; Larsen, 1952 ; Barbier *et al.*, 1954 ; Russell *et al.*, 1954).

L'activité spécifique (AS) d'un élément dans un système est définie par le rapport entre la quantité d'élément marqueur dans le système étudié et la quantité d'élément marqué dans le même système, à un instant t . La mesure de la radioactivité dans le système, à l'instant t , doit se faire pour la même forme chimique que celle apportée initialement. Par exemple, pour une quantité donnée d'ions phosphate radioactifs apportés dans une terre, l'activité spécifique du phosphate dans une plante cultivée sur cette terre, est définie par l'expression suivante ([Eq.1]):

$$AS = r_i/P_P \quad [\text{Eq.1}]$$

avec r_i la quantité d'ions phosphate radioactifs dans la plante (en Bq kg^{-1} terre) et P_P la quantité d'ions phosphate stables dans la plante (en mg kg^{-1} terre) à l'instant t . A cette valeur d'activité spécifique est venue se substituer la « composition isotopique » de l'élément dans la plante (CI_P) ou la solution du sol (CI_S) qui permet de prendre en compte la radioactivité initialement introduite dans le système.

Depuis, des recherches sur les éléments en trace ont fait appel à ces techniques de dilution isotopique dans le but de déterminer les quantités labiles et la phytodisponibilité des éléments majeurs dans de larges gammes de terres (Tiller *et al.*, 1972). Le pool labile du sol est, d'après la définition de Lopez et Graham (1970), la quantité de l'élément, dans la solution du sol et sur la phase solide, mesurée grâce à l'utilisation d'isotopes, soit par équilibre chimique soit par prélèvement par la plante, qui devient assimilable pendant la durée de la végétation. Ainsi Lopez et Gram (1972) ont étudié par ce moyen les pools labiles de Mn, Fe, Zn Co et Cu dans des terres présentant des déficiences en l'un ou plusieurs de ces éléments.

Détermination des quantités L et E

Le pool labile d'un élément peut être caractérisé soit par la valeur L (mesurée par prélèvement par la plante), soit par la valeur E (mesurée par équilibre chimique) appelée aussi quantité de l'élément isotopiquement échangeable.

Le principe de la détermination de L est d'apporter un élément marqué dans une terre sur lequel on cultive des végétaux et de mesurer en fin de culture l'activité spécifique de l'élément dans ces plantes ([Eq.2]).

$$L = (1/AS_{\text{plante}}) * R \quad [\text{Eq.2}]$$

où R est la radioactivité initialement introduite dans un kg de sol (Bq kg^{-1} sol).

Pour la détermination de E, différentes méthodes sont utilisées. Le système sol-solution est préparé soit avec de l'eau distillée, soit avec une solution extractante composée de CaCl_2 (Tiller *et al.*, 1972), ou de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Young *et al.*, 2000), soit de DTPA, CaCl_2 et acétate de sodium lorsque les terres sont déficientes en l'élément étudié (Lopez et Graham, 1972). On retrouve dans les protocoles les principales étapes suivantes : addition de traceur dans un système sol-solution (souvent mis à l'équilibre au préalable), mise à l'équilibre, puis centrifugation et mesure de l'activité spécifique de la solution. La valeur E est définie par l'équation [3] :

$$E = 1/(AS_{\text{solution}}) * R \quad [\text{Eq.3}]$$

où R est la radioactivité initialement introduite dans un kg de sol (Bq kg^{-1} sol)

Intérêt de la valeur L

La détermination de la valeur L (Larsen, 1952) permet d'obtenir une estimation des quantités totales de métaux en traces accessibles par les plantes. Ainsi Smolders *et al.* (1999) montrent que les quantités de Cd phytodisponible pour le blé s'échelonnent entre 55 et 100 % du Cd total pour différents sols agricoles pollués plus ou moins fortement (bruit de fond ou pollution industrielle métallique). La détermination de la valeur L est toujours utilisée actuellement, et elle a permis récemment dans le cas du Cd d'étudier les modifications de la phytodisponibilité dans des terres ayant reçu des engrais phosphatés depuis 1948 (Hamon *et al.*, 1998). 60 % du Cd total serait sous une forme phytodisponible dans des terres non fertilisées depuis 1975 et disponible à 72 % pour les terres fertilisées jusqu'à de nos jours. La comparaison de valeurs L entre différentes plantes pour une même terre étudiée, permet également de savoir si les plantes ont toutes accès à la même fraction de l'élément dans le sol. C'est ainsi que Hamon *et al.*, (1997) ont montré que plusieurs plantes courantes telle la laitue ou le ray grass avaient accès aux mêmes compartiments de Cd et Zn pour une terre sablo-limoneuse. De même, il a été montré que l'hyperaccumulatrice de Ni *Alyssum murale* prélevait Ni^{+} dans le même compartiment du sol que le trèfle violet pour une terre limoneuse contenant peu de Ni, et pour un sol de serpentine (Shallari, 1997).

Application de la détermination de L au choix d'extractants chimiques pour caractériser la phytodisponibilité

A partir de l'activité spécifique de l'élément dans la plante, l'efficacité de plusieurs extractants chimiques pour l'évaluation de la phytodisponibilité des éléments en trace peut être testée en comparant l'activité spécifique des métaux dans les plantes à celles des extraits. C'est ainsi que l'EDTA ou le DTPA plus que des acides faibles ont souvent été retenus pour déterminer les formes phytodisponibles des métaux dans les sols (Rule et Graham, 1976). Les acides dilués pourraient en effet dissoudre des formes (pour le Zn par exemple) qui ne sont pas assimilables pour les plantes (Tiller, 1996).

Limite de la méthode de dilution isotopique

La principale limite à l'utilisation de la méthode de dilution isotopique est selon Tiller (1996) le risque d'avoir une adsorption irréversible du radioélément dans la terre, ce qui peut conduire à une surestimation de la valeur E. Ainsi, la valeur E dans le cas de Zn^{2+} ne permettrait pas une estimation de sa biodisponibilité dans des terres de pH élevés à cause de la fixation irréversible du ^{65}Zn ajouté (Tiller *et al.*, 1972). Mais la principale source d'erreur lorsque l'on utilise la dilution isotopique, est de mesurer en solution des formes marquées et

stables qui ne sont pas du même type (ionique) que la forme radioactive introduite initialement (dans le cas présent Zn^{2+}).

IV.3.3. Valeurs E et L du Cd et propriétés des sols

L'influence du type de sol récepteur d'une pollution cadmiée par rapport aux caractéristiques même de l'apport a été prouvée. L'estimation du Cd^{2+} isotopiquement échangeable a été réalisée pour une terre limono-argileuse (pH de 6,1) et une terre sablo-limoneuse (pH de 7) ayant reçu les mêmes quantités de boues de station d'épuration depuis 10 ans. Les résultats ont montré un effet significatif de la terre sur les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable (Fujii et Corey, 1986) (3,4 mg Cd kg^{-1} terre en 72 h pour le premier sol, 2 mg Cd kg^{-1} terre pour le second). Les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable ont été mesurées également par dilution isotopique pour 33 terres ayant des teneurs variables en Cd total (Nakhone et Young, 1993). Dans terres où le Cd avait une origine géologique la valeur E n'était pas plus faible que dans des terres polluées par les poussières de fonderie. Ni le pH ni le contenu total en Cd n'ont pu être corrélés directement à la valeur E (ni aux valeurs L). Cependant les terres ayant à la fois un faible contenu en Cd total et un pH élevé présentaient les plus faibles valeurs L. Dans une étude sur le Cd de terres amendées par des boues de station d'épuration, Pandeya *et al.* (1998) ont montré que le pool labile était corrélé à la teneur de la terre en argiles. Le pool labile (estimé par une mise à l'équilibre de la terre à pH 7 avec du ^{115}Cd) pouvait être décrit à 89 % par le pH et la teneur en argiles. En outre, ce pool était corrélé à la concentration du Cd dans les plantes étudiées ($r=0.93$). Par contre, aucune relation n'a été établie entre le pool de Cd labile et le contenu de la terre en matière organique. D'autres travaux ont montré cependant que la quantité de Cd adsorbée dans les terres (qu'on peut rapprocher du pool non labile) était pour certaines, corrélé avec cette caractéristiques (Levi-Minzi *et al.*, 1976).

IV.3.4. Influence de la plante sur les pools labiles

Comparaison des valeurs E et L

Des différences entre les valeurs E et L permettent d'indiquer dans quelle proportion la plante est capable d'accéder à des fractions non labiles de l'élément dans le sol, en altérant les conditions rhizosphériques. Il faut toutefois admettre que la valeur E mesurée représente effectivement les quantités isotopiquement échangeables dans le sol. Un prélèvement par la plante, dans une fraction où l'isotope ne s'est pas dilué, entraîne une décroissance de l'activité spécifique de l'élément dans la plante, et par conséquent une augmentation de la valeur L,

comparée à la valeur E. Des différences entre les valeurs E (DTPA 0,05 M + CaCl₂ 0,01 M, 48 h) et L (Sorgho) ont été observées dans le cas du fer (Dyanand et Sinha, 1985). Les valeurs L de terres calcaires dépassaient les valeurs E correspondantes (3 à 18 fois plus importantes). La capacité des plantes à mobiliser des ions non labiles a été montrée également dans le cas du P (Hedley *et al.*, 1982).

Dans le cas du zinc, Tiller *et al.* (1972) ont comparé les valeurs L dans le trèfle avec les valeurs E (CaCl₂ 0,05 M, 6 j) de 25 terres différentes. Dans toutes les terres de pH < 7 les valeurs E et L étaient similaires. Dans les terres de pH > 7, les valeurs L étaient significativement inférieures (jusqu'à 20 fois moins). Le fait que la mesure de E puisse être erronée dans les terres de pH élevé a alors été discutée. Certaines valeurs E du Zn dépassaient le Zn total de la terre. De plus, la quantité d'entraîneur ajouté avec le ⁶⁵Zn modifiait les résultats en terme de valeurs E. Hamon *et al.* (1997) ont montré pour leur part que différentes plantes présentaient des activités spécifiques du Zn identiques dans une terre sablo-limoneuse, ce qui démontre qu'aucune d'elles n'avait accès à des compartiments de Zn non isotopiquement échangeables.

Le fait que la valeur E soit supérieure à la valeur L pourrait indiquer que la plante a prélevé préférentiellement l'isotope par rapport à l'élément stable. Ceci implique que celui-ci ne s'est pas entièrement dilué dans le pool labile. Cette situation peut avoir lieu par exemple lorsque l'isotope est localisé préférentiellement sur les sites externes d'adsorption des micro-agrégats du sol, ce qui peut arriver lorsque le marquage n'est pas homogène et que la terre n'a pas été minutieusement mélangée.

Cas du Cd

Peu d'expériences ont comparé les valeurs E et L pour le Cd (plus précisément Cd²⁺). Dans l'expérience décrite par Nakhone et Young (1993), pour chaque terre, la valeur L du Cd était supérieure à la valeur E correspondante. D'après les auteurs, les différences seraient dues à différentes conditions d'échange isotopique entre la terre rhizosphérique et l'extrait par le CaCl₂. Smolders *et al.* (1999) ont mesuré les valeurs L et E du Cd pour du blé cultivé sur 10 terres belges. Les valeurs L dépassaient toujours les valeurs E correspondantes (1,05 à 1,4 fois supérieures), suggérant que les conditions rhizosphériques auraient entraîné une solubilisation d'une fraction de métal non labile. Afin d'étudier la capacité de plantes hyperaccumulatrices de Cd et de Zn à mobiliser du Cd non labile dans les terres, les valeurs L de 6 populations de *Thlaspi caerulescens* ont été comparées à une valeur E déterminée par agitation de terre avec Ca(NO₃) (Hutchinson *et al.*, 2000). Les terres étudiées étaient contaminées par du Cd provenant soit d'industries métallurgiques (Cd total entre 130 et 770 mg kg⁻¹ terre, pH 7), soit

de boues de station d'épuration (Cd total entre 59 et 73 mg kg⁻¹ terre, pH 6,2). Les rapport L/E était très proche de 1 pour la majorité des plantes et des terres étudiées. Par conséquent, même pour des espèces hyperaccumulatrices ayant une très forte affinité pour Cd, il n'y a pas eu de mobilisation de Cd non labile.

Dans le cas de plantes à prélèvement plus modéré en Cd, Hamon *et al.* (1997) ont montré que différentes plantes communes avaient accès à des fractions de Cd différentes de celle assimilable par le colza. En effet, la valeur L du colza était plus faible que celles mesurées pour les autres plantes pour une terre sablo-limoneuse peu contaminée et à tendance acide (Cd total de 0,2 mg kg⁻¹, pH CaCl₂ 4,9). Hamon *et al.* (1997) y ont trouvé une valeur L comprise entre 20 % pour le colza et de 36 % pour un ensemble d'autres espèces végétales dans une terre. Plus de 60 % du Cd n'était donc pas assimilable pour les plantes malgré le pH, ce qui a conduit les auteurs à suggérer que la phytodisponibilité du Cd avait diminué au cours du temps pour cette terre dont le Cd provenait majoritairement de superphosphates appliqués sur le long terme.

IV.3.5. Application étendue : les cinétiques d'échange isotopique

La valeur E a été définie au départ pour une période d'échange donnée (Russell *et al.*, 1954). Par la suite, il a été montré que cette valeur était dépendante du temps d'échange (Probert et Larsen ; Fardeau, 1981). Un premier modèle mathématique a alors été proposé pour décrire l'augmentation de E en fonction du temps d'échange de l'élément avec son isotope radioactif ([Eq.4]).

$$E(t) = E(0-1 \text{ min}) t^n \quad [\text{Eq.4}]$$

La valeur E(t) est calculée en faisant l'hypothèse que le principe de la dilution isotopique est applicable [Eq. 5 et 6] : à quel que moment que ce soit, le rapport élément marqué (r_i) sur élément non marqué dans la solution du sol (P_S) est égal à l'élément présent sous forme échangeable dans les phases liquides ou solides :

$$r_i/P_S = R/E(t) \quad [\text{Eq.5}]$$

soit

$$E(t) = P_S/(r_i/R) \quad [\text{Eq.6}]$$

L'évolution de r_i en fonction du temps dans une suspension terre-eau à l'équilibre peut être décrite par l'équation [7] (Fardeau, 1981) :

$$r_i/R = m + (m)^{1/n_0} t^{-n} + R_\infty/R_0 \quad [\text{Eq.7}]$$

où n rend compte de la décroissance du ^{32}P restant en solution. Les paramètres m et n peuvent être déduits d'une régression sur les premiers points expérimentaux du suivi de la cinétique d'échange (par exemple 1, 4, 10 et 40 minutes). Le ratio R_{∞}/R_0 correspond à la dilution maximale de la radioactivité dans le système. Pour le phosphore, $R_{\infty}/R_0 = P_s/P_T$ car la quantité maximale où peut se diluer la radioactivité introduite correspond à la quantité totale de P dans la terre étudiée.

On peut donc grâce à cette modélisation de r/R calculer $E(t)$ pour des temps bien plus longs que ceux utilisés dans la mesure au laboratoire, et ainsi déduire dans le cas des ions phosphate la quantité isotopiquement échangeable E pour le temps d'une culture végétale. Cette extrapolation a également été réalisée dans le cas de Ni^+ (Echevarria *et al.*, 1998 ; Shallari, 1997).

Cette approche permet d'avoir une représentation dynamique des compartiments échangeables des éléments dans les sols (Fardeau, 1993). Un modèle pluri-compartimental dit « mamellaire » permet de visualiser la taille des compartiments isotopiquement échangeables en fonction du temps, avec une indication sur la concentration de l'élément en solution (facteur intensité) et la capacité du sol à maintenir constante cette valeur (facteur capacité ou pouvoir tampon) (Figure 5). Suivant les auteurs et l'élément considéré, les compartiments ne sont pas définis pour les mêmes temps d'échange. Ainsi pour les ions phosphate (Fardeau, 1993) les compartiments ont été déterminés par rapport au fonctionnement biologique de la plante et en particulier les phénomènes d'absorption active des ions phosphate :

- entre 0 et 1 min, période choisie de façon empirique pour définir les quantités réellement quasi-instantanément échangeables, comprenant des ions PO_4^{3-} de la solution et de la phase solide du sol ayant des propriétés cinétiques identiques (Tran *et al.*, 1988).
- entre 1 min et 24 h, ce qui correspond au temps pendant lequel la racine reste active par rapport à l'absorption des ions phosphate (phénomène actif par opposition au « mass flow »)
- entre 24 h et 3 mois, pour rendre compte des quantités échangeables durant la période de culture de la plante
- entre 3 mois et un an, c'est à dire les quantités qui ne sont pas isotopiquement échangeables durant la période de culture de la plante, pour une année considérée
- après 1 an.

Cette compartimentation a été conservée dans le cas de Ni (Echevarria, 1996, Shallari, 1997).

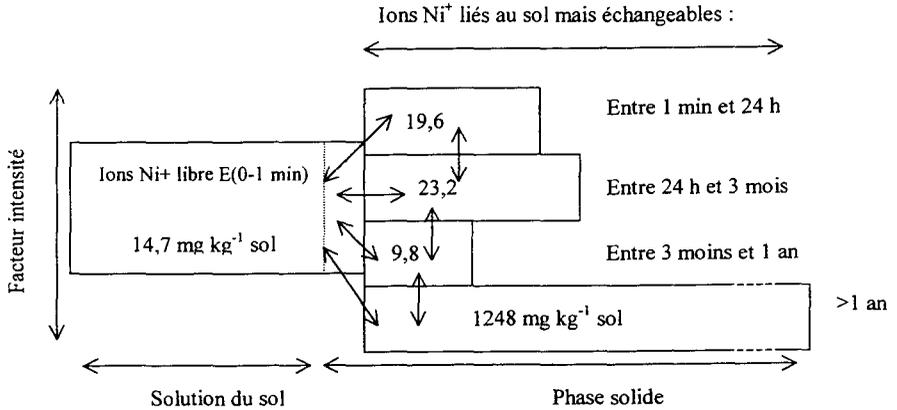


Figure 5 : Représentation dynamique des compartiments isotopiquement échangeables de Ni (en mg Ni kg⁻¹ terre) dans un sol de serpentine (d'après Shallari, 1997).

Dans le cas de Zn²⁺, 3 compartiments ont été conservés pour les périodes suivantes : 0-1 min, 1 min-15 jours et plus de 15 jours (Sinaj *et al.*, 1999). Le temps de 15 jours correspondait alors à la limite entre une période maximale d'échange isotopique de Zn²⁺, et une autre où les quantités isotopiquement échangeables étaient faibles ou nulles.

Ces représentations compartimentées des quantités labiles d'éléments en trace ont montré qu'une fraction importante de Ni et Zn n'était pas isotopiquement échangeable durant la période de culture des plantes (3 mois). Pour Ni, une compartimentation des quantités isotopiquement échangeables a montré, pour une terre de pH égal à 6,4 contenant 33 mg kg⁻¹ de Ni total, que 75 % du Ni n'étaient pas échangeables en 3 mois (Echevarria, 1996). Pour des terres agricoles ou de serpentines de pH compris entre 5,6 et 6,1, 90 à 97 % du Ni n'était pas échangeable après 3 mois (Echevarria *et al.*, 2000). Les compartiments de Zn²⁺ isotopiquement échangeable ont été décrits par Sinaj *et al.* (1999) pour 6 terres non polluées (pH compris entre 5,8 et 7,9) et 6 terres polluées (pH compris entre 5,6 et 6,6) par une fonderie de zinc. Les quantités de Zn²⁺ échangeables entre 0 et 1 min, E(0-1 min), représentaient 4 à 8 % du Zn total des terres. Les valeurs E(1 min-15 jours) étaient comprises entre 15 et 18 % du Zn total. Les quantités non isotopiquement échangeables après 15 jours, E(> 15 jours), étaient comprises pour toutes les terres entre 74 et 80 % du Zn total. Une fraction importante de Zn²⁺ était donc lentement ou non isotopiquement échangeable, même pour des

terres à tendance acide. Ceci a été attribué au fait que Zn était très fortement adsorbé sur les particules de terre (Sinaj *et al.*, 1999).

Pour les ions phosphate et d'autres éléments majeurs (K), il a été montré que les valeurs $E(t)$ calculées par la méthode de cinétiques d'échange isotopique étaient égales aux valeurs L de plusieurs espèces végétales cultivées pendant un temps t (Fardeau et Jappé, 1976 ; Morel et Plenchette, 1994). Il a été montré également que dans certaines terres, des plantes hyperaccumulatrices et non accumulatrices (*Alyssum murale* et le trèfle violet) prélevaient le Ni dans le pool isotopiquement échangeable (Echevarria *et al.*, 1998 ; Shallari *et al.*, 1999). Cette méthode permet donc, dans ce cas, de déterminer en quelques minutes les quantités assimilables par la plante en plusieurs mois. La comparaison entre les valeurs $E(t)$ et L n'a été faite dans le cas de Ni que pour quelques plantes et certaines terres. Des travaux sont en cours afin de valider l'approche à plus grande échelle.

Les méthodes d'évaluation de la phytodisponibilité du Cd sont variées : biologiques, chimiques, isotopiques, et plus ou moins efficaces suivant la terre étudiée et la culture envisagée. Les méthodes de dilution et de cinétiques d'échange isotopiques (CEI) donnent la meilleure corrélation quantitative et chimique avec les ions assimilables par la plante dans le cas des ions phosphate, d'autres éléments majeurs, et pour certaines terres et plantes dans le cas de Ni^{2+} . Cependant, une limite à l'utilisation en routine des cinétiques d'échange isotopique est la nécessité d'utiliser des éléments radioactifs.

V. Conclusion et problématique

La plupart des plantes ont accès aux mêmes compartiments d'éléments majeurs biodisponibles dans le sol (Fardeau *et al.*, 1979). Pour le Ni, il a été montré que, dans certaines terres, une hyperaccumulatrice de Ni *Alyssum murale* prélevait l'ion dans les mêmes compartiments qu'une plante non accumulatrice, le trèfle violet (Shallari, 1997). Pour d'autres terres, les compartiments explorés par les deux plantes étaient sensiblement différents. L'origine du Cd^{2+} assimilable pour des plantes à prélèvements en Cd variés n'est pas non plus élucidée. Il a été montré pour l'instant que de nombreuses espèces végétales de culture courante (Hamon *et al.*, 1997), sauf le colza, avait accès au même pool de Cd dans une terre sablo-limoneuse. D'autre part, plusieurs populations d'hyperaccumulatrices de Cd *T. caerulea* prélèvent l'élément dans les mêmes compartiments du sol (Hutchinson *et al.*, 2000). Un des objectifs de ce travail est de savoir si des plantes à prélèvements variés en Cd,

une hyperaccumulatrice et des plantes à prélèvements faibles ou modérés, ont accès à la même fraction de Cd phytodisponible dans les terres étudiées (chapitre 3). Pour ce faire, des plantes aussi différentes quant à leur prélèvement de Cd que *T. caerulea*, la laitue et le ray grass ont été utilisées pour caractériser le Cd phytodisponibles par la mesure de valeurs L. Les travaux s'attachent ensuite dans l'ensemble de la thèse à caractériser cette fraction assimilable (quantités impliquées, compartiments du sol concernés, évolution en fonction du temps et des plantes cultivées).

Le rôle du chaulage sur les quantités phytodisponibles de Cd dans les sols est un également un point non résolu dans la littérature. Le prélèvement de Cd par les plantes augmente, (McBride, 1980 ; Malher *et al.*, 1978 ; Tyler et McBride, 1982), ou diminue (Mitchell *et al.*, 1978 ; Erikson, 1989 ; He et Singh, 1994) pour des pH élevés. Les terres choisies pour les expérimentations permettent d'étudier une gradation dans le contenu en Cd total, ainsi que l'effet de la teneur en carbonates et le pH. Les expériences réalisées pourront ainsi permettre d'évaluer l'efficacité des amendements calcaires sur la réduction éventuelle des quantités de Cd assimilable pour les plantes dans les sols agricoles.

Dans le cas des ions phosphate et Ni^{2+} , l'utilisation du principe de dilution isotopique a permis de caractériser les quantités phytodisponibles dans les sols (Fardeau, 1981, Echevarria *et al.*, 1998). Cette fraction assimilable par les plantes était alors celle des ions isotopiquement échangeables. Sa taille pouvait être mesurée par des approches isotopiques (CEI), qui ont en outre permis d'en donner une représentation dynamique. Un autre objectif de la thèse est de déterminer le lien entre le Cd^{2+} phytodisponible et le Cd^{2+} isotopiquement échangeable, et d'en avoir le cas échéant une représentation en fonction du temps. La valeur E a été mesurée de deux façons dans les travaux : par un prélèvement direct de solution du sol (Chapitre 4) et par la réalisation de CEI (Chapitre 5). Cette méthode devrait permettre de donner les indications sur la dynamique des compartiments de Cd phytodisponible dans les sols. Enfin, le principe de la dilution isotopique a été utilisé dans le chapitre 6 pour tester différents extractants chimiques quant à leur capacité à donner une mesure du Cd assimilable pour les plantes.

Face aux diverses approches existant pour caractériser la phytodisponibilité du Cd : la plante, la solution du sol, l'isotope radioactif et les réactifs chimiques, ce travail a également pour objectif de proposer un outil fiable et utilisable en routine pour caractériser les quantités de Cd assimilable.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Validation des techniques utilisées

Dans ce chapitre, le matériel utilisé en commun dans les différentes expérimentations est décrit et justifié. Les principales méthodes utilisées sont également exposées, avec un développement particulier sur les essais préliminaires ayant permis de les valider.

I. Matériels

I.1. Plantes choisies

Les plantes ont été choisies pour leur niveau varié de prélèvement de Cd et pour leur représentativité par rapport à la consommation animale et humaine (ray grass et laitue). Ces plantes ont été utilisées dans de nombreux travaux antérieurs (Huffman et Hodgson, 1973 ; Wu, 1989 ; Kabata-Pendias et Pendias, 1992 ; Echevarria, 1996 ; Schwartz, 1997 ; McGrath, 1998).

I.1.1. Ray grass

Le ray grass (*Lolium perenne* L.) a été choisi pour les faibles quantités en éléments en trace métalliques prélevées (0,17 mg kg⁻¹ MS en moyenne pour 120 sols des Etats Unis) (Huffman et Hodgson, 1973) et pour la possibilité qu'il offre de faire des coupes successives avec repousse du végétal. C'est une graminée de prairie, largement utilisée en agriculture pour ses qualités fourragères. Elle peut donc donner une indication sur le transfert potentiel du Cd du sol vers la plante puis vers l'animal. La variété « Prana » choisie a été fournie par le Groupement Interprofessionnel des Producteurs de Semences.

I.1.2. Laitue

La laitue (*Lactuca sativa* L.) est une plante à feuilles connue pour ses prélèvements relativement importants en éléments en trace métalliques (0,2 à 4,7 mg Cd kg⁻¹ MS dans les jardins potagers) (Costa, 1992 ; Costa et Morel, 1993 ; Schwartz *et al.*, 1997). C'est une Composée potagère utilisée fréquemment en alimentation humaine. La variété Reine de Mai a été fournie par Médy Graines (Nancy).

1.1.3. *Thlaspi caerulescens*

Thlaspi caerulescens J. Presl. & C. Presl. (variété Viviez) est une Crucifère à port en rosette, connue pour sa capacité à prélever de fortes quantités de Zn, Ni et Cd dans les sols pollués (Schwartz, 1997 ; McGrath, 1998). Elle peut contenir jusqu'à 0,2 % de Cd dans ses parties aériennes. Cette plante, souvent présente sur des sites métallifères, s'adapte sur les sites pollués par les industries métallurgiques. Les semences proviennent d'anciens sites miniers du sud de la France et ont été collectées par P. Admant et C. Schwartz en juin 1996.

1.2. Terres utilisées

Cinq terres (ou échantillons de sol) ont été utilisées au cours des expérimentations : 4 terres de pH compris entre 7,8 et 8,2 (S0 à S4), une terre à tendance plus acide et moins pourvue en calcaire (S5) (Tableau 4). Les terres S1 à S5 proviennent de sols contaminés situés dans la région Nord - Pas de Calais, et servant de référence depuis 1995 aux scientifiques impliqués dans le Programme de Recherches Concertées « Environnement et Activités Humaines : Etude d'un secteur pollué par les métaux ». Les terres ont été prélevées dans des fosses creusées dans des sols agricoles situés à proximité des usines métallurgiques de Noyelles-Godault (terres S1 à S4) et d'Auby (terre S5). La première usine, créée à Noyelles-Godault en 1894, produit actuellement 170 000 t de Pb et 105 000 t de Zn par an. La seconde, à Auby, dans un village proche du précédent, est en service depuis 1869. Elle produit uniquement du Zn à un rythme d'environ 230 000 t par an. Pour la production à la fois du Pb et Zn, la fonderie de Noyelles-Godault utilise un procédé pyro-métallurgique qui génère des quantités significatives de poussières. Bien que des mesures aient été prises depuis 1975 pour réduire les émissions, les quantités émises s'élèvent encore à 24,46 t de Pb, 39,76 t de Zn et 1,04 t de Cd par an en 1997. Susceptibles d'être transportées par le vent, ces poussières contribuent à la contamination métallique des sols agricoles environnants. Depuis 1975, la fonderie d'Auby utilise un procédé électrolytique qui ne génère pratiquement pas de poussières par rapport au procédé pyro-métallurgique utilisé avant cette date.

Les terres S1 à S4 proviennent plus précisément de l'horizon labouré de sols bruns développés sur loess remaniés et reposant sur des alluvions tertiaires (Brunisol-redoxisol anthropisé, limono-sablo-argileux). Cet horizon est naturellement pourvu en calcaire et a également reçu des apports calciques. Ces terres sont polluées de façon croissante par Cd, Zn et Pb, les autres caractéristiques physico-chimiques étant similaires.

La terre S0 provient d'une parcelle cultivée, située dans l'Artois (horizon de labour Ap), et a été échantillonnée dans un sol brun développé sur loess (Brunisol-redoxisol anthropisé, limon moyen sableux). Cette terre a été choisie comme pendant peu pollué des terres S1 à S4, bien qu'elle n'ait pas tout à fait les mêmes caractéristiques physico-chimiques que ces terres. En effet, le type de sol contenant les terres S1 à S4 n'est représenté qu'à proximité de l'usine de Noyelles-Godault, et est contaminé par les retombées atmosphériques de l'usine. La parcelle choisie pour S0 est distante d'environ 30 km des industries métallurgiques les plus proches. Elle est par conséquent faiblement polluée. Cette terre est plus limoneuse que les terres S1 à S4, sa teneur totale en CaCO₃ est plus élevée.

La terre S5 provient d'un horizon sous-jacent d'une parcelle non cultivée, bien pourvue en matières organiques (colluviosol-redoxisol limon sablo-argileux, à moder). Le contenu total en Cd est proche de celui de la terre S4. La nature exacte de la pollution est sans doute différente de celle des terres S1 à S4 puisque la parcelle a été exposée à des poussières émises par une autre industrie (Auby) qui produit uniquement du Zn (le rapport Zn/Cd est plus élevé). De plus, la granulométrie diffère un peu ainsi que le contenu en CaCO₃ et la matière organique. La principale différence entre S4 et S5 reste le pH et le contenu en calcaire, aussi il sera fait mention « d'une terre carbonatée » et « d'une terre à tendance acide ».

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques principales des terres S0 à S5.

	S0	S1	S2	S3	S4	S5
pH eau	8,2	7,9	8,1	7,8	8	6,2
Cd total mg kg ⁻¹	0,63	8,9	15,1	25,4	18,7	20,3
Zn total mg kg ⁻¹	76,5	515	1010	1520	1399	3254
Pb total mg kg ⁻¹	65,2	440	766	1196	959	989
Cu total mg kg ⁻¹	17	24	29	40	37,6	83,9
Argile (< 2 mm) en g kg ⁻¹	149	178	209	154	143	202
Limon fin (2/20 mm) en g kg ⁻¹	283	219	208	204	181	173
Limon grossier (20/50 mm) en g kg ⁻¹	485	429	382	427	392	312
Sable fin (50/200 mm) en g kg ⁻¹	58	132	168	181	253	198
Sable grossier (200/2000 mm) en g kg ⁻¹	25	42	33	34	31	115

CaCO ₃ total g kg ⁻¹	32	7	13	15	14	<1
Carbone (C) organique (Anne g kg ⁻¹)	15,5	16,8	16,1	16,1	16,1	24,5
N organique total (Kjeldahl g kg ⁻¹)	1,6	1,5	1,4	1,4	1,2	1,5
C/N	9,4	11,1	11,7	11,4	12,9	16,8
P ₂ O ₅ (Joret Hébert g kg ⁻¹)	0,8	0,4	0,3	0,5	0,5	0,1
CEC (Metson cmol ⁺ kg ⁻¹)	9,2	11,9	16,9	11,5	9,7	13,3
Ca ²⁺ cmol ⁺ kg ⁻¹	45,1	21,5	34,8	23,7	29,8	7,59
Na ⁺ cmol ⁺ kg ⁻¹	0,12	0,043	0,099	0,043	0,044	0,056
Mg ²⁺ cmol ⁺ kg ⁻¹	0,76	0,51	0,62	0,52	0,59	1,17
K ⁺ cmol ⁺ kg ⁻¹	1,18	0,37	0,49	0,78	0,59	0,61
Capacité au champ (0,01 MPa)	28	26	30	31	31	25

1.3. Isotope choisi

L'isotope radioactif ¹⁰⁹Cd²⁺, utilisé pour marquer le Cd²⁺ isotopiquement échangeable, a été choisi pour sa demi-vie relativement longue (462 jours) et a été fourni par Amersham (France) par quantités de 18,5 MBq. Il se présente sous forme de ¹⁰⁹Cd²⁺, en solution dans HCl 0,1 M. L'activité du ¹⁰⁹Cd est de 9,34 10¹³ Bq g⁻¹ et son énergie de rayonnement gamma 0,088 Mev. Les sources ont été diluées dans de l'eau ultrapure (MilliQ) de manière à obtenir environ 180 kBq mL⁻¹, et ont été conservées à + 4°C.

1.4. Echantillonneurs de solution de sol

Le matériel utilisé pour prélever la solution du sol est le Rhizon Soil Moisture Sampler (échantillonneur SMS) (Eijkelkamp, Agrisearch Equipment, The Netherlands) (Knight *et al.*, 1998). L'échantillonneur est constitué d'une partie en polymère poreux hydrophile mesurant 5 cm de long (diamètre 2,5 x 1,4 mm), d'un tube collecteur en PVC de 20 cm (2,7 x 1 mm) et d'un connecteur. La sortie permet de raccorder une seringue destinée à exercer une dépression suffisante pour collecter la solution. Une seringue de 10 mL permet de collecter environ 7 mL. Le volume mort est inférieur à 0,5 mL. Le temps nécessaire pour échantillonner dépend directement de la conductivité hydraulique du sol. Le matériel poreux est renforcé par un fil en acier inoxydable. La taille moyenne des pores est de 0,1 µm. Le diamètre de la sonde étant faible, la perturbation des propriétés hydrauliques du sol est minimale (informations données

par le fournisseur), la capacité d'échange ionique est nulle, et il n'y a pas de modification du pH. Le matériel poreux est imperméable aux bactéries. Les échantillonneurs étant produits à partir de matériaux organiques, les solutions prélevées pourraient en contenir. Cependant, à ce jour, aucun produit connu des chimistes n'a pu en être extrait.

II. Méthodes

II.1. Fertilisation des terres

Des quantités de 24 kg de chaque type de terre ont été humidifiées avec 1 600 mL d'une solution nutritive (KNO_3 0,5 g L⁻¹, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1,2 g L⁻¹, KH_2PO_4 0,14 g L⁻¹ et $\text{Mg}(\text{SO}_4)$ 0,5 g L⁻¹, NaH_2PO_4 0,84 g L⁻¹). Ce premier apport correspondrait à 14 kg de N, 16,5 de P et 15,4 de K par ha. Un second apport est réalisé après deux mois de culture dans les mêmes rapports.

II.2. Marquage du Cd^{2+} isotopiquement échangeable

II.2.1. Méthode employée

Le Cd^{2+} isotopiquement échangeable de chaque type de terre a été marqué à l'aide d'une solution radioactive de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ sous forme de chlorure, à raison d'environ $3,2 \cdot 10^5$ Bq kg⁻¹ terre. La solution radioactive diluée (1 L) a séjourné plus de 4 h dans son contenant avant que la radioactivité présente ne soit mesurée, ceci afin de prendre en compte l'éventuelle adsorption de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ sur les parois de la verrerie. De l'eau déionisée a été ensuite ajoutée à chaque type de terre, en même temps que la solution radioactive de manière à amener la terre à 60 % de sa capacité au champ (CAC). Les solutions ont imprégné la terre pendant 2 h puis un mélange manuel a été réalisé pendant 2 h 30 environ pour chaque échantillon de 24 kg. La terre a alors été pesée et recouverte d'une bâche noire. Elle a été laissée à 60 % de la CAC pendant une semaine pour les terres S0 à S3, et 2 mois pour les terres S4 et S5, à l'obscurité et à environ 20 °C. Le choix de ce temps de mise à l'équilibre a été justifié par un essai préliminaire décrit dans le paragraphe II.2.3. Les terres S4 et S5 ont été mélangées manuellement au bout d'1 mois d'incubation et juste avant la mise en pot. La terre a alors été placée dans un sachet en PVC, lui-même introduit dans un pot en PVC de 1 kg, de manière à éviter toute fuite de particules radioactives.

II.2.2. Expressions mathématiques et unités de composition isotopique

L'activité spécifique du Cd dans la solution d'un sol, où on a ajouté à l'instant t_0 la radioactivité R , est définie par l'équation [8] :

$$AS = r_t / Cd_s \quad [\text{Eq.8}]$$

avec r_t la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans la solution de sol (en Bq kg^{-1} terre) et Cd_s la quantité de Cd^{2+} stable dans la solution (en mg Cd kg^{-1} terre), à l'instant t . L'unité utilisée est alors Bq mg^{-1} Cd.

Afin de comparer ces valeurs d'activité spécifique entre différents protocoles expérimentaux n'utilisant pas la même quantité initiale R de radioactivité, on rapporte la grandeur r_t à R . On obtient ainsi une valeur appelée composition isotopique (CI). Dans le cas de la solution de sol, la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution (CI_s) est définie par l'équation [9] :

$$CI_s = r_t / R \times 1 / Cd_s \quad [\text{Eq.9}]$$

avec r_t la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ en solution (en Bq kg^{-1} terre) et Cd_s la quantité de Cd^{2+} stable dans la solution (en mg Cd kg^{-1} terre), à l'instant t . R est la radioactivité ($^{109}\text{Cd}^{2+}$) introduite initialement en solution (en Bq kg^{-1} terre) et mesurée à l'instant t . L'unité utilisée est alors mg^{-1} Cd kg terre.

De même la composition isotopique du Cd dans une plante (CI_p) est définie par l'équation [10] :

$$CI_p = r_p / R \times 1 / Cd_p \quad [\text{Eq.10}]$$

où r_p est la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans le végétal cultivé pendant un temps t sur 1 kg de sol (en Bq kg^{-1} terre) et Cd_p la quantité totale de Cd^{2+} dans la plante au même instant (en mg kg^{-1} terre). R est la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ totale introduite initialement dans 1 kg de sol et mesurée à l'instant t (en Bq kg^{-1} terre). L'unité utilisée est également mg^{-1} Cd kg terre.

Enfin, la composition isotopique de Cd dans une solution d'extraction (CI_{SE}) est définie par l'équation [11] :

$$CI_{SE} = (r_{SE} / R) \times 1 / Cd_{SE} \quad [\text{Eq.11}]$$

avec r_{SE} la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans la solution d'extraction pour 1 kg de terre utilisé (en Bq kg^{-1} terre), et Cd_{SE} la quantité totale de Cd dans la solution d'extraction (en mg Cd kg^{-1} terre), à l'instant t . R est la quantité de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ introduite initialement dans 1 kg de terre et mesurée à l'instant t (en Bq kg^{-1} terre). L'unité utilisée est également mg^{-1} Cd kg terre.

II.2.3. Détermination du temps de mise à l'équilibre des terres

La question du temps nécessaire entre la fertilisation, le marquage d'un élément et le semis des plantes se pose souvent lorsque l'on désire cultiver des végétaux dans un système stable. Suivant les éléments, les périodes d'incubation sont de quelques heures ($^{63}\text{Ni}^+$, $^{99}\text{TcO}_4^-$, Echevarria *et al.*, 1998), ou de plusieurs jours (3 semaines dans l'expérience sur $^{109}\text{Cd}^{2+}$ et $^{65}\text{Zn}^{2+}$ de Hamon *et al.*, 1997). La détermination de la période d'incubation après fertilisation et marquage du Cd des terres étudiées, nécessaire à l'obtention d'un système à l'équilibre, a été réalisée pour les terres S4 et S5.

Pour cette expérience préliminaire, les terres S4 et S5 ont été incubées pendant 1 mois après fertilisation et marquage du Cd^{2+} isotopiquement échangeable. L'évolution de la composition isotopique du Cd^{2+} en solution (C_s) et de la concentration des cations principaux a été suivie grâce à un échantillonnage de la solution du sol. Les outils de prélèvement de solution de sol sont les échantillonneurs SMS. Quatre échantillonneurs SMS ont été introduits dans les bacs contenant les terres marquées. La teneur de l'eau dans la terre a été ajustée au moins 24 h avant chaque prélèvement. Ceux-ci ont été réalisés entre 0 et 30 jours. La radioactivité a été comptée dans chaque échantillon d'environ 10 mL et Cd, Zn, Pb, Ca et K ont été mesurés en solution au Laboratoire d'Analyses des Sols de l'INRA à Arras.

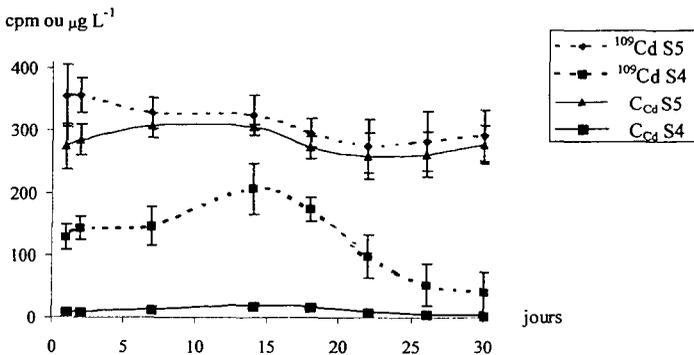


Figure 6 : Evolution de la concentration du Cd^{2+} stable et radioactif dans la solution des terres S4 et S5.

Il n'y a pas de différence significative entre 0 et 30 jours pour la radioactivité et le Cd^{2+} stable dans la solution de la terre S5 (Figure 6). Par contre, pour la terre S4, on note une augmentation significative de la radioactivité dans la solution à 14 jours puis une diminution

régulière jusqu'à 30 jours, les valeurs se rapprochant alors du bruit de fond. La concentration du Cd^{2+} stable en solution augmente jusqu'au 18^{ème} jour avant de décroître pour atteindre une valeur inférieure à celle de départ (4,4 au lieu de 10,2 $\mu g L^{-1}$). L'augmentation de la concentration du $^{109}Cd^{2+}$ en solution est sans doute à relier à celle du Cd stable. En effet, le $^{109}Cd^{2+}$ se dilue dans le Cd^{2+} isotopiquement échangeable, et plus celui-ci est présent en solution, plus la radioactivité y est présente également.

Ces fluctuations de Cd^{2+} stable pour la terre carbonatée S4 peuvent être dues à celles des conditions d'oxygénation, de l'activité biologique dans la terre, et à l'évolution consécutive du pH. Au moment du marquage, la terre est aérée par le mélange manuel et arrosée. Ceci peut provoquer une augmentation de l'activité biologique, une acidification, et l'augmentation de Cd^{2+} en solution par échange avec Ca^{2+} et/ou dissolution de carbonates de Cd. Ensuite, suivant les l'évolution du pH ou la transformation de NH_4^+ en NO_3^- , $CdCO_3$ peut être à nouveau précipité, ce qui entraînerait la diminution de la concentration de Cd^{2+} en solution.

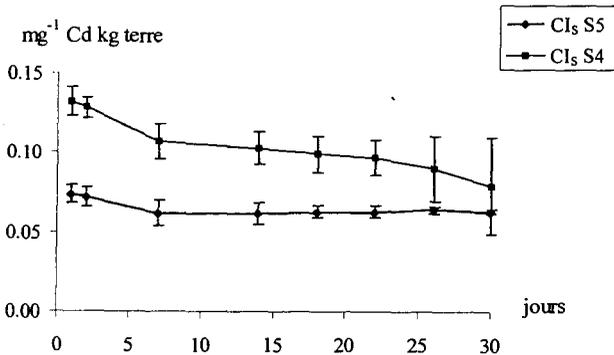


Figure 7 : Evolution de la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution des terres S4 et S5.

Les compositions isotopiques de Cd^{2+} dans la solution du sol sont stables dès le 2^{ème} jour après le marquage pour la terre de S5 (Figure 7). Pour la terre S4, les valeurs de CI_S sont constantes à partir du 6^{ème} jour suivant le marquage. Les fluctuations de la radioactivité et du Cd^{2+} stable en solution pour la terre S4 (Figure 6) se font donc dans les mêmes proportions et conduisent à une CI_S constante.

L'activité spécifique de $^{109}Cd^{2+}$ et $^{65}Zn^{2+}$ introduits dans une terre sablo-limoneuse avait été montrée stable dans la solution du sol à partir de la première semaine suivant le marquage

(Hamon *et al.*, 1997). Aucune information n'avait été fournie par contre sur l'évolution des autres ions dans la solution du sol. Nos travaux montrent également que la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution des S4 et S5 ne varie pas de façon significative une semaine après le marquage du Cd^{2+} échangeable.

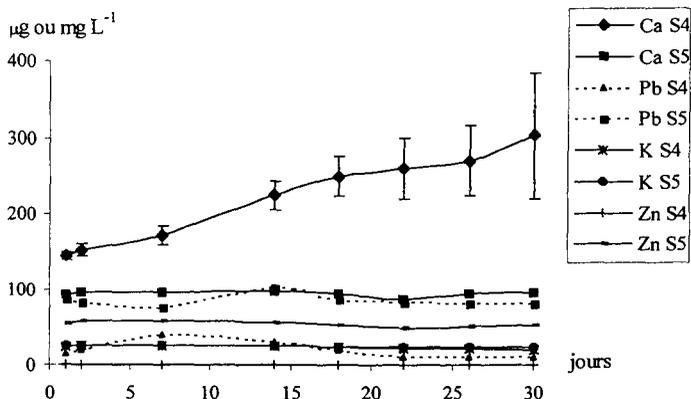


Figure 8 : Evolution des concentrations de cations dans la solution des terres S4 et S5, en $mg L^{-1}$ pour Ca et K et Zn, et en $\mu g L^{-1}$ pour Pb.

Les concentrations des cations majeurs Ca, K et des éléments en trace mesurés Zn et Pb (Figure 8) sont constantes entre 0 et 1 mois. Seule la concentration de Ca dans la solution de la terre S4 a tendance à augmenter, les différences ne sont pas significatives après 14 jours. Ces données sont à rapprocher de celles concernant le Cd stable en solution. En effet, la concentration de celui-ci commence à diminuer après 14 jours d'incubation. Il semble qu'un palier soit atteint entre 14 et 30 jours pour les concentrations de Ca, ce qui pourrait présager un début de décroissance due à la précipitation de $CaCO_3$, conjointe de celle de $CdCO_3$.

En conclusion de cette expérience, dans une terre à 80 % de sa CAC (soit un rapport terre-eau d'environ 1 :0,25), un échange d'une semaine entre le Cd^{2+} et son isotope radioactif est suffisant pour que la CI_s ne diminue plus de façon significative. Les concentrations des cations K, Pb et Zn en solution sont constantes dès le début de l'expérience. Il semble cependant que pour la terre carbonatée S4, la concentration de Ca en solution n'ait pas atteint un équilibre après 30 jours d'incubation. Une période de 2 mois a donc été choisie pour les

expérimentations afin d'obtenir un système stabilisé après le marquage et la fertilisation des terres.

II.3. Conditions de culture

Les végétaux ont été cultivés lors d'une première expérience sur les terres S0 à S3 (Annexe 1, Photographie 1), puis lors d'une seconde expérience sur les terres S4 et S5. Dans chaque pot a été semé 0,5 g de ray grass. Dans les pots destinés à la première coupe (1 mois de culture) 2 graines de laitue ou 10 graines de *T. caerulescens* ont été semés (pour les terres S0 à S3 *T. caerulescens* a été transplanté après germination sur du terreau). Dans les pots destinés à la troisième coupe (3 mois) ont été semés 2 graines de laitue et 2 graines de *T. caerulescens*. Chaque traitement comprend 4 répétitions. Toutes les plantes ont été récoltées à 1 mois et 3 mois. La terre a été maintenue à 80 % de sa CAC par arrosage manuel quotidien avec de l'eau déionisée. Les conditions de la chambre de culture ont été les suivantes : photopériode de 16 h à 500 mmol de photons m⁻² s⁻¹, 16 °C la nuit et 24 °C le jour.

Afin de vérifier l'innocuité de l'apport d'un isotope à rayonnement gamma sur la croissance des plantes, un essai préliminaire sur les terres S0 à S3 a été réalisé en comparant la biomasse produite suivant que le Cd²⁺ a été marqué ou non (Tableau 5). Aucune différence significative n'a pu être décelée entre les deux traitements.

Tableau 5 : Biomasse produite par les végétaux après 3 mois de culture pour les terres S0 à S3, suivant que le Cd a été marqué ou non.

Plante	Terre	g MS kg ⁻¹ terre	
		Cd marqué par ¹⁰⁹ Cd	Cd non marqué
Ray grass (entre 2 et 3 mois)	S0	1,19	1,18
	S1	1,00	1,07
	S2	0,80	0,82
	S3	0,90	0,87
Laitue	S0	4,25	4,40
	S1	4,36	4,72
	S2	3,47	3,74
	S3	4,08	3,93
<i>T. caerulescens</i>	S0	3,37	3,22
	S1	2,13	3,10
	S2	2,76	2,71
	S3	3,08	2,40

II.4. Echantillonnage de la solution du sol

II.4.1. Méthode employée

L'échantillonneur de solution de sol SMS a été introduit à mi-hauteur dans les pots en PVC contenant la terre à étudier (un échantillonneur par pot de 1 kg) (Annexe 1, Photographies 2 et 3). L'échantillonneur a été placé horizontalement et enduit de terre humide afin de faciliter le contact avec le sol. La terre a été maintenue pendant 24 h à 90 % de sa CAC avant chaque prélèvement de solution, de manière à ce que l'eau d'arrosage ait eu le temps de s'équilibrer avec le système. Ce temps a été choisi d'après des études préliminaires ayant montré que 16 h étaient nécessaires à l'équilibrage de l'eau avec la terre (Lorenz *et al.*, 1994). Une dépression a été ensuite appliquée grâce à une seringue maintenue par une cale en bois. Le premier mL prélevé a été écarté, et 8 mL environ de solution ont été prélevés (durée de l'échantillonnage comprise entre 2 et 24 h suivant la terre et la plante cultivée).

Afin de déceler une éventuelle modification de la mesure de la composition isotopique de Cd^{2+} dans la solution du sol par l'échantillonneur SMS, liée par exemple à des spéciations différentes de ^{109}Cd et Cd en solution, des tests ont été réalisés en comparant la CI_S du Cd avant et après le prélèvement de solution.

II.4.2. Influence de l'échantillonneur sur la CI_S de Cd

Matériel et méthodes

Les terres choisies pour cette expérience préliminaire ont été S0, S4 et S5. Des solutions de ces terres ont été préparées à partir d'un mélange terre-eau (rapport terre-eau 5:10) agité 20 h, centrifugé 20 min à 10 000 g et filtré sur un filtre en nitrate de cellulose (porosité 0,025 μm). Le Cd^{2+} de la solution obtenue a été marqué par $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans la limite de 28 Bq mL^{-1} . La solution a été agitée 4 h avec un barreau magnétique avant que l'échantillonneur y soit placé, pour que les quantités éventuellement adsorbées sur les parois du flacon soient stabilisées. A chaque nouveau prélèvement, le premier mL de solution a été évacué pour éviter toute contamination d'une répétition à l'autre. Quatre aliquotes de la solution ont été prélevées directement pour comptage de la radioactivité et mesure du Cd^{2+} stable (r_1 externe et C_{Cd} externe), puis 4 prélèvements d'environ 7 mL ont été effectués grâce à l'échantillonneur SMS (r_1 interne et C_{Cd} interne) (Tableau 6). L'activité spécifique (AS) du Cd dans la solution du sol (AS externe) et dans la solution extraite (AS interne) a été calculée ([Eq.12], Tableau 6) :

$$\text{AS} = r_1/C_{\text{Cd}} \quad [\text{Eq.12}]$$

La répétabilité de la mesure a également été testée. Deux types de terre ont été utilisés : S4 et S5. Un échantillonneur a été placé dans chaque pot de 1 kg de terre. Avant le prélèvement, la terre a été maintenue pendant 24 h à 90 % de sa CAC. La concentration de Cd^{2+} (C_{Cd}) a été mesurée dans la solution prélevée (Tableau 7).

Résultats

Tableau 6 : Concentrations de Cd^{2+} stable et radioactif dans la solution, avant et après prélèvement par l'échantillonneur SMS.

terre	C_{Cd} externe $10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$	C_{Cd} interne $10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$	r_1 externe Bq mL^{-1}	r_1 interne Bq mL^{-1}	AS externe $10^6 \text{ Bq mg}^{-1} \text{ Cd}$	AS interne $10^6 \text{ Bq mg}^{-1} \text{ Cd}$
S0	0.24 ± 0.03	0.21 ± 0.02	$25 \pm 0,9$	$20 \pm 2,5$	105 ± 11	104 ± 13
S4	3.46 ± 0.13	3.05 ± 0.31	$24 \pm 1,1$	$22 \pm 0,7$	$7 \pm 0,3$	7 ± 1
S5	33 ± 1	30 ± 5	$29 \pm 1,6$	$27 \pm 1,6$	$0,9 \pm 0,02$	$0,9 \pm 0,1$

Les moyennes sont affectées de leur intervalle de confiance au seuil de 5 % (3 répétitions).

Le passage de la solution du sol au travers des pores de l'échantillonneur entraîne une diminution (le plus souvent non significative) du Cd^{2+} et du $^{109}Cd^{2+}$ en solution. Cependant, pour les 3 sols l'activité spécifique de Cd^{2+} en solution avant et après prélèvement est la même. Les échantillonneurs ne perturbent donc pas la mesure de la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution du sol, que celui-ci soit fortement pollué ou non, et quel que soit le contenu en $CaCO_3$.

Tableau 7 : Répétabilité de la mesure de la concentration de Cd^{2+} dans la solution de sol (C_{Cd}) par prélèvement de l'échantillonneur SMS.

Terre	N° répétition	C_{Cd} $\mu\text{g L}^{-1}$	Moyenne $\mu\text{g L}^{-1}$
S4	1	8,5	$8,8 \pm 0,4$
	2	9,1	
	3	8,6	
S5	1	133,5	$123,9 \pm 7,8$
	2	127,3	
	3	119,8	

Les moyennes sont affectées de leur intervalle de confiance au seuil de 5 % (3 répétitions).

La reproductibilité des résultats est acceptable entre les 3 répétitions puisque le coefficient de variation n'est que de 4,5 % pour la terre S4 et de 6,3 % pour la terre S5.

En conclusion, le prélèvement de solution par l'échantillonneur SMS ne modifie pas l'activité spécifique du Cd^{2+} dans la solution des sols, et la répétabilité de la mesure est acceptable. Ce matériel peut donc être utilisé pour mesurer la Cl_S du Cd^{2+} *in situ* dans un vase de végétation.

II.5. Analyse des éléments en trace en solution, et spéciation du Cd dans la solution du sol.

L'analyse des éléments en trace présents dans les terres et les solutions de sol a été réalisée par le Laboratoire d'Analyse des Sols de l'INRA à Arras. Les concentrations totales en Cd, Zn et Pb ont été déterminées, après dissolution des échantillons par HF et HClO_4 , par spectrométrie d'émission atomique (ICP-AES) ou spectrométrie d'absorption atomique électro-thermique (ETAAS).

La forme cadmiée prélevée par les racines des plantes est la forme ionique libre Cd^{2+} , largement préférée à d'autres formes chélatées (Cabrera *et al.*, 1988 ; Hamon *et al.*, 1995). C'est l'isotope $^{109}\text{Cd}^{2+}$ qui est donc introduit dans la solution du sol lorsque l'on veut marquer le Cd^{2+} isotopiquement échangeable et caractériser le Cd phytodisponible. Une nécessité lors de la mesure des activités spécifiques du Cd^{2+} dans les plantes, ou de Cd^{2+} dans la solution du sol, est de mesurer dans le système étudié (végétal ou solution du sol) les formes Cd^{2+} et $^{109}\text{Cd}^{2+}$ uniquement. Dans les plantes, même si la forme mesurée après la récolte n'est pas uniquement Cd^{2+} , la plante a, *a priori*, prélevé le Cd sous la forme ionique au niveau des racines. Afin d'étudier l'éventuelle erreur faite sur la mesure de Cd^{2+} dans les solutions de sol (en particulier pour les terres carbonatées) en y mesurant le Cd total, la spéciation du Cd a été réalisée.

II.5.1. Matériel et méthode de la spéciation en solution

Une solution a été préparée à partir de terre séchée à l'air (terres S0 à S3), mise ensuite en suspension dans de l'eau distillée (rapports 1:10) dans des flacons de 250 mL, en polyéthylène. La suspension a été agitée pendant 18 h, centrifugée à 10 000 g pendant 20 min, et filtrée sur des filtres en nitrate de cellulose. Les porosités 0,45 μm , 0,2 μm , ou 0,025 μm ont été testées afin de mesurer leur influence sur le Cd total en solution. Les éléments majeurs (Ca, Mg, K, Na, Si, Fe, Al, S, P, Cl, C tot, C org, N) et traces (Cd, Zn, Pb, Cu, Mn,) ont été mesurés dans la solution ainsi que le pH (Annexe 2). Le modèle de spéciation utilisé a été

GEOCHEM (Sposito G. et Bingham F.T., 1981). Ce modèle contient une base de données avec des constantes de complexation établies à force ionique nulle. Ces constantes sont recalculées par le programme grâce aux équations de Davies (1995). La pression de CO₂ atmosphérique a été établie à 3,5 atm. A partir de la concentration de C organique (mg C L⁻¹) dans la solution du sol, les concentrations molaires d'acide fulvique (mole L⁻¹) de catégories I et II ont été calculées de la manière suivante :

$$M_{FAI} = C * 8,286 \cdot 10^{-7}$$

$$M_{FA2} = C * 8,286 \cdot 10^{-6}$$

II.5.2. Résultats

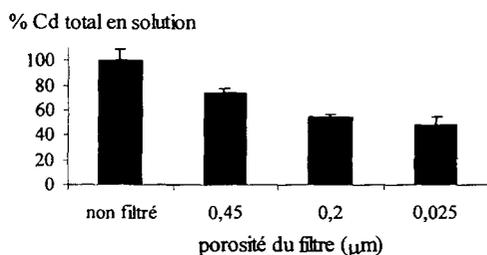


Figure 9 : Effet de la porosité du filtre sur la concentration du Cd total dans la solution d'une suspension terre-eau 1 :10, terre S3.

La concentration du Cd total mesurée en solution a été réduite par l'utilisation de filtres en nitrate de cellulose (Figure 9). La diminution est d'environ 50 % en utilisant la porosité 0,025 µm par rapport au surnageant d'une solution non filtrée (uniquement centrifugée).

Tableau 8 : Fraction de Cd total en solution (C_{Cd}) présent sous forme Cd²⁺ dans les solutions d'une suspension terre-eau 1 :10.

Terre	Cd ²⁺ en % de C _{Cd}
S0	82
S1	91
S2	85
S3	89

Environ 10 % du Cd de la solution filtrée n'est pas sous forme libre, quelle que soit la terre carbonatée étudiée et sa teneur en Cd total (Tableau 8).

II.5.3. Discussion

La diminution du Cd total en solution en fonction de la porosité utilisée indique une éventuelle sorption de Cd sur le filtre et/ou la présence de formes cadmiées colloïdales dans la solution de cette terre carbonatée. D'autres expériences sur l'adsorption de Cd et ^{109}Cd sur ces mêmes filtres (Gérard *et al.*, 2000b) ont montré que le ^{109}Cd était présent principalement sous forme non colloïdale en solution (ceci n'est pas surprenant puisque le ^{109}Cd a été introduit sous la forme $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans la solution du sol), tandis que le Cd stable était présent sous des formes à la fois colloïdales et ioniques. La sorption n'est donc pas le seul phénomène expliquant la rétention de Cd total sur les filtres. La concentration de Cd total en solution est plus faible lorsque l'on utilise des filtres de porosité 0,2 μm et 0,025 μm par rapport à 0,45 μm . Ceci indique que des formes colloïdales de taille <0,45 μm existent en solution et pourraient être toujours présentes après une filtration à 0,2 μm . Ceci a été montré précédemment pour le Pb (Jopony et Young, 1994). Dans le cas de Zn, la porosité 0,2 μm (filtres en acétate de cellulose) a été montrée comme étant assez petite pour retenir des particules colloïdales d'environ 0,1 μm et qu'il n'y avait pas d'adsorption de ^{65}Zn (Sinaj *et al.*, 1999).

L'emploi de filtre de porosité 0,45 μm doit donc être évité pour obtenir des espèces chimiques non colloïdales.

Le programme de spéciation GEOCHEM a permis une évaluation de la fraction de Cd libre en solution. La fraction de Cd sous forme Cd^{2+} (90 %) est plus importante que celle trouvée dans des extraits de solution de sols amendés par des boues de station d'épuration ou par du $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (51 %) (Candelaria et Chang, 1997). De même, elle est plus importante que celle trouvée dans des lessivats de sol (40 à 60 %) (Lamy *et al.*, 1994) et des extraits de sols forestiers où du Cd avait été apporté sous forme $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (35 %) (Hirsh et Banin, 1990). Cette différence pourrait être attribuée à la présence de fortes quantités de CaCO_3 total dans les 4 terres étudiées et par conséquent, à la compétition entre Ca^{2+} et Cd^{2+} sur les sites de surface de la phase solide, ou pour la complexation avec des ligands en solution.

Cette spéciation est une approximation de la spéciation réelle de Cd dans la solution du sol. Par exemple, certaines constantes de complexation du modèle (acides fulviques) sont données pour un pH égal à 5. De plus, la solution du sol obtenue ici par une extraction à l'eau dans le rapport 1 :10 n'est qu'un modèle de la solution du sol *in situ* (1 :0,25) Les conditions

d'oxygénation, de pression et la composition chimique même de la solution sont différentes. Ces résultats donnent cependant une indication sur la spéciation de Cd dans la solution de ces terres carbonatées. La valeur 10 % a été retranchée à toutes les concentrations de Cd total dans les solutions de sol pour les terres S0 à S4. On a conservé 100 % du Cd en solution pour la terre S5 car son pH est plus faible (6,2) et on peut supposer que les formes cadmiées en solution sont toutes ioniques.

II.6. Analyse des éléments en trace dans les végétaux

Les plantes récoltées ont été rincées avec de l'eau distillée avant un séchage au four à 80°C durant 48 h. Elles ont ensuite été broyées dans un mortier en agate avant d'être minéralisées par attaque acide (8 ml HNO₃, 6 ml H₂O₂ par aliquote de 0,5 g de végétal). Du matériel végétal certifié a été inclus afin de contrôler l'analyse (ray grass, matériel de référence n°281, Community Bureau of Reference, Commission of the European Communities). Les échantillons ont été légèrement acidifiés avec HNO₃ afin d'éviter la précipitation de Cd. Les concentrations en Cd, Zn et Pb totaux ont été déterminées par spectrométrie d'émission atomique (ICP-AES) ou spectrométrie d'absorption atomique électro-thermique (ETAAS) au Laboratoire d'Analyse des Sols de l'INRA à Arras.

II.7. Comptage de la radioactivité

Le Cd radioactif a été mesuré dans les solutions de sol, les minéralisats de végétaux et les extraits chimiques, par spectrométrie gamma (Packard Cobra AutoGamma counting System, Packard Instrument Company, Meriden, CT). Le rendement de comptage de l'appareil pouvant varier suivant la matrice étudiée, toutes les mesures ont été réalisées sur des solutions. Pour la conversion des coups par minute (cpm) en becquerels (Bq), le rendement de comptage est de 90 %. Ces unités de radioactivité interviennent peu cependant puisque la radioactivité dans les systèmes a été souvent exprimée relativement à celle introduite au départ.

II.8. Traitement statistique

L'analyse de variance sur les données a été réalisée grâce au logiciel STATITCF, version 5, (ITCF, Beaux *et al.*, 1991). L'analyse comprend un test de la normalité des données (coefficients de K. Pearson), une recherche des résidus suspects (méthode de Grubbs), un test du KHI-2 sur l'égalité des écarts types au seuil de 5 %, une analyse de variance (test de

Fisher), un calcul des moyennes et de la puissance de l'essai, ainsi qu'un test de Newman-Keuls qui permet de faire des groupes entre les moyennes calculées.

Les régressions non linéaires sont réalisées grâce au logiciel SYSTAT, version 5.2.1, (SYSTAT, 1992, Inc.).

Chapitre 3 : Caractérisation du cadmium phytodisponible par la mesure de la composition isotopique du Cd²⁺ dans les plantes

Dans le cas du nickel, le trèfle violet et une hyperaccumulatrice de Ni (*Alyssum murale*) ont accès aux mêmes pools de Ni⁺ dans la terre (Shallari *et al.*, 1999). Pour le Cd, il a été montré que de nombreuses plantes de culture courante accédaient aux mêmes compartiments dans le sol (Hamon *et al.*, 1997), de même, pour un ensemble d'espèces de *T. caerulescens* (Hutchinson *et al.*, 2000). Une hyperaccumulatrice de Cd a-t-elle accès aux mêmes compartiments du sol qu'un végétal non-accumulateur ? La caractéristique des compartiments assimilables est-elle dépendante de la plante étudiée, de la terre sur laquelle le végétal a été cultivé ?

Pour répondre à ces interrogations, la méthode de la dilution isotopique a été couplée à la culture de végétaux pour caractériser le Cd phytodisponible des sols (valeur L). Des plantes prélevant le Cd en quantités différentes, et des terres de caractéristiques physico-chimiques variées (pH, contenu total de Cd, CaCO₃) ont été employées, afin d'évaluer l'influence de ces paramètres sur l'origine et les quantités de Cd assimilable.

I. Matériel et méthodes

Le ray grass, la laitue et *T. caerulescens* ont été cultivées pendant 3 mois sur les terres S0 à S5 fertilisées dont le Cd²⁺ isotopiquement échangeable a été marqué auparavant. L'expérience a été conduite d'abord avec les terres S0 à S3 et elle a été renouvelée avec les terres S4 et S5. Les végétaux ont été récoltés à 1 et 3 mois.

II. Résultats

II.1. Production de biomasse

La biomasse des végétaux a été mesurée après 1 et 3 mois de culture.

La biomasse produite par le ray grass lors de la première coupe (Tableau 9) varie de 0,48 g MS kg⁻¹ terre pour la terre S5 à 4,89 g MS kg⁻¹ terre pour S0. Elle s'échelonne entre 0,24 et 1,6 g MS pour la laitue et entre 0,03 et 0,41 g MS pour *T. caerulescens*.

Tableau 9 : Biomasse produite par les végétaux après un mois de culture, terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>
g MS kg ⁻¹ terre			
S0	4,89 a	0,74 b	0,24 ab
S1	3,99 b	0,24 c	0,15 ab
S2	3,91 bc	0,51 bc	0,23 ab
S3	3,73 c	0,70 b	0,41 a
S4	0,86 d	1,60 a	0,03 b
S5	0,48 e	*	0,06 b

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Tableau 10 : Biomasse produite par les végétaux après 3 mois de culture, terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>
g MS kg ⁻¹ terre			
S0	7,20 a	4,25 a	3,37 a
S1	5,94 b	4,36 a	2,13 b
S2	5,48 c	3,47 b	2,75 ab
S3	5,50 c	4,08 a	3,08 a
S4	1,90 d	4,74 a	0,06 d
S5	0,72 e	*	1,49 c

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

La biomasse produite par le ray grass en 3 mois varie entre 0,72 g MS kg⁻¹ terre pour S5 et 7,2 g MS kg⁻¹ terre pour la terre S0 et celle de la laitue entre 3,47 et 4,74 g MS kg⁻¹ terre (Tableau 10). La plante ne se développe pas sur la terre S5 en raison sans doute de la toxicité des éléments en traces présents dans cette terre (Cd ou Zn en particulier). En effet, la solubilité de ces éléments est sans doute accrue par le faible pH (6,2). Dans le cas des terres carbonatées, un retard à la maturité des laitues est apparu, d'autant plus marqué que la terre était polluée. Les feuilles présentent également des décolorations violacées pour les terres S1 à S3. La biomasse produite par *T. caerulea* a atteint 3 g pour les terres carbonatées et est de 1,49 g pour la terre S5. La différence de production de biomasse entre les terres S3 et S4 (de caractéristiques physico-chimiques très proches) peut s'expliquer par la difficulté des graines

de *T. caerulea* à produire les plantules sur S4 (0,06 g MS kg⁻¹ terre), alors que la plantule avait été transplantée pour la terre S3. Une tendance à la baisse de production de matière sèche est observée sur les terres les plus polluées pour le ray grass, lors des deux coupes. La production de biomasse de la laitue et de *T. caerulea* ne semble pas directement dépendante du contenu total des terres en Cd.

II.2. Teneurs du Cd dans les végétaux

Tableau 11 : Teneurs des végétaux en Cd après un mois de culture pour les terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>
mg Cd kg ⁻¹ MS			
S0	0,24 d	0,70 d	18 d
S1	0,99 cd	4,58 c	545 c
S2	1,57 bc	5,53 c	700 b
S3	2,29 b	8,32 b	917 a
S4	2,65 b	13,00 a	95 d
S5	13,20 a	*	517 c

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Tableau 12 : Teneurs des végétaux en Cd après 3 mois de culture pour les terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>
mg Cd kg ⁻¹ MS			
S0	0,21 d	0,66 d	8,64 c
S1	0,93 c	4,89 c	572 a
S2	1,51 bc	9,18 b	360 b
S3	2,06 b	15,80 a	582 a
S4	1,89 b	14,50 a	136 c
S5	14,20 a	*	309 b

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Lors de la première coupe, les teneurs des végétaux en Cd sont très variées : de 0,24 à 13,2 mg Cd kg⁻¹ MS pour le ray grass, de 0,7 à 13 mg Cd kg⁻¹ MS pour la laitue et de 18 à 917 mg Cd kg⁻¹ MS pour *T. caerulea* (Tableau 11). Lors de la troisième coupe, les teneurs de Cd dépendent également de l'espèce végétale étudiée et de la terre sur laquelle la plante se

développe (Tableau 12). Les teneurs sont les plus faibles pour le ray grass : de 0,21 à 2,06 mg Cd kg^{-1} MS pour les terres S0 à S4 et jusqu'à 14,2 mg Cd kg^{-1} MS pour la terre S5. Les teneurs de Cd dans *T. caerulescens* varient entre 8,64 et 582 mg Cd kg^{-1} MS tandis que celles de la laitue sont intermédiaires et s'échelonnent de 0,66 à 15,8 mg Cd kg^{-1} MS.

La teneur du Cd du ray grass et de la laitue reflètent la pollution en Cd total des terres. Ce sont donc d'après la terminologie de Baker (1981) des plantes indicatrices de la pollution. Par contre la teneur en Cd total des terres ne semble pas être la caractéristique déterminante pour les concentrations de Cd dans *T. caerulescens*. En effet, les teneurs sont similaires entre les terres S1 et S3. Pour cette plante, il semble y avoir un seuil, atteint pour un contenu de Cd dans la terre compris entre 8,9 et 18,7 mg Cd kg^{-1} terre, puisque les teneurs de la plante n'augmentent pas entre S1 et S3. Elles sont même inférieures pour S5 (20,3 mg Cd kg^{-1} terre) ce qui peut paraître surprenant sachant que le pH est plus bas que celui de S3 alors que la teneur du Cd total est similaire.

Lorsque l'on compare les résultats obtenus pour les deux coupes, on remarque que les teneurs de Cd dans le ray grass sont équivalentes entre 1 et 3 mois, alors que celles de la laitue augmentent (en particulier sur les terres polluées) et que celles de *T. caerulescens* diminuent (sauf S1). Il semble qu'en développant son système racinaire, la laitue prélève de plus en plus de Cd alors que pour l'hyperaccumulatrice, le taux de prélèvement (en mg Cd kg^{-1} terre) augmentent moins vite que la biomasse de la plante, ce qui aboutit à une dilution du Cd prélevé dans la matière sèche produite.

Les teneurs obtenues pour le ray-grass sur la terre S0 sont en accord avec les moyennes trouvées *in situ* sur 120 sols de l'est des Etats Unis (0,17 mg kg^{-1} MS) (Huffman et Hodgson, 1973). Celles dans la laitue sur la terre S0 sont équivalentes à celle trouvées sur sols de jardins urbains (0,9 à 7 mg kg^{-1} MS) (Kabata-Pendias et Pendias, 1992 ; Schwartz *et al.*, 2000). Les teneurs de Cd dans la laitue cultivée sur les terres polluées S1 à S5 sont du même ordre de grandeur que d'autres valeurs trouvées sur des sols amendés par des boues de station d'épuration à différentes concentrations (0,5 à 22,8 mg kg^{-1} MS pour des terres contenant 0,02 à 13,6 mg Cd kg^{-1}) (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Les concentrations de Cd dans *T. caerulescens* confirment les teneurs trouvées chez cette même plante sur des sols fortement pollués par Cd (Schwartz, 1997). Sur la terre S0, les teneurs trouvées sont comparables à d'autres valeurs données par *T. caerulescens* (même variété) sur un sol agricole (16 mg de Cd kg^{-1} MS pour un sol contenant 0,2 mg de Cd kg^{-1}) (Schwartz, 1997).

II.3. Prélèvements de Cd par les végétaux

Le prélèvement total de Cd par kg de terre a été calculé après 1 et 3 mois de culture pour les différentes espèces végétales étudiées.

Tableau 13 : Prélèvements de Cd par les végétaux après un mois de culture pour les terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulescens</i>
	$\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ terre		
S0	1,17 e	0,51 c	4,2 b
S1	3,90 c	0,96 c	84 b
S2	6,00 b	2,58 c	177 b
S3	8,77 a	6,00 b	364 a
S4	2,22 d	21 a	0,8 b
S5	6,30 b	*	29 b

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Après un mois de culture, le prélèvement total de Cd par le ray grass augmente avec la contamination en Cd total des terres S0 à S3, passant de 1,17 à 8,77 $\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ terre (Tableau 13). Le moindre prélèvement de Cd sur S4 est due à une production de biomasse inférieure par rapport à S3. La biomasse produite étant plus grande sur S3 que sur S5, les prélèvements totaux en Cd sont proches, malgré une plus forte concentration de Cd dans le ray grass pour S5. Pour la laitue, on observe également une gradation des prélèvements entre S0 et S4, les forts prélèvements sur S4 par rapport à S3 s'expliquant par une biomasse et une teneur en Cd plus importantes. Les quantités prélevées par *T. caerulescens* augmentent également avec le Cd total des terres, variant de 4,2 pour S0 à 364 $\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ terre pour S3. La très faible valeur sur S4 s'explique à la fois par une biomasse et une teneur très faible en Cd, pour S5, le facteur explicatif des faibles prélèvements est uniquement la biomasse produite.

Les faibles quantités de Cd prélevées par le ray grass et *T. caerulescens* sur S4 après trois mois de culture sont dues à une biomasse plus faible que pour les autres terres carbonatées (Tableau 14). La biomasse est également le facteur limitant pour *T. caerulescens* cultivé sur S5. On retrouve, pour le ray grass et la laitue après 3 mois de culture, l'augmentation des prélèvements de Cd avec la teneur en Cd total, pour les terres S0 à S3. La tendance est la même pour les prélèvements en Zn et Pb (Annexe 2, Tableaux 35 à 38).

Tableau 14 : Prélèvements de Cd par les végétaux après 3 mois de culture pour les terres S0 à S5.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulescens</i>
		µg Cd kg ⁻¹ terre	
S0	1,5 e	2,8 d	32 d
S1	5,5 c	21,5 c	1374 a
S2	8,3 b	31,5 b	891 b
S3	11,3 a	63,3 a	1669 a
S4	3,6 d	68,6 a	6,7 d
S5	10,1 a	*	452 c

Les moyennes d'une même colonne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Dans le cas de *T. caerulescens*, le prélèvement en Cd est inférieur pour la terre S2 à celui pour la terre S1. Il semble qu'un palier soit atteint pour le prélèvement de Cd par *T. caerulescens* dans les terres carbonatées dès 8,9 mg Cd kg⁻¹ terre, puisque les prélèvements sont similaires entre S1 et S3. On observe le même phénomène pour les prélèvements de Zn par l'hyperaccumulatrice (Annexe 2, Tableau 39) alors que les prélèvements de Pb (Tableau 40) augmentent avec la teneur totale dans la terre. Bien que la teneur totale en Cd des sols ne suffise pas à évaluer le risque de transfert vers les plantes en général, l'accumulation serait cependant dépendante de cette valeur. Nanda Kumar *et al.* (1995) concluent de leurs études qu'il n'y aurait pas d'hyperaccumulation possible pour des solutions de sol à teneur réduite en Cd. Ce résultat est discutable par rapport aux résultats de l'expérience, puisque *T. caerulescens* prélève 32 mg Cd kg⁻¹ terre pour la terre carbonatée S0, contenant 0,63 mg Cd kg⁻¹ terre, et dont on peut supposer que la concentration de Cd en solution est faible. Le prélèvement est équivalent de celui de Cd par la laitue pour une terre contenant 24 fois plus de Cd (terre S2).

La teneur totale en Cd des graines utilisées est de 0,03 µg de Cd pour 0,5 g de graines semées par pot pour le ray grass, 2,8 10⁻⁴ µg pour 2 graines de laitue et 0,014 µg pour 2 graines de *T. caerulescens*. Le Cd originellement présent dans les graines a contribué au plus à 0,01 % du Cd total prélevé pour la laitue en 3 mois, 0,2 % pour *T. caerulescens* et 2 % pour le ray grass (terre S0). Son importance est donc négligeable pour le calcul de la composition isotopique du Cd dans les plantes (CI_P).

En conclusion, les prélèvements de Cd (et Zn) par les végétaux sont très contrastés sur les terres étudiées et varient de 1,5 mg Cd kg⁻¹ terre pour le ray grass (terre S0), à 1669 mg Cd kg⁻¹ terre pour *T. caerulescens* (terre S3). Ces quantités totales prélevées augmentent avec la contamination en Cd total des terres dans le cas du ray grass et de la laitue.

II.4. Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans les végétaux

La composition isotopique du Cd^{2+} dans les végétaux a été calculée après 1 et 3 mois de culture.

Tableau 15 : Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans les végétaux après un mois de culture.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulescens</i>
	mg ⁻¹ Cd kg terre		
S0	1,54 b	5,69 a	3,38 b
S1	0,21 a	0,31 a	0,23 a
S2	0,22 a	0,19 a	0,10 b
S3	0,16 a	0,15 a	0,03 b
S4	0,16 a	0,14 b	(0,13)
S5	0,06 a	*	0,07 a

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Les valeurs sont entre parenthèses lorsqu'il y a moins de 4 répétitions. Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

La composition isotopique du Cd^{2+} dans le ray grass (CI_P) après un mois de culture varie de 0,06 sur la terre S5 à 1,54 mg⁻¹ Cd kg terre sur S0 (Tableau 15). Cette valeur s'échelonne de 0,14 à 5,69 mg⁻¹ Cd kg terre pour la laitue, et de 0,03 à 3,38 mg⁻¹ Cd kg terre pour *T. caerulescens*. Pour la terre S0, la CI_P du ray grass est égale à celle de *T. caerulescens*. Cependant des réserves sont émises sur cette valeur en raison de la très faible teneur en Cd des minéralisats du ray grass (<5 µg L⁻¹). Plus les terres carbonatées sont polluées, plus la différence entre la CI_P du ray grass et celle de *T. caerulescens* est significative. Pour la terre S1, les CI_P des 3 plantes sont égales. Puis, pour les terres S2 et S3, les CI_P du ray grass et de la laitue sont égales entre elles et supérieures à celle de *T. caerulescens*. Enfin, sur la terre S4, la CI_P du ray grass est supérieure à celle de la laitue.

Tableau 16 : Compositions isotopiques du Cd²⁺ dans les végétaux après 3 mois de culture.

Terre	Ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>
mg ⁻¹ Cd kg terre			
S0	1,74 c	3,32 ab	3,97 a
S1	0,24 a	0,18 b	0,18 b
S2	0,21 a	0,10 c	0,15 b
S3	0,16 a	0,09 b	0,11 b
S4	0,19 a	0,16 b	0,16 b
S5	0,07 a	*	0,06 a

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

A 3 mois, les valeurs de CI_P varient de 1,74 à 3,97 mg⁻¹ Cd kg terre pour la terre S0 et de 0,07 à 0,24 mg⁻¹ Cd kg terre pour les autres terres (Tableau 16). Pour la terre S5, les CI_P du ray grass et de *T. caerulea* sont égales. La CI_P de Cd²⁺ pour les végétaux cultivés sur la terre S5 est 3 fois inférieure à celle de S4, malgré un Cd total dans la terre équivalent. Pour les terres carbonatées, plus le contenu en Cd total est important, plus la CI_P est petite. La tendance est la même après la première coupe. Sur la terre S0, la CI_P dans le ray grass est inférieure à celles dans la laitue (comme lors de la première coupe) et *T. caerulea*. Pour toutes les terres carbonatées et polluées, sauf S2, la CI_P du ray grass est supérieure à celles des autres plantes, qui sont identiques entre elles.

II.5. Origine du Cd phytodisponible

Les plantes étudiées couvrent une large gamme de comportement d'absorption du Cd du sol comme le montrent les résultats de teneurs et de prélèvements de Cd par ces plantes. Les terres utilisées permettent à la fois d'étudier une gradation dans la contamination de la terre par Cd (S0 à S3) et l'effet de la teneur en carbonates et du pH (comparaison S4 et S5), même si ce ne sont pas les seules caractéristiques qui diffèrent entre ces 2 terres.

La comparaison entre les CI_P pour une terre donnée permet de savoir si le pool de Cd phytodisponible est le même pour toutes les plantes. En effet, celles-ci prélèvent l'élément dans la solution du sol. La phase aqueuse est en équilibre dynamique avec les ions échangeables sorbés sur la phase solide ou chélatés à des ligands organiques ou inorganiques. Lorsque l'on introduit l'isotope radioactif dans le sol, il se dilue dans le pool isotopiquement échangeable de Cd²⁺. Les plantes qui accèdent uniquement au pool isotopiquement

échangeable du sol ont entre elles le même rapport $^{109}Cd/Cd$ stable dans leurs tissus. Inversement on peut affirmer que les plantes ayant la même CI_P accèdent à des formes de Cd^{2+} ayant des cinétiques d'échange identiques dans le sol. Ceci est vrai à partir du moment où le Cd^{2+} contenu dans les graines est négligeable devant le Cd prélevé ou s'il ne participe pas au transfert dans les parties analysées, et, s'il n'y a pas de discrimination mesurable entre le Cd stable et le ^{109}Cd durant le prélèvement.

On peut envisager que la plante soit capable de modifier la composition isotopique du Cd dans la solution du sol (CI_S) et qu'elle ait, par conséquent, une CI_P différente de celle d'une autre plante. Une solubilisation du Cd de la phase solide pourraient entraîner un passage en solution de quantités non isotopiquement échangeables à l'origine, et par conséquent, après absorption, la CI_P dans la plante serait plus petite. Dans la rhizosphère, la mobilité du Cd peut être différente de celle du sol nu en raison de la présence d'exsudats racinaires, de gradients de pH, de matière organique et de force ionique (McLaughlin *et al.*, 1998). Différentes espèces végétales peuvent induire une acidification ou une alcalinisation de la rhizosphère, ou altérer les concentrations des ligands organiques dans la phase aqueuse (Dinkelaker *et al.*, 1989). Pour expliquer ce phénomène, on peut citer la dissolution d'oxydes, d'hydroxydes, de phosphates ou encore de phases organiques adsorbés spécifiquement sur la phase solide (Hedley *et al.*, 1982; Fischer *et al.*, 1996).

L'influence de la plante sur le Cd assimilable dans les sols a été illustrée dans la littérature par la mesure de valeurs L, calculées pour différentes plantes non accumulatrices (Hamon *et al.*, 1997). L'activité spécifique supérieure du colza par rapport à celle des autres plantes a impliqué que l'ensemble de celles-ci avait mobilisé du Cd appartenant à une autre compartiment du sol. Une étude a été réalisée également afin caractériser le Cd phytodisponible pour diverses populations de *T. caeruleus* (Hutchinson *et al.*, 2000). Différentes variétés de *T. caeruleus*, prélevant Cd en quantités différentes, ont présenté des valeurs L égales entre elles, et également identiques à la valeur L d'une non hyperaccumulatrice *Lepidium heterophyllum*. Par conséquent, les auteurs ont conclu que le Cd assimilable pour *T. caeruleus* était le même que pour la plante non accumulatrice.

Pour la terre S0, la CI_P du ray grass est inférieure à celle de la laitue et de *T. caeruleus*. Ce résultat peu cohérent avec les autres données a été attribué à la difficulté de mesurer les faibles quantités de Cd total dans cette plante. Pour la terre S5, les CI_P du ray grass et de *T. caeruleus* sont identiques à 3 mois. Le Cd assimilable par ces plantes provient donc d'un même compartiment dans le sol. C'est à dire que ce Cd phytodisponible appartient à un ensemble d'éléments ayant des propriétés cinétiques identiques. Les plantes ont pu tout de

même modifier les propriétés du Cd disponible dans ce sol mais, si c'est le cas, elles l'ont réalisé dans une même proportion. Pour les terres carbonatées, la laitue et *T. caerulescens* ont eu accès, en 3 mois, à un même compartiment de Cd dans le sol, excepté pour la terre S2. Ces deux plantes ont une CI_p inférieure à celle du ray grass. Elles ont donc accès à des quantités différentes et plus importantes que celles assimilables par cette plante. Pour la terre S2, la CI_p de la laitue est inférieure à celle de *T. caerulescens*, indiquant que la plante a prélevé le Cd dans d'autres quantités que celles isotopiquement échangeables auxquelles a accès l'hyperaccumulatrice. Un effet toxique de Cd ou Zn, induisant une lésion des parois des cellules et une libération de composés acides ou complexants dans la rhizosphère, peut expliquer l'effet de la laitue sur le Cd phytodisponible des terres carbonatées (Costa, 1992). En effet, la laitue est sensible à la pollution pour les terres étudiées, puisque l'on a observé un retard de maturité en fonction des teneurs en Cd, Zn et Pb pour les terres S0 à S4, et une absence total de développement sur la terre S5. Pour l'hyperaccumulatrice *T. caerulescens*, les forts prélèvements de Cd par la plante ont pu entraîner un déséquilibre important entre la phase solide et la solution du sol, induisant un passage en solution de Cd qui n'était pas phytodisponible à l'origine. Cette plante ne modifierait pas le pH rhizosphérique (Knight *et al.*, 1997; McGrath *et al.*, 1997). Des travaux sont en cours pour déterminer le rôle des racines et des exsudats (Schwartz *et al.*, 1999b ; Krämer *et al.*, 1996).

Hamon *et al.* (1997) ont montré que la plupart des plantes avait accès à des fractions de Cd plus importantes que celles assimilables par le colza. Ce résultat est en accord avec ceux des terres carbonatées, montrant que la laitue et *T. caerulescens* ont accès à des fractions de Cd autres que celles assimilables par le ray grass. Par contre Hamon et McLaughlin (1999) ont montré que le blé et *T. caerulescens* avaient des valeurs L identiques pour des sols pollués. Cependant la terre utilisée dans l'étude de Hamon *et al.* (1997) ne contenait que 0,2 mg Cd kg^{-1} de Cd, ce qui la rend comparable seulement à S0. Les résultats de Hutchinson *et al.* (2000) sont similaires à ceux trouvés pour la terre S5 et proviennent probablement des fortes quantités de Cd total contenu dans les terres étudiées (130 à 770 mg Cd kg^{-1} terre), malgré la présence de carbonates dans ce cas.

En conclusion, pour la terre à tendance acide S5, le Cd phytodisponible est le même pour toutes les plantes, quel que soit leur niveau de prélèvement en Cd. Pour les terres polluées carbonatées, la laitue et *T. caerulescens* ont accès à une fraction de Cd non assimilable par le ray grass, ce qui montre que le concept de phytodisponibilité est bien dépendant de la plante et pas uniquement à l'offre du sol dans ce cas.

II.6. Quantités de Cd phytodisponible

La valeur L permet de déterminer les quantités de Cd phytodisponible pour un temps de culture donné. L est définie comme l'inverse de CI_p , ce qui permet de prendre en compte la radioactivité R initialement introduite dans la terre. Le tableau 17 découle donc du tableau 16 mais donne une information quantitative sur le Cd assimilable. Nous avons choisi de présenter à la fois les compositions isotopiques de Cd (Tableau 16) et les valeurs L (tableau 17) (ou E, cf. chapitre suivant) car ces dernières valeurs ne peuvent être calculées qu'à partir des précédentes que l'on peut considérer comme les valeurs « brutes » de l'expérience. La présentation des deux types de valeurs permet de garder à l'esprit sur quel principe repose le calcul des quantités de Cd phytodisponible.

Tableau 17 : Valeurs L (3 mois) en mg Cd kg⁻¹ terre et en % du Cd total du sol.

Terres	Ray grass	Laitue	<i>T. caeruleascens</i>
mg Cd kg ⁻¹ terre			
S0	0,88 a (>100%)	0,33 bc (50%)	0,25 c (42%)
S1	4,17 b (47%)	5,51 a (62%)	5,43 a (62%)
S2	4,76 b (32%)	9,52 a (66%)	6,65 b (44%)
S3	6,25 c (25%)	11,19 a (44%)	8,88 a (35%)
S4	5,26 b (28%)	6,36 a (33%)	6,47 a (33%)
S5	16,00 a (78%)	*	17 a (85%)

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Découlant des valeurs de CI_p , la valeur L pour le ray grass sur S0 est à nouveau aberrante (>100 %) (Tableau 17). Le pool labile de Cd varie suivant les plantes de 25 à 66 % du Cd total pour les terres carbonatées. Les quantités assimilables par la laitue et *T. caeruleascens* sont supérieures à celles assimilables par le ray grass. Les quantités de Cd phytodisponible représentent environ 80 % pour la terre S5. Les différences décrites pour les CI_p entre plantes pour les terres carbonatées (Tableau 16) se répercutent sur les valeurs L ($1/CI_p$).

Pour ces terres, dans le cas du ray grass, le % de Cd labile par rapport au Cd total décroît avec l'augmentation de la teneur des terres en Cd. Plus la terre est polluée (par les poussières de fonderie), plus la proportion de Cd phytodisponible serait faible car le Cd pourrait être présent dans des formes inertes ou vitrifiées. Cette valeur est constante (en % du Cd total) dans le cas de la laitue, et a tendance à diminuer dans le cas de *T. caeruleascens*. La plante semble agir

dans les mêmes proportions que la laitue sur le Cd phytodisponible, sauf dans le cas de la terre S2. Une étude faisant varier certaines caractéristiques physico-chimiques de la terre S2, pourrait permettre d'expliquer la spécificité de cette terre par rapport aux autres terres carbonatées.

Pour la terre à tendance acide S5, la valeur L est équivalente (en %) à celles trouvées par Smolders *et al.* (1999) pour des sols de pH similaire. Les valeurs L étaient comprises entre 55 et 109 % (moyenne de 82 %). La valeur L pour la terre S5 est également équivalente à d'autres comprises entre 80 et 90 % du Cd total du sol, pour du soja cultivé sur 5 sols amendés sur le long terme par des boues de station d'épuration (Lloyd *et al.*, 1981). Par contre, les valeurs L trouvées dans le cas de la terre S0 sont supérieures à celles trouvées pour une terre sablo-limoneuse peu contaminée et à tendance acide (Hamon *et al.*, 1997).

Les quantités de Cd assimilable restent importantes dans les terres carbonatées S0 à S4 bien que ces terres aient été chaulées de manière à limiter les transferts sol-plante d'éléments toxiques. Le Cd est pratiquement 3 fois plus assimilable dans la terre S5 que dans la terre S4 qui ont pourtant des teneurs totales en Cd proches (18,7 et 20,3 mg Cd total kg^{-1}). Ce résultat est à relier au pH, à la moindre teneur en carbonates ou à la pollution industrielle d'origine différente.

III. Conclusion

Des plantes à prélèvements en Cd très contrastés comme le ray grass et l'hyperaccumulatrice de Cd (et Zn) *T. caerulescens* ont accès au même pool de Cd dans une terre à tendance acide. Dans les terres carbonatées, la laitue et *T. caerulescens* ont accès à un pool différent et à des quantités plus importantes de Cd que le ray grass. Dans ce cas, la phytodisponibilité est fonction du couple terre-plante.

Pour les terres S0 à S4, la proportion de Cd phytodisponible représente 25 à 66 % du Cd total suivant la plante testée. Le chaulage de ces terres agricoles a réduit insuffisamment le risque de transfert sol-plante des éléments en traces. Les valeurs élevées de L trouvées pour des terres de pH et de contamination en Cd total équivalents à S5 (Lloyd *et al.*, 1981 ; Smolders *et al.*, 1999) sont confirmés par les résultats obtenus pour cette terre. En effet, les quantités de Cd assimilable dans la terre à tendance acide (environ 80 % du Cd total) sont 3 fois plus importantes que pour une terre carbonatée ayant une teneur totale en Cd similaire (S4).

Cette expérience a permis de comparer la phytodisponibilité de Cd entre différentes plantes, sans donner une caractérisation chimique ou isotopique des compartiments concernés dans les

terres. En effet, il se peut que toutes les plantes, y compris le ray grass pour les terres carbonatées, aient une valeur L inférieure à la valeur E (quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable dans le sol). Une mesure de cette valeur E permettrait de déterminer si le ray grass, qui a en général la CI_p la plus élevée, a accès strictement aux quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables dans la terre. Ceci permettrait également de calculer dans quelle proportion certaines plantes et en particulier l'hyperaccumulatrice sont capables de mobiliser du Cd^{2+} non isotopiquement échangeable à l'origine. La valeur E a été déterminée de deux manières dans les chapitres suivants. Dans le chapitre 4, un prélèvement de la solution des terres étudiées est réalisé dans le but d'y mesurer directement les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable (E). Dans le chapitre 5, la valeur E est caractérisée par une cinétique d'échange isotopique du Cd^{2+} , méthode qui pourrait permettre également de donner une représentation des compartiments de Cd^{2+} isotopiquement échangeables en fonction du temps (E(t)).

Chapitre 4 : Caractérisation du cadmium phytodisponible par la mesure de la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution du sol

Dans la terre à tendance acide S5, des plantes à prélèvements contrastés ont accès à du Cd provenant d'un même compartiment du sol. Pour les terres carbonatées, ce compartiment est différent suivant la plante étudiée : la laitue et *T. caerulescens* ont accès à des quantités plus importantes et différentes de celles assimilables par le ray grass. Quelle est la fraction accessible par le ray grass ? Est-ce le Cd^{2+} isotopiquement échangeable ? Dans quelle proportion la laitue et *T. caerulescens* ont-elles augmenté les fractions de Cd assimilable dans les terres carbonatées ? Comment l'expliquer ? Pour répondre à ces questions, le principe de la dilution isotopique a été utilisé dans un système sol-plante, couplé à un prélèvement de la solution du sol. La composition isotopique du cadmium dans la solution du sol et la valeur E correspondante ont été mesurées dans des terres cultivées ou non, de manière à comparer les valeurs L à la valeur E. L'influence de la plante sur la composition isotopique et les concentrations ioniques de la solution du sol a également été déterminée.

I. Cd^{2+} isotopiquement échangeable mesuré dans la solution du sol

I.1. Matériel et méthodes

Un échantillonneur SMS a été utilisé pour prélever la solution du sol et mesurer la composition isotopique du Cd^{2+} ainsi que les concentrations des autres éléments majeurs ou en traces. La solution est prélevée dans des terres nues ou cultivées. Cette expérience a été réalisée en même temps que la culture du ray grass, de la laitue et *T. caerulescens* décrite dans le chapitre précédent. Les terres choisies pour le prélèvement de solution ont été la terre carbonatée la plus contaminée, S4, et la terre à tendance acide S5. Les valeurs de CI_S ont été comparées aux valeurs CI_P décrites dans le chapitre précédent.

I.2. Comparaison entre les CI_P et les CI_S dans la solution des terres cultivées

Pour les terres S4 et S5, les compositions isotopiques du Cd^{2+} dans les solutions de terres cultivées (CI_S) et dans les végétaux (CI_P) sont identiques, après 1 mois de culture (Tableau 18). Après 3 mois de culture, les valeurs sont identiques également pour la terre S5 culture

(Tableau 19). Pour la terre S4, les valeurs de CI_S « terre cultivée » et CI_P sont égales, uniquement lorsque l'on considère les plantes une à une. On remarque que les groupes statistiques entre les CI_P du tableau 19 (alors comparées aux CI_S) diffèrent de ceux du tableau 16 (alors comparées uniquement entre elles). Ceci est à relier à la variabilité introduite par les valeurs de CI_S , les écarts types sur la mesure étant plus importants que pour les CI_P .

Tableau 18 : Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans les plantes (CI_P), les solutions de terres cultivées et dans les terres nues (CI_S), après un mois de culture.

terre	CI_P ray grass	CI_P Laitue	CI_P <i>T. caerulescens</i>	CI_S ray grass	CI_S Laitue	CI_S <i>T. caerulescens</i>	CI_S nue
S4	0,16 ab	0,14 ab	(0,13)	0,12 ab	0,15 ab	0,21 a	0,22 a
S5	0,06 a	*	0,07 a	0,06 a	*	0,06 a	0,06 a

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions), le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Tableau 19 : Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans les plantes (CI_P), les solutions de terres cultivées et dans les terres nues (CI_S), après 3 mois de culture.

terre	CI_P ray grass	CI_P Laitue	CI_P <i>T. caerulescens</i>	CI_S ray grass	CI_S Laitue	CI_S <i>T. caerulescens</i>	CI_S nue
S4	0,19 ab	0,16 b	0,16 b	0,26 a	0,21 ab	0,23 ab	0,27 a
S5	0,07 a	*	0,06 a	0,06 a	*	0,06 a	0,06 a

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions), le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

La CI_S « ray grass » pour la terre S4 après 3 mois de culture est supérieure aux CI_P de la laitue et de *T. caerulescens*. Ceci appuie l'hypothèse que la laitue et *T. caerulescens* ont entraîné une mise en solution de Cd^{2+} non isotopiquement échangeable à l'origine. Les différences entre les CI_P (Tableau 16) et le fait que celles de la laitue et de *T. caerulescens* soient inférieures à la CI_S pour le ray grass (Tableau 19), pourraient être dues à des phénomènes se déroulant au voisinage des racines au cours de leur croissance. Par contre, la mesure de CI_S en solution par les sondes ne permet pas de déceler un effet rhizosphérique de la laitue ou *T. caerulescens*. En effet, l'échantillonneur est introduit à mi-hauteur du vase de végétation et reste immobile pendant toute la période de croissance. Or les zones d'activité des racines et en particulier l'exsudation évoluent en fonction de la croissance racinaire. De plus, la terre du vase de végétation n'est pas complètement rhizosphérique puisque les racines la laitue et *T. caerulescens* sont pivotantes. Il serait utile, pour poursuivre ce type de recherche, de placer plusieurs échantillonneurs par pot afin de suivre la variabilité due à l'exploration de la terre

par les racines. Une mesure de CI_S plus locale, au niveau de la rhizosphère, donnerait une information plus précise et apporterait sans doute des éléments d'explications des différences entre les CI_P .

En conclusion, la mesure de la composition isotopique de Cd^{2+} (1/E) dans la solution d'une terre cultivée permet de donner une estimation des quantités de Cd phytodisponible dans des terres polluées de pH varié. La mesure de CI_S ne permet pas cependant de prendre en compte les phénomènes rhizosphériques ayant entraîné des différences entre les CI_P pour les terres carbonatées.

1.3. Comparaison entre les CI_P et les CI_S dans la solution des terres nues

Après un mois de culture, la mesure de CI_S « terre nue » n'est pas statistiquement différente de CI_S « terre cultivée » ni des valeurs de CI_P des 3 plantes étudiées pour les terres S4 et S5 (Tableau 18). C'est le cas également après 3 mois de culture pour la terre S5 (Tableau 19). La mesure du Cd^{2+} isotopiquement échangeable dans la solution de terre non cultivée, permet donc de quantifier le Cd phytodisponible pour ces plantes.

Pour la terre S4 après 3 mois de culture, la mesure de CI_S « terre nue » est égale uniquement à la CI_P du ray grass. Cette plante a donc accès strictement dans ce cas au Cd^{2+} isotopiquement échangeable. Les valeurs CI_P de la laitue et de *T. caeruleus* sont plus petites que la valeur de CI_S dans la terre non cultivée. Ces plantes ont augmenté les quantités isotopiquement échangeables (par rapport à la terre nue) d'où leur CI_P plus faible. Elles ont donc eu accès à un compartiment plus important que celui accessible par le ray grass.

1.4. Quantités de Cd^{2+} non isotopiquement échangeable initialement accessible à la laitue et *T. caeruleus*

Le ray grass ayant accès strictement dans la terre S4 au Cd^{2+} isotopiquement échangeable (E mesurée directement par les échantillonneurs SMS), on peut calculer à quelles quantités, non isotopiquement échangeables à l'origine, ont eu accès en plus la laitue et *T. caeruleus*, en se basant sur la différence entre les CI_P . La référence pour calculer les quantités de Cd supplémentaires accessibles à la laitue et *T. caeruleus* sera donc la CI_P du ray grass (la valeur E mesurée par les échantillonneurs n'étant disponible que pour les terres S4 et S5). La CI_P est définie dans le chapitre 2 par l'équation [10] :

$$CI_P = r_P/R \times 1/Cd_P \quad [Eq.10]$$

Chapitre 4 : Composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution du sol

La valeur r_p/R peut être calculée pour les 3 plantes grâce aux valeurs de CI_p et Cd_p expérimentales pour le temps $t=3$ mois de culture [Eq.11] .

$$r_p/R = CI_p * Cd_p \quad [Eq.11]$$

où Cd_p est le Cd total dans la plante (en $mg\ kg^{-1}$ terre). Le Cd théoriquement prélevé par la plante (Cd_p théorique), si elle n'a accès qu'au Cd^{2+} isotopiquement échangeable à l'origine, est défini par [Eq.12]:

$$Cd_p \text{ théorique} = CI_p \text{ ray grass} / (r_p/R) \quad [Eq.12]$$

La différence entre Cd_p théorique et Cd_p réellement mesuré dans les plantes donne la fraction de Cd^{2+} prélevée par la laitue et *T. caerulescens*, provenant de Cd non isotopiquement échangeable à l'origine dans la terre (Tableau 20).

%Cd provenant d'un compartiment non isotopiquement échangeable [Eq.13]:

$$\% = (Cd_p - Cd_p \text{ théorique}) / Cd_p \quad [Eq.13]$$

Tableau 20 : Cd^{2+} rendu isotopiquement échangeable par la laitue et *T. caerulescens*, en % du Cd total phytodisponible.

Terre	Laitue	<i>T. caerulescens</i>
S1	25 %	25 %
S2	52 %	29 %
S3	44 %	31 %
S4	16 %	16 %

Analyse de variance terre par terre au seuil de 5% (4 répétitions).

Ce calcul théorique sur les CI_p montre que la fraction de Cd^{2+} rendu isotopiquement échangeable par la laitue et *T. caerulescens* se situe entre 16 et 52 % du total accessible. Les valeurs sont équivalentes (en %) sauf pour la terre S2, où la laitue a augmenté la taille des compartiments assimilables, plus que ne l'a fait l'hyperaccumulatrice.

1.5. Conclusion

Le ray grass a accès strictement au Cd^{2+} isotopiquement échangeable pour toutes les terres étudiées. C'est le cas également pour *T. caerulescens* dans le cas de la terre S5. Par contre, la

laitue et *T. caerulescens* ont mobilisé du Cd^{2+} qui n'était pas isotopiquement échangeable à l'origine dans la terre S4.

Un travail récent, conduit avec différentes populations de *T. caerulescens* cultivés sur des terres plus fortement contaminées mais de pH et teneur en carbonates similaires à ceux de la terre S4, a conclu que l'hyperaccumulatrice ne mobilisait pas de Cd non labile (Hutchinson *et al.*, 2000). Ce résultat est en accord avec ceux trouvés pour S5 mais en contradiction avec ceux trouvés pour les terres carbonatées S1 à S4. Il est probable que les fortes teneurs en Cd des terres utilisées par Hutchinson *et al.* (2000) (130 et 770 mg Cd kg^{-1} terre) aient masqué un effet de l'hyperaccumulatrice sur le Cd labile, comme c'est d'ailleurs le cas pour la terre S5 où *T. caerulescens* est sans effet sur le Cd^{2+} isotopiquement échangeable. Hamon et McLaughlin (1999) ont montré également des valeurs L similaires entre *T. caerulescens* et le blé pour des sols contaminés entre 0,1 et 19,5 mg Cd kg^{-1} terre, cependant pour la terre calcaïque étudiée il semble que les différences entre les deux valeurs L ne soient pas toujours négligeables.

Il semble donc que lorsque les quantités totales (terres carbonatées, Hutchinson *et al.*, 2000) ou phytodisponibles (terre S5) de Cd sont importantes, *T. caerulescens* ne mobilise pas de Cd non isotopiquement échangeable à l'origine. Lorsque les teneurs totales ou phytodisponibles de Cd dans des terres carbonatées sont plus faibles (par exemple 20 mg Cd kg^{-1} terre), l'hyperaccumulatrice mobilise du Cd qui n'était pas labile à l'origine.

En conclusion, la mesure de la valeur E ($1/CI_S$) dans la solution d'une terre cultivée donne une mesure du Cd^{2+} assimilable par la plante considérée. L'usage des échantillonneurs SMS ne permettrait pas cependant de détecter certains phénomènes rhizosphériques susceptibles de modifier les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable au voisinage direct des racines. Pour la terre à tendance acide S5, un prélèvement de la solution de la terre nue et la mesure des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable permet d'estimer les quantités de Cd^{2+} phytodisponible. Cette méthode permet d'évaluer également les quantités de Cd^{2+} assimilable par le ray grass pour la terre carbonatée S4. La mesure en milieu non cultivé de la valeur E sous-estime les valeurs L de la laitue et de *T. caerulescens* pour cette terre, ces plantes ayant mobilisé du Cd^{2+} qui n'était pas isotopiquement échangeable à l'origine (dans une proportion de 16 à 52 % du total assimilable).

II. Evolution des compositions isotopiques et ioniques de la solution du sol

Pour comprendre les phénomènes rhizosphériques induisant une augmentation des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable dans les terres carbonatées, les valeurs de CI_S dans les terres nues et cultivées ont été étudiées, non plus ponctuellement après 1 ou 3 mois de culture, mais tout au long de la période de croissance des végétaux. Les évolutions des concentrations de Cd, Zn, Pb, K et Ca en solution ont également été décrites pour affiner la discussion des résultats.

II.1. Matériel et méthodes

Lors de la culture du ray grass, de la laitue et de *T. caerulea* sur les terres S4 et S5, des prélèvements de la solution du sol ont été effectués avec les échantillonneurs SMS à des intervalles de temps croissants : 1, 15 jours, 1 mois, 2 mois et 3 mois de culture (soit en fait, entre 2 et 5 mois après le marquage). Vingt-quatre heures avant le prélèvement, la terre a été amenée à 90 % de sa CAC. Un mL de solution de sol a été prélevé pour purger le capillaire de la sonde puis environ 10 mL ont été récoltés. ^{109}Cd , Cd ainsi que Zn, Pb, Ca, K et le pH (uniquement pour la terre S5), ont été mesurés dans la solution recueillie. Les valeurs de CI_S obtenues ont été comparées à celles obtenues dans le cas de terres nues.

II.2. Suivi de la composition isotopique du Cd^{2+} en solution

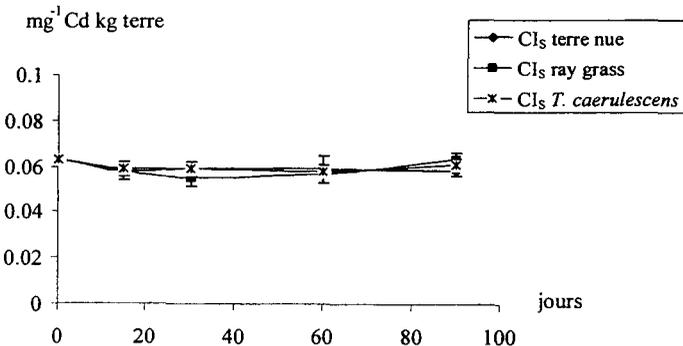


Figure 10 : Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans la solution des terres cultivées ou nues, en fonction du temps (0 à 3 mois de culture), terre S5. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

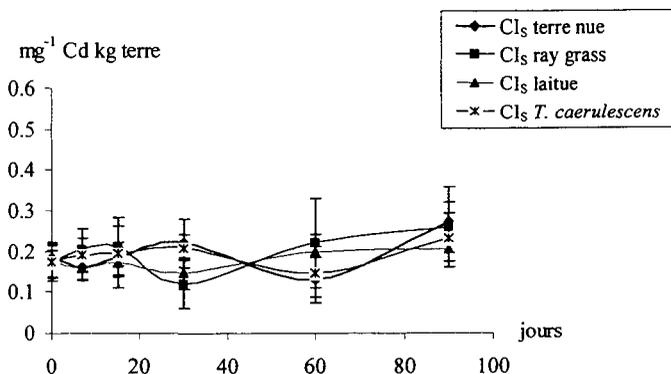


Figure 11 : Compositions isotopiques du Cd^{2+} dans la solution des terres cultivées ou nues, en fonction du temps (0 à 3 mois de culture), terre S4 Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Les CI_s de Cd^{2+} dans la solution des terres S4 et S5, cultivées ou non, ne dépendent pas du temps et sont identiques entre elles, à chaque date de prélèvement (Figures 10 et 11). Comme cela a été montré dans le chapitre « Matériel et Méthodes », la composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution des deux terres nues ne varie pas de façon significative une semaine après le marquage du Cd^{2+} échangeable. On ne décèle pas sur la période de croissance des végétaux de modifications significative de la CI_s due aux plantes. Cette mesure de la valeur E ($1/CI_s$) présente des écarts types importants pour la terre carbonatée, ce qui masque peut être un effet des plantes. Ceci est due à la faible quantité de Cd^{2+} et $^{109}Cd^{2+}$ dans la solution, attribuée au pH élevé et à la teneur en carbonates.

II.3. Evolution des compositions ioniques en solution

Les concentrations de différents cations en solution (Cd, Zn, Pb, Ca et K) et le pH (terre S5 uniquement) ont été suivis en fonction du temps dans les terres cultivées ou non. Le pH n'a été suivi que pour la terre S5 car cette expérience étant la dernière réalisée, elle a bénéficié d'une amélioration du protocole. La spéciation n'ayant été réalisée en solution que pour le Cd dans le cas de terres non cultivées, les formes chimiques des cations mesurées en solution peuvent comprendre des complexes solubles.

II.3.1. pH

Le pH de la solution de la terre S5 non cultivée est constant en fonction du temps et égal à 5,5 (Figure 12). Le ray grass et *T. caeruleus* entraînent une augmentation de pH de 0,8 unité en

3 mois. La différence avec le pH de la terre nue s'accroît avec le temps de croissance des végétaux. Cette augmentation du pH peut s'expliquer par le prélèvement de H^+ ou la sécrétion d'ions HCO_3^- par la plante puisque la fertilisation azotée a été apportée sous forme nitrique (Marschner, 1986 ; Wu, 1989).

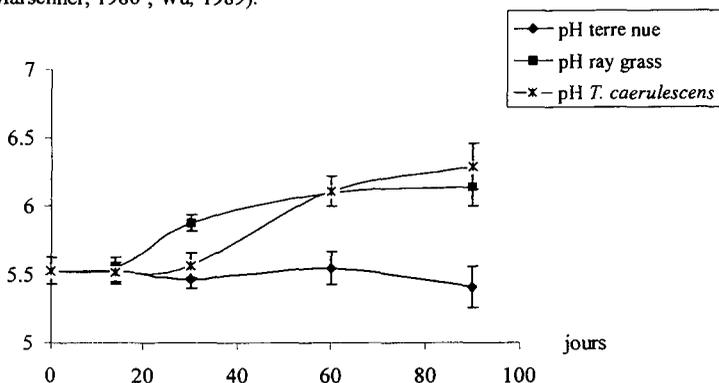


Figure 12: Evolution du pH de la solution de la terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

II.3.2. Cd, Zn, Pb en solution

Cd en solution

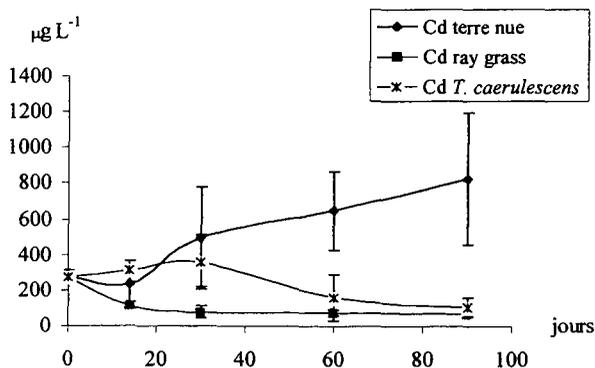


Figure 13: Evolution de la concentration de Cd dans la solution de la terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Dans le traitement « terre nue » de la terre S5 (Figure 13), la concentration du Cd^{2+} dans la solution du sol a tendance à augmenter avec le temps. Cependant, les différences ne sont pas significatives. Dans les terres où sont cultivées le ray grass ou *T. caeruleus*, la concentration de Cd en solution est inférieure à partir de 30 jours à celle des terres nues ($100 \mu\text{g L}^{-1}$). L'écart existant entre les traitements ray grass et *T. caeruleus* s'estompe après 1 mois de croissance. La différence de concentrations de Cd dans la solution entre les terres nues et cultivées est attribuée aux prélèvements de Cd par les plantes (Tableaux 13 et 14) ainsi qu'à l'augmentation du pH.

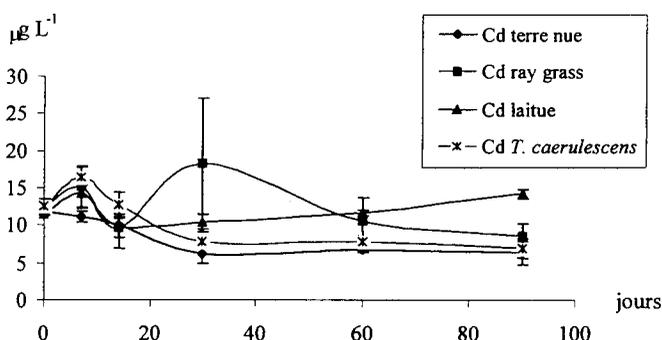


Figure 14: Evolution de la concentration du Cd dans la solution de la terre S4, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Pour la terre S4, à partir de 7 jours, les 3 plantes entraînent une légère augmentation du Cd en solution (Figure 14). L'effet est croissant dans le cas de la laitue jusqu'à 90 jours. Il n'est plus significatif à partir de 14 j pour *T. caeruleus* et pour le ray grass lors du dernier prélèvement. On constate que sur la terre nue, les concentrations de Cd de la solution diminuent jusqu'à 30 jours (de $12 \mu\text{g L}^{-1}$ à $t=0$ à $6 \mu\text{g L}^{-1}$ à $t=30$ jours) puis se stabilisent ensuite.

Ces résultats ne permettent pas d'expliquer directement les différences observées entre les CI_P à 3 mois (Tableau 16), où *T. caeruleus* et la laitue ont accès à une fraction de Cd^{2+} non isotopiquement échangeable à l'origine. Dans le cas du ray grass, une activité rhizosphérique (exsudats, microorganismes) entraînerait la mise en solution de Cd^{2+} , mais celui-ci appartiendrait aux quantités isotopiquement échangeables, puisque la CI_P du ray grass est égale à la CI_S de la terre nue. Dans le cas de la laitue, les quantités de Cd^{2+} mises en solution

appartiendraient à des fractions qui n'étaient pas isotopiquement échangeables à l'origine. *T. caeruleus* n'a pas entraîné d'augmentation de concentration de Cd en solution. Ceci peut s'expliquer par le fait que la plante a consommé le Cd^{2+} mobilisé pendant sa croissance. Pour ce qui est des fluctuations de concentrations de Cd dans les terres nues, des conditions d'oxygénation, l'activité microbiologique, et les variations de pH dans les pots peuvent en être responsables.

Zn en solution

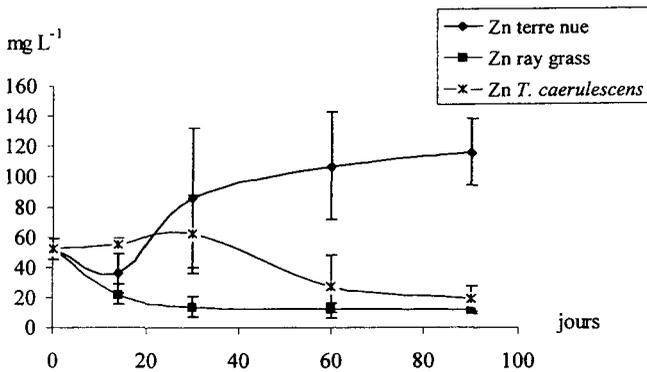


Figure 15 : Evolution de la concentration du Zn dans la solution de la terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

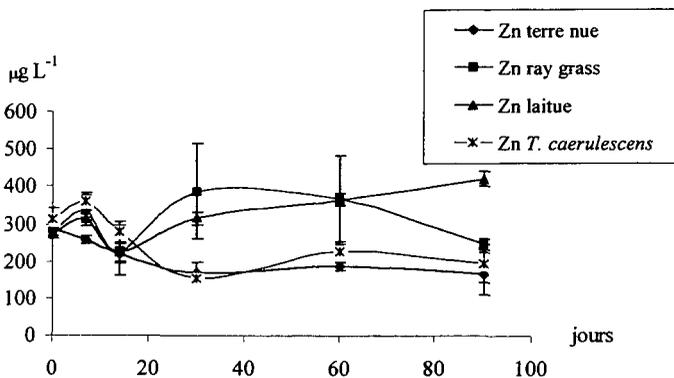


Figure 16 : Evolution de la concentration du Zn dans la solution de terre S4, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Pb en solution

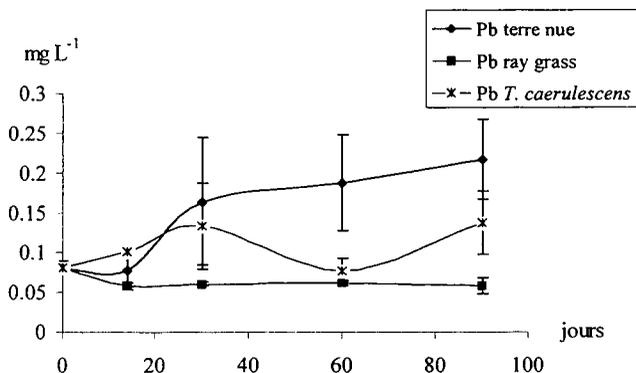


Figure 17 : Evolution de la concentration du Pb dans la solution de terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

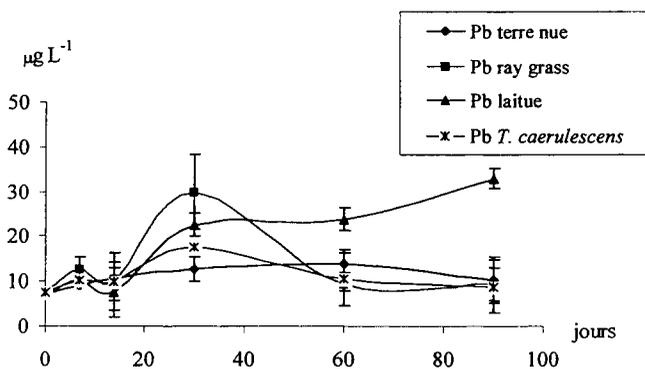


Figure 18 : Evolution de la concentration du Pb dans la solution de terre S4, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Les concentrations de Zn et Pb suivent les mêmes évolution que Cd (Figures 15 à 18). L'effet des plantes ne serait donc pas spécifique de l'élément en traces étudié. Pour les évolutions de concentrations de Pb dans la solution de la terre S4, on remarque que l'effet de la laitue est plus marqué que pour Cd ou Zn. Or le Pb a plus d'affinité pour les molécules organiques que

Cd ou Zn. Ceci appuierait l'hypothèse de la présence dans la rhizosphère de la laitue de molécules complexantes ou acidifiantes (due à une toxicité de Cd ou Zn) et expliquerait l'augmentation des quantités de Cd assimilables dans ce cas (cf. Chapitre 3).

Les concentrations en cations métalliques sont supérieures dans la terre nue S5 par rapport à S4 (100 fois plus pour Cd, 700 fois pour Zn et 20 fois pour Pb dans le cas des terres nues). Ceci est à relier au pH, à la teneur en carbonates et peut être à l'origine différente de la pollution.

II.3.3. Ca et K en solution

Ca en solution

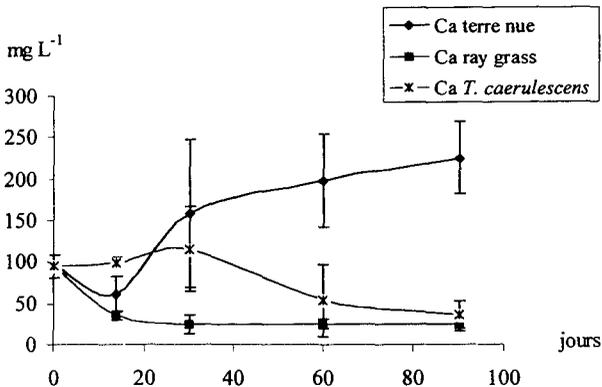


Figure 19 : Evolution de la concentration du Ca dans la solution de la terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

La concentration du Ca a tendance à augmenter en solution à partir de 30 jours pour la terre nue S5 mais les différences ne sont pas significatives (écart type important) (Figure 19). La concentration dans le cas des terres cultivées est inférieure à celle de la terre nue, à partir de 15 jours pour le traitement ray grass, et 30 jours dans le cas de *T. caerulescens*. Les évolutions de concentration de Ca sont identiques à celles de Cd et peuvent s'expliquer également par les prélèvements des plantes (Annexe 3, Tableau 40) et l'évolution du pH.

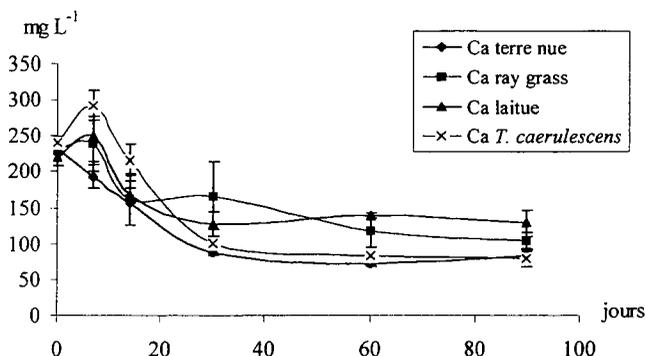


Figure 20 : Evolution de la concentration du Ca dans la solution de la terre S4, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Les teneurs de Ca en solution diminuent pour la terre S4 en fonction du temps quel que soit le traitement, et de façon importante (de 231 à 83 mg L⁻¹ en 3 mois) dans les pots nus (Figure 20). Les valeurs sont homogènes à t=0 tandis que la laitue et *T. caerulescens* entraînent une augmentation des concentrations de Ca en solution dès 7 jours. Cet effet n'est plus perceptible à 30 jours mais redevient perceptible pour la laitue en fin de culture. Le ray grass augmente de façon significative les teneurs en Ca de la solution du sol à partir de 30 jours.

On remarque que la concentration de Ca pour la terre nue S4 est supérieure à celle de la terre nue S5 (Figure 19) à t=0 alors que l'inverse se produit à 3 mois. La diminution pour tous les traitements de Ca en solution dans la terre S4 peut s'expliquer par une précipitation de CaCO_3 conjointe à une baisse du pH due à l'eau stagnant dans les vases de végétation.

K en solution

L'évolution de K est similaire à celle de Ca avec un effet plus marqué des plantes, pour la terre S4 (Figures 21 et 22). Ceci est attribué aux forts prélèvements de K par le ray grass et la laitue en particulier.

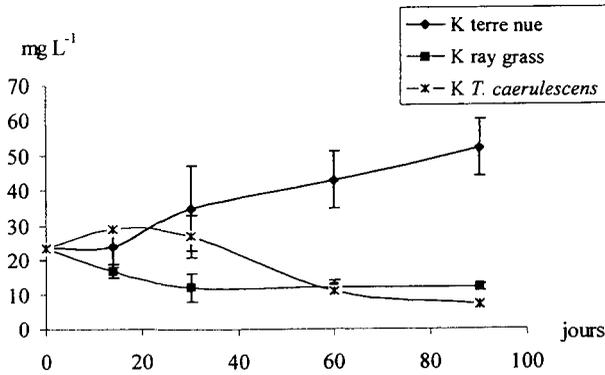


Figure 21 : Evolution de la concentration de K dans la solution de la terre S5, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

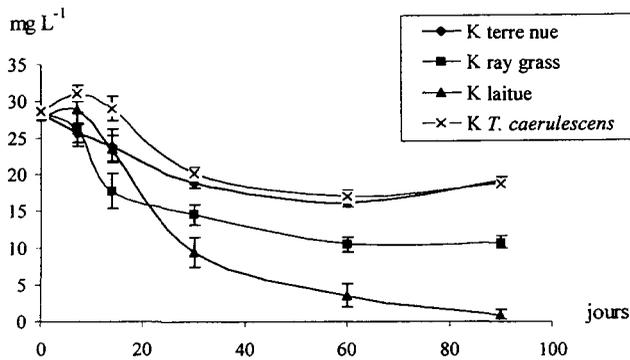


Figure 22 : Evolution de la concentration du K dans la solution de la terre S4, en milieu cultivé ou non. Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

II.3.4. Conclusion partielle

Dans le protocole expérimental suivi, la mesure de la valeur E ($1/\text{CI}_S$) dans la solution des terres étudiées n'est pas dépendante du temps (à partir d'une semaine suivant le marquage). Aucun effet plante sur cette valeur CI_S n'a été mis en évidence, alors qu'il y avait des différences significatives entre les CI_P pour la terre S4. Pour expliquer les différences entre CI_P , un effet rhizosphérique est probable, mais non décelé en milieu cultivé par les échantillonneurs de solution du sol SMS. Les végétaux ont eu un effet souvent significatif sur

les concentrations des cations en solution. Pour la terre S5, le ray grass et la laitue ont entraîné une diminution des concentrations par rapport à la terre nue. Pour la terre S4, il y a eu en général une augmentation des concentrations en solution, en particulier dans le cas de la laitue. Les résultats observés ont permis d'émettre des hypothèses quant à une modification de la rhizosphère de la laitue pour la terre carbonatée, expliquant l'augmentation des quantités phytodisponibles de Cd dans ce cas.

III. Conclusion

Pour la terre à tendance acide, le ray grass et *T. caerulescens* ont accès à un même compartiment de Cd dans le sol, et ce compartiment correspond strictement à la fraction de Cd^{2+} isotopiquement échangeable (mesurée dans la solution de la terre sans plante, à un temps équivalent à celui de la culture). Pour les terres carbonatées, seul le ray grass a accès à ces quantités. La laitue et *T. caerulescens* ont accès à une fraction plus grande, et ont mobilisé du Cd^{2+} qui n'était pas isotopiquement échangeable à l'origine. Cette fraction représente de 16 à 31 % du Cd phytodisponible pour *T. caerulescens*, et de 16 à 52 % du Cd assimilable par la laitue. Le suivi de la concentration de cations en solution a permis d'émettre des hypothèses pour expliquer ce phénomène.

Le prélèvement de la solution du sol avec un échantillonneur SMS a donné une mesure de la valeur E dans les terres étudiées et permet, dans certains cas, de mesurer précisément les quantités de Cd phytodisponible. Cependant, cette méthode ne donne pas d'indication sur l'évolution des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable en fonction du temps. Afin de comprendre les mécanismes responsables des différences entre les CI_p de la laitue et de *T. caerulescens* par rapport à celle du ray grass, il serait intéressant de suivre d'autres paramètres dans la solution des terres cultivées, par exemple les acides organiques et les anions, et le pH dans le cas de la terre S5.

Dans le chapitre suivant, la valeur $E(t)$, fonction du temps d'échange entre Cd^{2+} et $^{109}Cd^{2+}$, est déterminée par la réalisation de cinétiques d'échange isotopique.

Chapitre 5 : Etude dynamique du Cd^{2+} isotopiquement échangeable

Des plantes ayant des comportements variés par rapport à l'absorption de Cd^{2+} ont accès à un même compartiment de Cd^{2+} phytodisponible dans une terre polluée à tendance acide. Il a été montré dans le chapitre précédent que ce compartiment était celui du Cd^{2+} isotopiquement échangeable, mesuré dans la terre sans plante par prélèvement direct de la solution du sol. Pour les terres carbonatées, seul le ray grass a accès strictement au Cd^{2+} isotopiquement échangeable. La laitue et l'hyperaccumulatrice de Cd et Zn *T. caerulescens* modifient la phytodisponibilité du Cd en augmentant la fraction de Cd^{2+} isotopiquement échangeable de la terre d'origine. Cet accroissement représente 16 à 52 % du total assimilable. Pour certains éléments majeurs (P, K) (Fardeau, 1981) ou traces (Ni, Zn) (Shallari, 1997 ; Echevarria *et al.*, 1998 ; Sinaj *et al.*, 1999), la méthode des cinétiques d'échange isotopique (CEI) a été utilisée pour avoir une vision dynamique des compartiments isotopiquement échangeables des éléments dans les sols ($E(t)$). Cette approche permet de visualiser, par une représentation dite « mamellaire », les compartiments échangeables en fonction du temps et permet d'estimer les quantités isotopiquement échangeables en plusieurs mois à partir de données expérimentales mesurées sur quelques minutes.

Afin d'aboutir également à la caractérisation dynamique des compartiments du Cd^{2+} isotopiquement échangeables (et dans certains cas phytodisponibles) en fonction du temps, nous avons appliqué cette approche. Des cinétiques d'échange isotopique du Cd^{2+} ont été réalisées et un modèle mathématique testé, afin d'estimer les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables en 3 mois, durée moyenne de la croissance d'un végétal cultivé.

I. Matériel et méthodes

I.1. Terres étudiées

Les terres étudiées sont S0, S1, S2, S4 et S5.

I.2. Cinétique d'échange isotopique du Cd^{2+} dans un système terre-eau

La méthode des CEI a été adaptée de Fardeau *et al.* (1991) et de Echevarria *et al.* (1998). Des modifications ont été introduites dans le protocole pour prendre en compte des spécificités du Cd^{2+} (Gérard *et al.*, 2000a). Des rapports terre-eau de 50 g de terre dans 99 mL d'eau (rapport 5 :10) pour les terres S0 à S4, et de 30 g de terre dans 99 mL d'eau (rapport 3 :10) pour la

terre S5, ont été utilisés (3 répétitions). Ces ratios ont été choisis après une étude préliminaire (Gérard *et al.*, 2000b) montrant que le rapport terre-eau le plus élevé possible était le plus à même de fournir de résultats corrects (cf. paragraphe 1.4.). Pour limiter le développement microbien, une feuille d'aluminium a été enroulée autour du flacon en polyéthylène (Nalgène, Rochester, NY) contenant la suspension, et un antiseptique, de l'Azide de sodium dans la proportion de 2 mg L^{-1} de solution, y a été ajouté. Dans le but d'atteindre l'équilibre chimique et une concentration constante de Cd^{2+} en solution, les suspensions ont été agitées 18 h. Puis un mL d'une solution de $^{109}Cd^{2+}$ a été injecté au temps t_0 dans la suspension agitée par un barreau aimanté (Annexe 1, Photographie 4). Plusieurs aliquotes de la suspension ont été prélevées avec une seringue après des temps d'échange de 1, 4, 10 minutes et 1, 8, 21 et 52 jours et filtrées immédiatement sur des filtres en nitrate de cellulose (porosité $0,025 \mu\text{m}$). La radioactivité en solution a été mesurée par γ -spectrométrie. La radioactivité totale introduite au temps t_0 a été corrigée en prenant en compte la quantité de $^{109}Cd^{2+}$ adsorbée sur la surface des flacons et le matériel de filtration. Pour cela, une solution témoin a été préparée à partir de terre séchée à l'air, mise ensuite en suspension dans de l'eau distillée (rapports 5 :10 ou 3 :10) dans des flacons de 250 mL en polyéthylène. La suspension a été agitée pendant 18 h, centrifugée à $10\,000 \text{ g}$ pendant 20 min, et filtrée sur des filtres en nitrate de cellulose (porosité $0,025 \mu\text{m}$) de manière à obtenir 99 mL de solution. Un mL de la solution source de $^{109}Cd^{2+}$ a été introduit dans cette solution (3 répétitions) et quelques mL ont été prélevés et filtrés après 1, 4, 10 et 40 minutes. La concentration de la solution en Cd^{2+} stable (C_{Cd}) a été suivie tout au long de l'expérience ainsi que la radioactivité en solution r .

Pour un temps d'échange t , la CI_S est égale à (cf. chapitre 2) ([Eq.9]) :

$$CI_S = r/R \times 1/Cd_S \quad [Eq.9]$$

Suivant le rapport terre-eau utilisé (m_{terre} est la masse de terre), la valeur de Cd_S (mg kg^{-1} terre) est ([Eq.15]) :

$$Cd_S = m_{\text{eau}}/m_{\text{terre}} \times C_{Cd} \quad [Eq.15]$$

Pour les terres S0 à S4, la quantité de Cd^{2+} en solution (C_{Cd}) a été estimée être 90 % du Cd total en solution (Cf. Chapitre 2). Pour la terre S5, la valeur de Cd total en solution a été assimilée à celle de Cd^{2+} en solution à cause du pH bas de cette terre (6,2).

Le modèle mathématique proposé pour décrire la cinétique d'échange des ions phosphate et ainsi que des ions Ni^{+} et Zn^{2+} (Fardeau, 1981, Echevarria *et al.*, 1998 ; Sinaj *et al.*, 1999) a été appliqué dans le cas du Cd^{2+} pour décrire la décroissance de r/R et avoir une représentation

des compartiments de Cd^{2+} isotopiquement échangeable en fonction du temps. L'évolution de r_t en fonction du temps dans une suspension terre-eau à l'équilibre peut être décrite par l'équation [7] (Fardeau, 1981) (cf. Chapitre 1) :

$$r_t/R = m (t + (m)^{1/m})^{-n} + R_\infty/R_0 \quad [\text{Eq.7}]$$

En faisant l'hypothèse que le ratio R_∞/R_0 , correspondant à la dilution maximale de la radioactivité dans le système, est Cd_s/Cd_T comme dans le cas des ions phosphate, on obtient le modèle suivant [Eq.16] :

$$r_t/R = m [t + (m)^{1/m}]^{-n} + Cd_s/Cd_T \quad [\text{Eq.16}]$$

Cd_T est le Cd total contenu dans 1 kg de terre. Le modèle utilise les paramètres n et m donnés par une régression non linéaire sur les 4 premières mesures (40 minutes d'échange). n est la pente de la courbe décrivant la décroissance de la radioactivité en solution, m est assimilé à r_1/R , (Fardeau *et al.*, 1991), rapport de la radioactivité restant en solution après une minute d'échange, par rapport à celle introduite au départ.

1.3 Efficacité de l'azide de sodium

Une expérience préliminaire a été réalisée avec la terre S4 pour vérifier l'effet antiseptique et l'innocuité sur les cinétiques de l'azide de sodium aux concentrations 0, 1, 2 et 4 mg L⁻¹. Une cinétique d'échange isotopique a été réalisée dans le rapport terre-eau 5 :10 (filtration 0,025 µm) avec des prélèvements à 1, 4, 10 min, 6 h, 29 h, 5 jours et 10 jours.

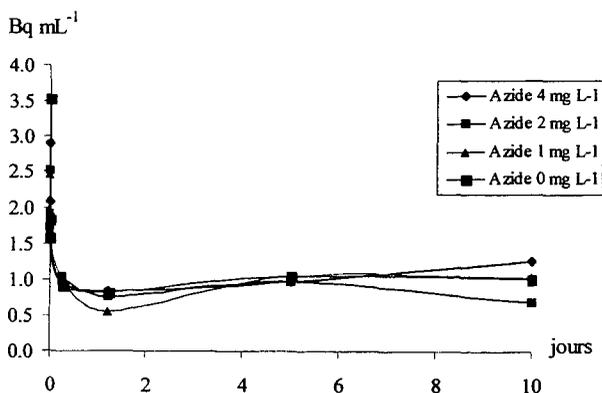


Figure 23 : Evolution de la radioactivité r_t dans la solution de la terre S4, suivant la concentration d'azide de sodium utilisée, rapport terre-eau 5 :10.

Il n'y a pas de différence significative entre le témoin (azide 0 mg L⁻¹) et des systèmes terre-eau traités par l'azide de sodium, quelle que soit la concentration utilisée (Figure 23). Ces résultats ne prouvent pas que l'azide de sodium ait été efficace vis à vis des microorganismes, mais il ne perturbe pas la cinétique d'échange. Il semble que, pendant ces 10 jours, le développement microbien n'ait pas modifié significativement la suspension puisque la valeur de r_i reste quasiment stable entre 6 h et 10 jours.

Un étalement de la suspension centrifugée sur un milieu nutritif stérile (Tryptic soy Agar) a été réalisé de façon arbitraire. Un examen visuel des colonies s'étant développées sur le milieu a montré que l'azide de sodium n'avait pas supprimé l'activité microbienne mais l'avait réduite dès 1 mg L⁻¹. L'azide de sodium a donc été employé pour limiter le développement microbien dans les systèmes terre-eau.

1.4. Influence des conditions opératoires sur les résultats des cinétiques d'échange isotopique

L'expérience de cinétiques d'échange isotopique en système terre-eau a au départ été effectuée dans des conditions arbitrairement définies (rapport terre-eau, porosité de la filtration, temps d'agitation etc.). Afin d'optimiser le protocole, l'étude de l'influence des conditions expérimentales sur les résultats des CEI a été réalisée (Gérard *et al.*, 2000b).

1.4.1. Influence du rapport terre-eau sur n , r_i/R et CI_s

Le protocole des CEI a été appliqué aux terres S0, S1, S2, S3 et S5 en faisant varier le rapport terre-eau utilisé de 1 :10 à 7 :10 suivant la nature des terres (3 à 4 répétitions). Pour chaque série, la concentration de Cd^{2+} dans les extraits de terre a été mesurée (C_{Cd}) ainsi que la radioactivité en solution après 1, 4, 10 et 40 minutes d'échange isotopique. Les mesures de CI_s ont été ensuite extrapolées pour des temps plus longs (3 mois) en appliquant le modèle mathématique utilisé pour décrire l'échange des ions phosphate (Fardeau, 1981) ou Ni^{+} (Echevarria, 1996). Les valeurs de n et r_i/R ont également été calculées en utilisant ce modèle.

Les valeurs C_{Cd} sont très faibles et proches des limites de détection par absorption atomique, en particulier pour le rapport terre-eau 1 :10 et 3 :10 dans le cas des terres carbonatées S0 et S1 (Tableau 21).

Tableau 21 : Valeurs de C_{Cd} ($\mu g L^{-1}$) et paramètres n et r_1/R pour différents rapports terre-eau, terres S0 à S5.

	Terres	rapport terre :eau			
		1:10	3:10	5:10	7:10
C_{Cd}	S0	0,06 (0,02)	0,07 (0,03)	0,11 (0,01)	0,1 (0,03)
	S1	0,8 (0,08)	2,1 (0,60)	2,5 (0,30)	2,9 (0,50)
	S2	1,2 (0,13)	3,1 (0,10)	3,7 (0,20)	4,5 (0,10)
	S3	1,9 (0,09)	3,1 (0,10)	3,8 (0,40)	4,5 (0,10)
	S5	13 (0,10)	18 (1,00)	*	*
n	S0	0,34 (0,04)	0,32 (0,02)	0,31 (0,04)	0,21 (0,04)
	S1	0,35 (0,01)	0,36 (0,04)	0,27 (0,04)	0,24 (0,11)
	S2	0,35 (0,02)	0,26 (0,05)	0,19 (0,03)	0,22 (0,03)
	S3	0,29 (0,05)	0,22 (0,03)	0,19 (0,01)	0,20 (0,08)
	S5	0,29 (0,08)	0,24 (0,09)	*	*
r_1/R $\times 10^{-3}$	S0	8,9 (0,7)	6,8 (0,2)	4,7 (0,30)	3,3 (0,2)
	S1	9,8 (0,2)	5,7 (0,6)	4,4 (0,10)	3,6 (0,2)
	S2	8,0 (0,4)	5,0 (0,5)	3,0 (0,10)	3,1 (0,3)
	S3	12 (1,4)	8,5 (0,1)	5,3 (0,02)	4,2 (0,1)
	S5	13 (3,0)	8,0 (1,0)	*	*

() intervalle de confiance au seuil de 5 %, 3 répétitions. Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible en raison du fort degré de colmatage des filtres par les particules de terre S5.

Tableau 22 : Valeurs de CI_S (3 mois) pour différents rapports terre-eau, terres S0 à S5.

Terres	rapport sol solution			
	1:10	3:10	5:10	7:10
S0	2,06 (0,27)	2,16 (0,23)	2,33 (0,27)	4,28 (1,57)
S1	0,13 (0,05)	0,12 (0,00)	0,16 (0,03)	0,19 (0,07)
S2	0,08 (0,02)	0,08 (0,00)	0,12 (0,02)	0,11 (0,01)
S3	0,07 (0,02)	0,08 (0,01)	0,09 (0,01)	0,09 (0,05)
S5	0,05 (0,00)	0,06 (0,01)	*	*

CI_S en $mg^{-1} Cd kg$ de terre. () intervalle de confiance au seuil de 5 %, 3 répétitions. Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible en raison du fort degré de colmatage des filtres par les particules de terre S5.

Le rapport terre-eau utilisé lors des CEI influence les paramètres de cinétique C_{Cd} , r_1/R et n , et les valeurs de CI_S pour les terres carbonatées S0 à S3 (Tableaux 21 et 22). C_{Cd} diminue avec

la dilution, avec des différences non significatives entre les rapports 5 :10 et 7 :10 pour les terres S0 et S1. Les paramètres n et r_1/R augmentent, avec des différences non significatives entre les rapports 5 :10 et 7 :10 dans le cas de n . CI_5 diminue avec la dilution, ce qui implique que plus la terre est diluée, plus les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable sont importantes (valeur $(E(t)=1/CI_5)$ pour une même masse de terre. Pour la terre à tendance acide S5, il n'y a pas de différence significative entre les rapports 1 :10 et 3 :10 quel que soit le paramètre étudié (sauf C_{Cd}). Les tendances observées sont cependant les mêmes que pour les terres S0 à S3. Nous rappelons que les valeurs n , r_1/R et CI_5 ont été calculées à partir du modèle mathématique développé pour les ions phosphate (Fardeau, 1981). Une mauvaise adéquation de ce modèle à la réalité peut entraîner une erreur sur la valeur de ces paramètres.

D'après des essais préliminaires, il n'y a pas d'effet de réduction de la porosité de la filtration par l'accumulation de particules de terre sur les filtres, en augmentant le rapport terre-eau. L'augmentation des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable avec la dilution, dans le cas des terres carbonatées, peut s'expliquer par une dispersion des particules de terre provoquant l'augmentation du nombre de sites d'échange accessibles au $^{109}Cd^{2+}$ introduit dans la solution. Cet effet serait masqué dans le cas de la terre S5 par les fortes quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable mises en jeu, quel que soit le rapport terre-eau utilisé. Un second facteur pouvant expliquer l'augmentation de $E(t)$ avec la dilution serait la désorption de Cd de la phase solide. Cet effet serait d'autant plus marqué que le système est dilué. Enfin, une autre hypothèse pour expliquer l'augmentation des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable avec la dilution est l'interaction d'échange avec d'autres cations comme les cations majeurs Ca, Mg et K. En effet, la force ionique de la solution, évoluant avec la dilution, pourrait modifier la répartition de Cd^{2+} entre la solution et la phase solide, ainsi qu'affecter la valeur $E(t)$.

1.4.2. Rapport terre-eau, quantités de Cd en solution et force ionique

Afin de comprendre les mécanismes responsables de la variation des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable dans les terres carbonatées en fonction de la dilution, deux phénomènes principaux ont été étudiés : la désorption de Cd de la phase solide en fonction de la dilution et l'évolution de la force ionique.

Méthode

Les quantités de Cd en solution (en mg Cd kg^{-1} terre) et d'autres cations (Ca, Mg, K, Na, Zn et Pb), ont été mesurées en fonction de la dilution pour une gamme plus large de rapport terre-eau (de 7 :10 à 1 :100). La force ionique de la solution de terre S4 a été calculée pour ces

différents rapports à partir de la mesure des cations majeurs et en traces en solution. Cette valeur a été comparée avec celle obtenue lors du prélèvement direct de la solution de la terre S4 par l'intermédiaire des échantillonneurs SMS (rapport terre-eau 1 :0,25).

Résultats

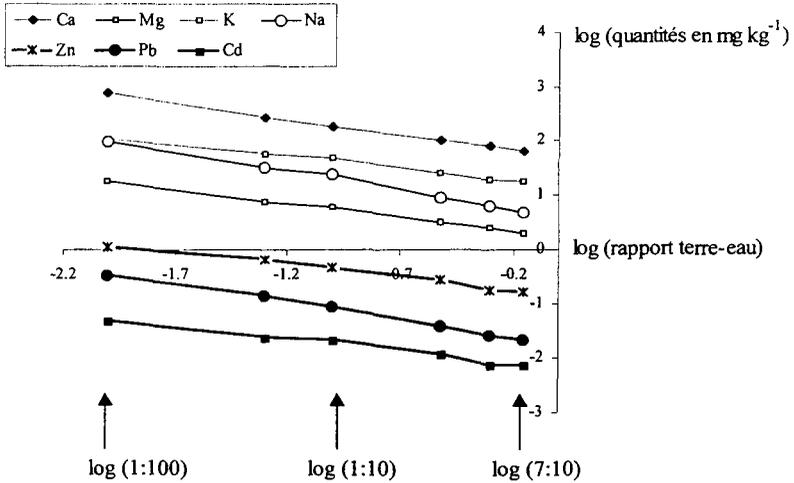


Figure 24 : Evolution des quantités de cations en solution (en $mg\ kg^{-1}$ terre), suivant la dilution, échelle logarithmique.

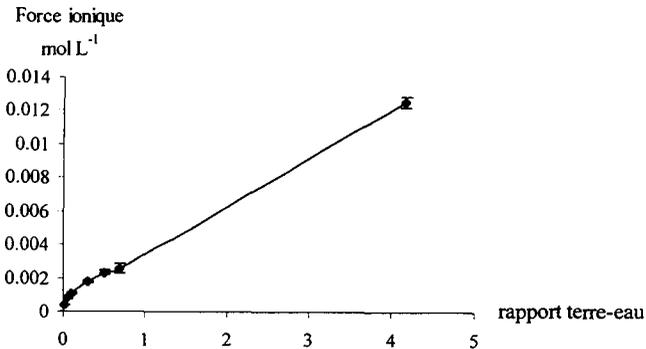


Figure 25 : Force ionique de la solution de la terre S4, suivant la dilution.

Plus le système terre-eau est dilué, plus la quantité de Cd en solution est importante pour une masse de terre donnée (Figure 24). Ceci implique que la désorption de Cd de la phase solide est plus forte lorsque le système est dilué. Ce phénomène pourrait expliquer le passage en solution de Cd de la phase solide qui n'était pas isotopiquement échangeable à l'origine, et l'augmentation de $E(t)$ avec la dilution. Cependant, la dilution d'un système terre-eau est analogue à une simple extraction à l'eau et il est peu probable que cette action puisse modifier les quantités de Cd^{2+} labile pour une masse de terre donnée.

La force ionique de la solution de la terre S4 augmente avec le rapport terre-eau (Figure 25). La valeur correspondant à la mesure dans un vase de végétation (échantillonneur SMS) est 5 fois plus élevée que pour un système terre-eau dans les proportions 7 :10 ou 5 : 10. La force ionique étant plus élevée pour un rapport terre-eau important (7 :10), les fortes quantités de Ca^{2+} en solution, par exemple, pourraient provoquer la mise en solution de Cd^{2+} , d'avantage que pour un système dilué (1 :10). Ceci irait dans le sens d'une diminution de $E(t)$ avec la dilution mais serait en contradiction avec les résultats observés. La représentation de l'évolution relative des cations en solution, en fonction de la dilution en échelle logarithmique (Figure 24), montre que la proportion de chaque cation par rapport aux autres reste constante avec la dilution (courbes quasi-homothétiques).

Le facteur explicatif de l'augmentation de $E(t)$ avec la dilution pour les terres carbonatées ne serait donc ni une désorption accrue de Cd, ni la diminution de la force ionique. Le phénomène est attribué à une plus forte dispersion des particules de terre lors de la dilution. En effet, cette dispersion des agrégats conduirait à une plus grande accessibilité aux sites d'échange de la phase solide pour le $^{109}Cd^{2+}$ ajouté en solution (Gérard *et al.*, 2000b). Le phénomène passerait inaperçu pour la terre à tendance acide S5, entre les rapports terre-eau 1 :10 et 3 :10, à cause des fortes quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable présentes dans cette terre. Une augmentation des valeurs $E(t)$ avec la dilution a été montrée également dans le cas de Zn^{2+} (Sinaj, *et al.*, 1999) et expliquée également par une dispersion des agrégats et une augmentation des sites d'échange de la phase solide.

Le rapport terre-eau le plus élevé et techniquement réalisable (filtration) a été choisi pour les CEI afin d'approcher au mieux la solution du sol *in situ*, et en particulier avoir des concentrations de Cd^{2+} en solution ne voisinant pas les limites de détection.

II. Résultats et discussions

Des cinétiques d'échange isotopique du Cd^{2+} ont été réalisées pour les terres S0, S1, S2, S4 (rapport terre-eau 5 :10) et S5 (rapport terre-eau 3 :10), avec des prélèvements en solution jusqu'à 52 jours d'échange.

II.1. Composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution du sol

II.1.1. Cd^{2+} stable en solution

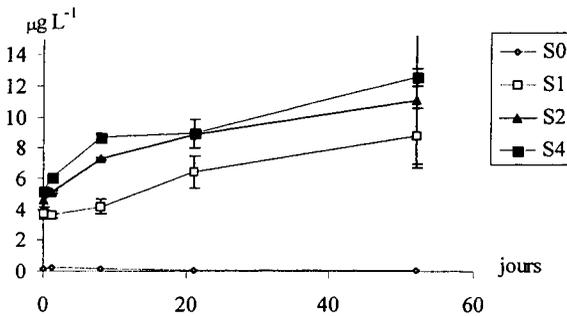


Figure 26 : Evolution de la concentration du Cd^{2+} dans la solution de suspensions terre-eau 5:10 en agitation (S0 à S4). Analyse de variance présentée date par date (4 répétitions).

Les concentrations du Cd^{2+} en solution sont significativement différentes entre les terres S0 ($0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ après 21 jours d'agitation), S1 ($6,5 \mu\text{g L}^{-1}$) et S2, S4 ($9 \mu\text{g L}^{-1}$) (Figure 26). Dans les terres S2 et S4 elles ne sont pas différentes à partir de 21 jours, résultat qui peut être mis en liaison entre autres avec les valeurs L équivalentes de ces deux terres dans le cas du ray grass (Tableau 17, Chapitre 3). Pour la terre S0, la concentration du Cd^{2+} en solution ne varie pas en fonction du temps. Pour les terres S1 et S2 elle est stable jusqu'à 8 jours puis elle augmente de façon significative. La concentration augmente de façon significative pour S4, quel que soit le temps considéré.

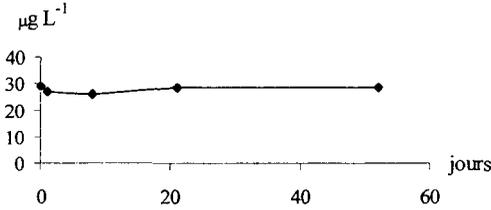


Figure 27 : Evolution de la concentration du Cd^{2+} dans la solution d'une suspension terre-eau 3 :10 en agitation (S5).

Pour la terre à tendance acide, S5, la concentration du Cd^{2+} stable en solution présente une valeur constante pendant les 52 jours d'échange isotopique (Figure 27).

L'augmentation de la concentration du Cd^{2+} stable dans la solution des terres carbonatées et une valeur constante dans la terre S5 est probablement liée soit au pH, soit à la teneur en $CdCO_3$ et $CaCO_3$, la dissolution de carbonates entraînant une mise en solution de Cd^{2+} . La dispersion des particules serait aussi plus importante lors de l'agitation pour les terres carbonatées, favorisant la mise en solution de Cd^{2+} associé à la phase solide. En effet, dans le cas des terres carbonatées, le système terre-eau a subi une évolution avec le temps d'agitation, qui s'est concrétisée au cours de l'expérience par une difficulté croissante de la filtration probablement due à une plus grande dispersion des particules de terres. Cet artefact réduit la portée des données acquises après 21 jours et en particulier celles correspondant à 52 jours.

Le calcul de la valeur CI_S en fonction du temps a été effectué à chaque date de prélèvement, avec chaque nouvelle valeur du Cd^{2+} stable en solution.

II.1.2. Radioactivité en solution

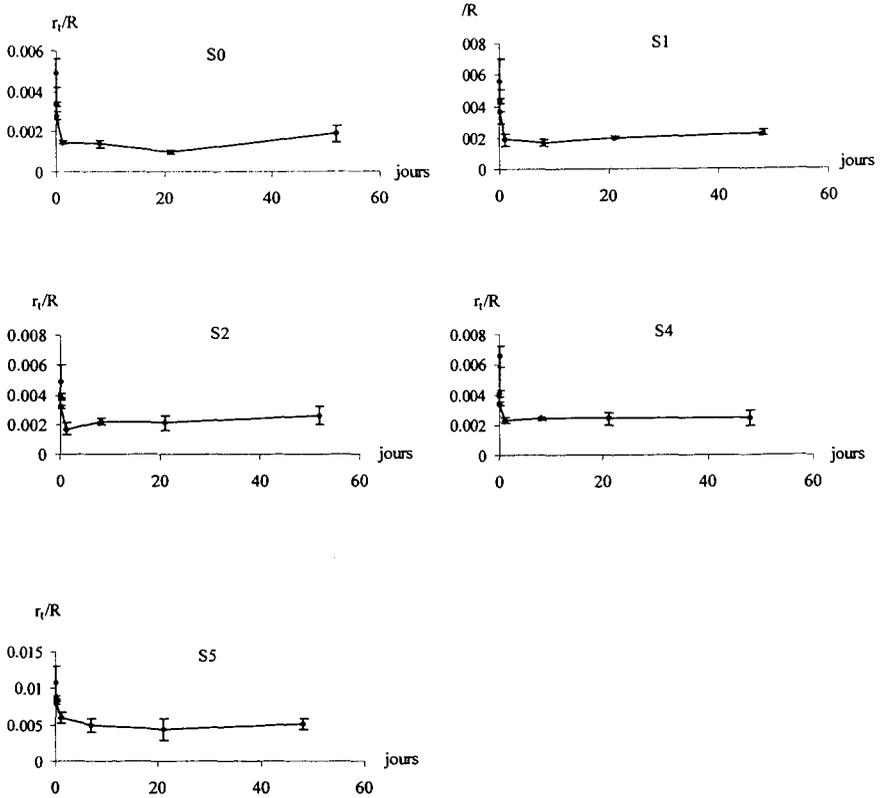


Figure 28 : Evolution de la radioactivité en solution en système terre-eau 5 :10 (S0, S1, S2, S4) et 3 :10 (S5).

La radioactivité en solution décroît rapidement durant les premières minutes d'échange, puis se stabilise (Figure 28). Le paramètre r_t/R est statistiquement stable entre 24 h et 21 jours pour toutes les terres. Il est proche de 0,002 pour les terres carbonatées et de 0,005 pour la terre à tendance acide S5. Ces valeurs très faibles indiquent que l'isotope a pratiquement entièrement quitté la solution, et que le Cd de la phase solide est très isotopiquement échangeable.

Tableau 23 : Valeurs r_f/R de la cinétique d'échange isotopique dans un système terre-eau 5 :10 (S0 à S4) et 3 :10 (S5).

Terre	r_f/R
S0	0,0049 (0,0007)
S1	0,0056 (0,0014)
S2	0,0049 (0,0011)
S4	0,0066 (0,0007)
S5	0,011 (0,0022)

() intervalle de confiance au seuil de %, 3 répétitions.

La valeur r_f/R est très faible pour les terres étudiées, mais comparables à des valeurs observés dans le cas de Ni^+ (Echevarria *et al.*, 1998) ou du Zn^{2+} (Sinaj *et al.*, 1999). L'inverse, le facteur capacité $1/(r_f/R)$, informe sur la capacité de la terre à maintenir constante la quantité de Cd^{2+} échangeable en solution (Fardeau, 1993). Cette capacité, analogue à un pouvoir tampon, est très forte pour les terres étudiées, en particulier les terres carbonatées. Ceci implique qu'une modification de la concentration de Cd^{2+} dans la solution de ces terres serait très rapidement tamponnée par un réapprovisionnement de Cd^{2+} de la phase solide.

En conclusion, la cinétique comporterait 2 phases. La première, quasi-instantanée, illustrerait l'échange du $^{109}Cd^{2+}$ avec les ions de surface de la phase solide. La seconde phase concernerait des ions Cd^{2+} plus intimement liés aux constituants du sol. Cet échange est beaucoup plus lent que le premier.

II.1.3. Compositions isotopiques du Cd^{2+} en solution

La valeur de CI_S a été calculée à partir des mesures en solution jusqu'à 52 jours. Elle permet de prendre en compte à la fois l'évolution de la radioactivité en solution, r_f/R , en fonction du temps mais aussi celle du Cd^{2+} stable (C_{Cd}).

L'évolution de CI_S en fonction du temps dans les terres étudiées peut être découpée en deux phases (Figure 29). Globalement, la composition isotopique du Cd^{2+} en solution décroît d'un facteur 10 lors des premières minutes d'échange puis elle diminue faiblement. Dans le détail, pour la terre S0, CI_S est constante entre 24 h et 21 jours mais on observe une remontée de cette valeur au bout de 52 jours d'échange (artefact possible lors de la dernière mesure). La valeur de CI_S ne diminue plus de façon significative à partir de 24 h d'échange pour les terres S1 et S2. Elle est statistiquement constante dans la solution de S5 dès 4 min d'échange.

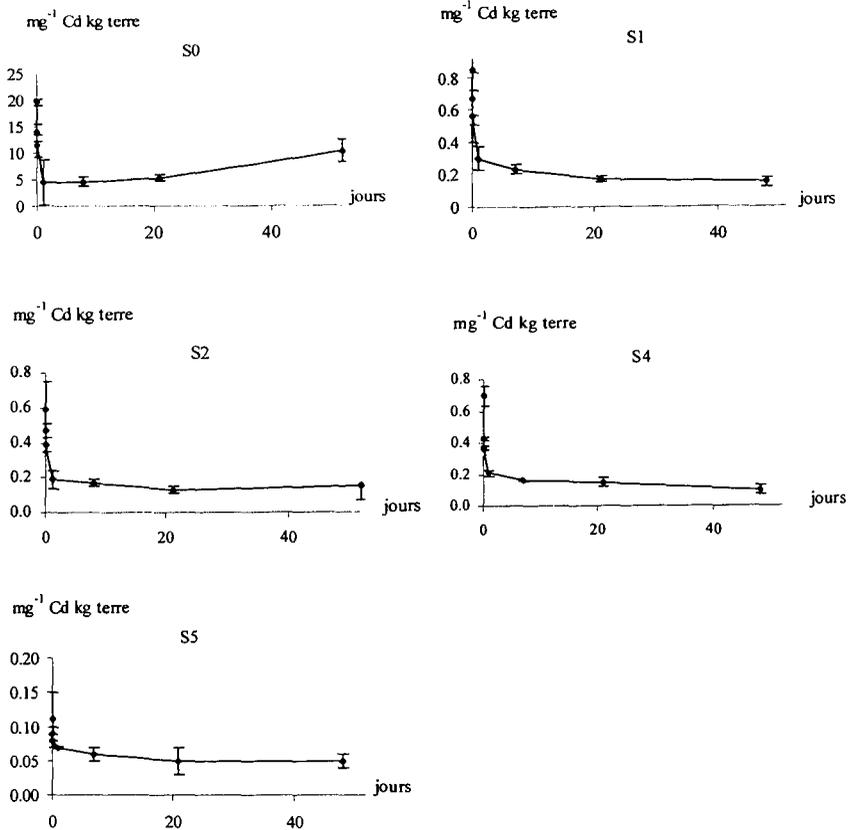


Figure 29 : Evolution de la CI_S en fonction du temps dans des systèmes terre-eau 5 :10 (S0, S1, S2, S4) et 3 :10 (S5).

La valeur CI_S de Cd^{2+} est plus faible pour la terre à tendance acide S5 (0,05 mg^{-1} Cd kg terre) que pour les terres carbonatées polluées (0,15 mg^{-1} Cd kg terre) et non polluée S0 (5,4 mg^{-1} Cd kg terre à 21 jours). Ceci est le reflet de quantités isotopiquement échangeables décroissantes (de S5 à S0).

II.1.4. Quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable en fonction du temps

La composition isotopique du Cd^{2+} en solution permet de calculer la valeur $E(t)$, c'est à dire la quantité de Cd^{2+} isotopiquement échangeable en un temps t ([Eq.17]).

$$E(t) = 1/Cl_s = Cd_s/(r_t/R) \quad [Eq.17]$$

La quantité d'ions Cd^{2+} de la solution du sol et de la phase solide capables de rejoindre la solution du sol quasi-instantanément (en 1 minute) est représentée par $E(0-1 \text{ min})$ ([Eq.18]).

$$E(0-1 \text{ min}) = Cd_s/(r_t/R) \quad [Eq.18]$$

Tableau 24 : Valeurs $E(0-1 \text{ min})$ mesurées pour des systèmes terre-eau 5 :10 (S0, S1, S2, S4) et 3 :10 (S5).

Terre	$E(0-1 \text{ min})$	$E(0-1 \text{ min})$
	mg Cd kg^{-1} terre	en % du Cd total
S0	0,05 (0,001)	7,9
S1	1,24 (0,43)	13,9
S2	1,76 (0,47)	11,7
S4	1,43 (0,12)	7,6
S5	9,30 (3,3)	45,8

() intervalle de confiance au seuil de 5 % (3 répétitions).

$E(0-1 \text{ min})$ augmente avec la quantité de Cd total dans les terres carbonatées de 0,05 à 1,76 mg Cd kg^{-1} , avec une inversion entre les terres S2 et S4 (Tableau 24). La terre S2 offre à nouveau un comportement particulier. En % du Cd total, la fraction échangeable en 1 min diminue avec l'augmentation du Cd total dans les terres S1 à S4 et est de l'ordre de 10 %. Pour la terre S5, les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables en 1 minute sont beaucoup plus importantes, 9,3 mg Cd kg^{-1} soit 46 % du Cd total.

Tableau 25 : Valeurs $E(0-24 \text{ h})$ et $E(0-21 \text{ j})$ mesurées pour des systèmes terre-eau 5 :10 (S0, S1, S2, S4) et 3 :10 (S5).

Terre	$E(0-24 \text{ h})$	en % du	$E(0-21 \text{ j})$	en % du
	mg Cd kg^{-1} terre	Cd total du sol		mg Cd kg^{-1} terre
S0	0,33 (0,25)	52	0,19 (0,03)	30
S1	3,47 (0,79)	39	5,90 (0,60)	66
S2	5,56 (1,62)	37	8,01(1,37)	53
S4	4,76 (0,45)	25	7,04 (1,48)	38
S5	14,83 (0,42)	73	17,73 (2,06)	87

() intervalle de confiance au seuil de 5% (3 répétitions).

D'après la cinétique en système terre-eau, 25 à 52 % du Cd total des terres carbonatées est isotopiquement échangeable en 24 h, et 30 à 66 % en 21 jours (Tableau 25). C'est dans la terre S1 que l'on retrouve la plus grande fraction de Cd isotopiquement échangeable en 21 j. Cette proportion décroît ensuite en fonction du contenu en Cd total, de S1 à S4. Plus la terre est polluée par les poussières industrielles, plus la proportion du Cd labile est faible, de la même manière que les valeurs L du ray grass pour ces terres (Tableau 17, chapitre 3). Pour la terre S5, les valeurs sont plus élevées, 73 % du Cd total est isotopiquement échangeable en 24 h, et 87 % en 21 jours.

En conclusion, à l'image des valeurs E élevées obtenues récemment pour le Cd dans des terres polluées de pH inférieur à 7 (Smolders *et al.*, 1999), la majeure partie du Cd de la terre à tendance acide est très rapidement isotopiquement échangeable. Dans le cas des terres carbonatées, une part du Cd est rapidement échangeable (25 à 52 % en 24 h) et une grande part est échangeable plus lentement (34 à 70 % pour des temps supérieurs à 21 jours).

II.2. Modélisation de la cinétique d'échange isotopique des ions Cd^{2+}

II.2.1. Utilisation d'un modèle mathématique préexistant

Afin de décrire plus précisément les phases de la cinétique d'échange du $^{109}Cd^{2+}$ dans le système terre-eau et d'estimer la CI_S pour des temps longs, 1 ou 3 mois par exemple, une modélisation de la cinétique d'échange a été réalisée. Le modèle mathématique utilisé est celui élaboré pour les ions phosphate (Fardeau, 1981), utilisé également pour décrire la cinétique d'échange de Ni^{+} (Echevarria, 1996 ; Echevarria *et al.*, 1998) et Zn^{2+} (Sinaj *et al.*, 1999).

Les valeurs r_t/R mesurées en solution ont été comparées pour les 8 premiers jours de l'échange (C_{Ca} constante sauf pour S4 où elle augmente légèrement) avec les valeurs calculées en utilisant le modèle mathématique.

Si le modèle décrit les premières minutes de l'échange, il ne permet pas de prédire les quantités échangeable entre 24 h et 8 jours, sauf dans le cas de la terre S5 (Figure 30).

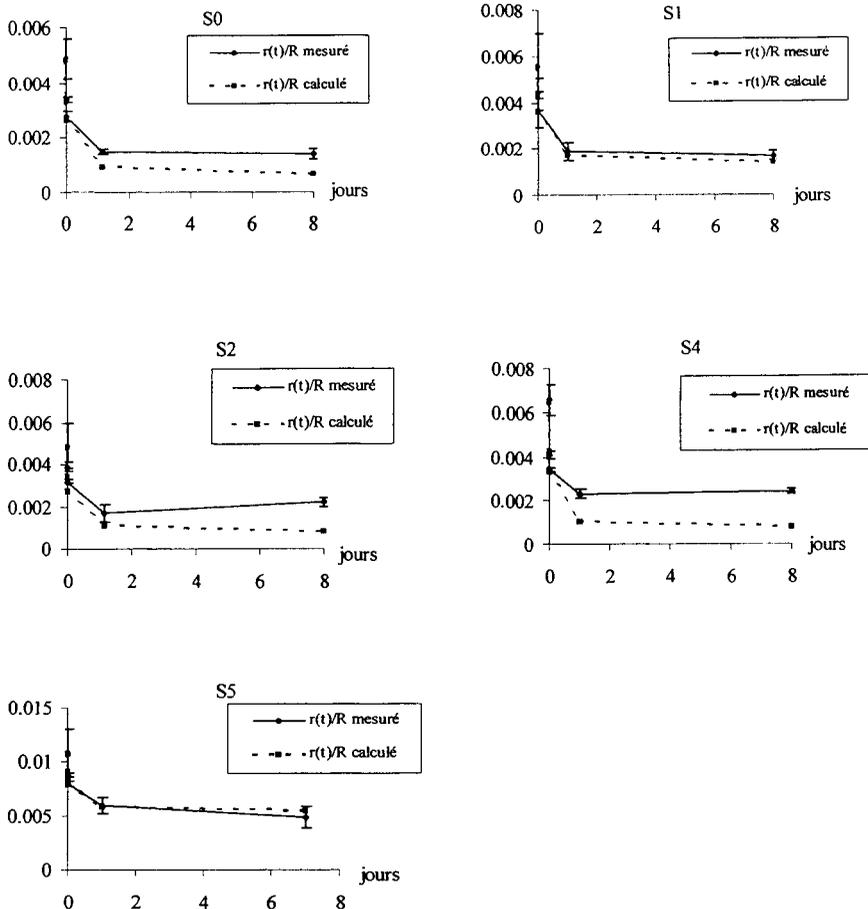


Figure 30 : Comparaison des valeurs r_t/R mesurées dans la solution des systèmes terre-eau à celles calculées par le modèle mathématique.

La différence entre le modèle et la réalité est faible pour la terre S1 mais significative. Ce modèle repose en effet sur deux hypothèses nécessaires à son utilisation :

1. le Cd^{2+} stable en solution doit être constant durant toute la cinétique
2. pour des temps infinis, les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable doivent correspondre au Cd total du sol.

L'augmentation de la concentration du Cd^{2+} en solution pour les terres carbonatées à partir de 8 jours ne devrait pas être la raison du décalage entre la mesure et le modèle (sauf peut être dans le cas de S4), puisque la comparaison des valeurs mesurées aux valeurs calculées n'a été faite que pour cette période. Par contre, le décalage des 2 courbes montre que l'hypothèse, que le Cd total est, pour des temps infinis, la fraction où se dilue l'ensemble du $^{109}Cd^{2+}$, n'est pas vérifiée.

II.2.2. Ajustement du modèle mathématique pour les terres carbonatées

Afin d'évaluer la valeur réelle du Cd^{2+} isotopiquement échangeable pour des temps infinis pour les terres carbonatées, le modèle a été ajusté pour les 8 premiers jours de mesure en introduisant dans l'équation [16] de nouvelles valeurs du Cd^{2+} isotopiquement échangeable à l'infini, Cd_{∞} , de manière à obtenir la meilleure adéquation possible avec la réalité (Tableau 26).

Tableau 26 : Valeurs de Cd^{2+} isotopiquement échangeable pour des temps infinis, introduite dans l'équation 16, en % du Cd total du sol.

Terre	Cd ²⁺ isotopiquement échangeable à l'infini
	en % de Cd _T
S0	40 %
S1	79 %
S2	50 %
S4	30 %
S5	100 %

Pour les terres S1 à S4, la part du Cd^{2+} isotopiquement échangeable diminue pour des temps infinis avec l'augmentation de la teneur du Cd total des terres, comme pour les valeurs E(0-21 jours) et L du ray grass. Pour la terre S0, la différence de comportement s'explique peut être par une erreur due aux difficultés analytiques lors de la mesure du Cd dans la solution du sol.

On obtient par ce réajustement une estimation des valeurs de r_t/R (sur 8 jours) pour les terres carbonatées S0 à S4 (Figure 31).

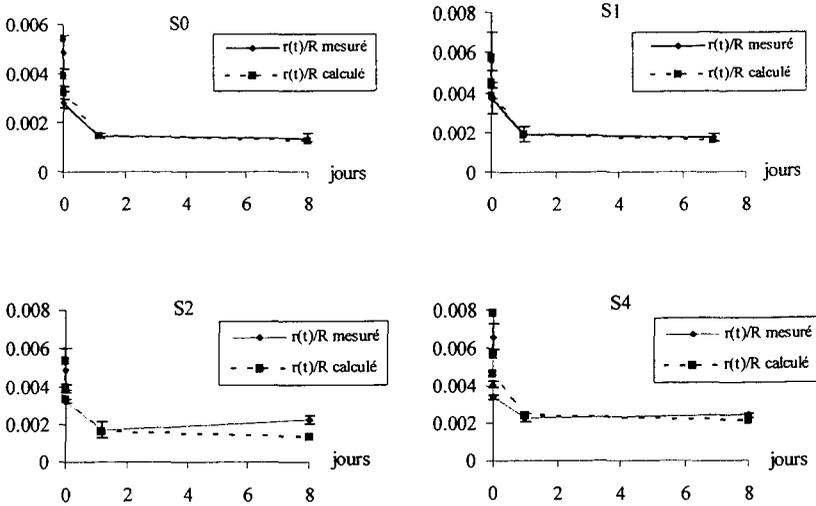


Figure 31 : Comparaison des valeurs r_t/R mesurées en solution à celles calculées par le modèle mathématique, après ajustement du Cd^{2+} isotopiquement échangeable pour des temps infinis.

Le modèle ajusté permet d'estimer, pour les 8 jours d'échange considéré, une valeur r_t/R égale à la valeur mesurée en solution. Pour la terre S2, l'écart sur la dernière mesure est due à une légère augmentation de C_{Cd} en solution à 8 jours, induisant une augmentation de r_t et par conséquent de r_t/R .

II.2.3. Quantités de Cd peu ou non isotopiquement échangeable

La quantité de Cd^{2+} isotopiquement échangeable pour des temps infinis est donc inférieure au Cd total pour les terres carbonatées, et comprise entre 30 à 79 % de cette valeur. La quantité diluable pour des temps infinis serait de 100 % pour la terre S5, ce qui explique l'adéquation entre le modèle mathématique préexistant et la réalité dans ce cas. Pour les terres carbonatées, la part du Cd^{2+} isotopiquement échangeable après 21 jours $E(>21 \text{ jours})$ a été comparée à celle du Cd non échangeable.

Tableau 27 : Valeurs E(>21 jours) et valeurs de Cd non isotopiquement échangeable.

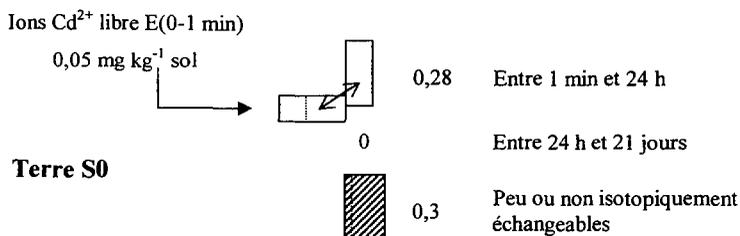
Terre	E(>21 jours)	Cd non isotopiquement échangeable
S0	70 %	60 %
S1	34 %	21 %
S2	47 %	50 %
S4	62 %	70 %
S5	13 %	0 %

Les quantités de Cd isotopiquement échangeable après 21 jours sont comprises entre 13 et 70 %, du Cd total, et les quantités non échangeables s'échelonnaient entre 0 à 70 % du Cd total (Tableau 27). La valeur E(>21 jours) est proche en % de celle de Cd non isotopiquement échangeable, surtout pour la terre S2. Ainsi E(>21 jours) ne correspond pas majoritairement à des formes lentement isotopiquement échangeables, mais plutôt à des formes qui sont non échangeables. La fraction de Cd^{2+} isotopiquement échangeable entre 21 jours et des temps infinis représenterait d'environ 10 % du Cd total des terres, sauf pour la terre S2 où après 21 jours d'échange isotopique, aucune forme de Cd ne serait plus isotopiquement échangeable.

II.2.4. Représentation dynamique des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable

Les compartiments échangeables de Cd^{2+} ont été représentés en fonction du temps comme dans le cas des ions phosphate (Fardeau, 1991) ou de Ni^{+} (Echevarria, 1996 ; Shallari, 1997) et Zn^{2+} (Sinaj *et al.*, 1999) (Figure 32). Les compartiments ont été défini pour les temps d'échange suivant :

- 0-1 min : compartiment analogue à celui des ions phosphate échangeable en 1 min (Cd^{2+} de la solution et de la phase solide ayant des propriétés cinétiques identiques)
- 1 min-24 h et 24 h-21 jours : compartiments découpant la période maximale d'échange isotopique du Cd^{2+} dans les terres étudiées
- après 21 jours, soit en général des formes peu ou non échangeables.



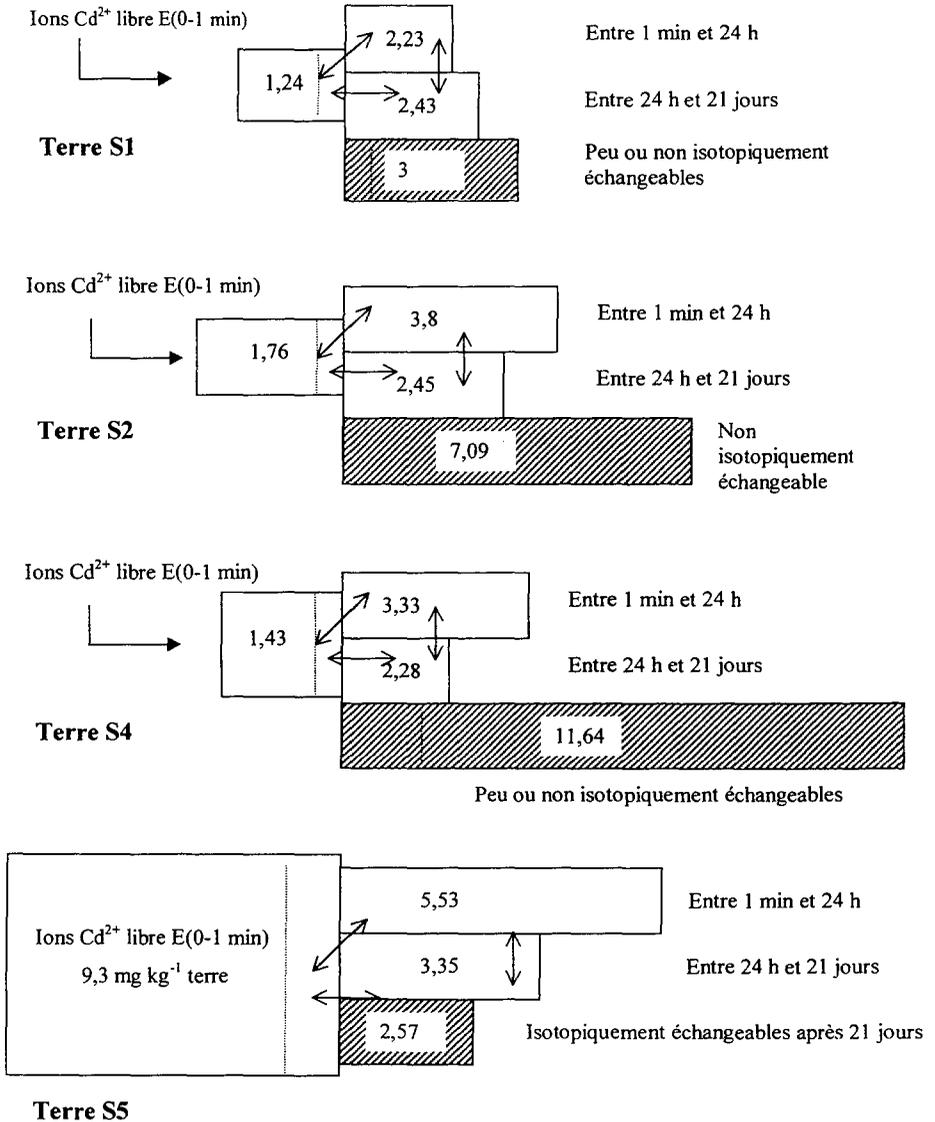


Figure 32 : Représentation schématique du Cd^{2+} isotopiquement échangeable à l'aide de modèle compartimental. Les quantités sont exprimées en $mg\ Cd\ kg^{-1}$ terre.

La pollution de Cd des terres carbonatées par les poussières industrielles a augmenté fortement les quantités échangeables dans chaque compartiment. La distribution relative, contrairement à ce qui a été montré pour Zn^{2+} (Sinaj *et al.*, 1999) n'est pas conservée puisque la proportion de E(>21 jours) augmente avec la teneur totale en Cd des terres.

Le choix du temps 24 h pour compartimenter le Cd^{2+} isotopiquement échangeable est discutable puisque celui-ci a été choisi dans le cas du phosphate car il correspondait à la période pour laquelle la racine absorbait l'élément de manière active. Dans le cas du Cd, il semble que l'importance des processus actifs et passifs dépendent des concentrations de Cd dans les milieux (Cataldo *et al.*, 1981). Plus il y a de Cd, moins la part active est importante.

II.2.5. Conclusions sur la labilité de Cd^{2+} dans les sols

De la cinétique d'échange isotopique réalisée on peut conclure que la majorité du Cd est échangeable rapidement dans les terres S1, S2 et S5 (66 %, 53 % et 87 % échangeable en 21 jours). La proportion des quantités échangeables en 21 jours est moins importante dans les terres S0 et S4 où 60 à 70 % du Cd ne serait pas isotopiquement échangeable. Pour Zn et Ni, il a été montré que même pour des terres à tendance acide, 74 à 97 % des quantités totales étaient peu ou non échangeables (Echevarria *et al.*, 2000 ; Sinaj *et al.*, 1999). Ceci a été attribué dans le cas de Zn au fait que l'élément était très fortement adsorbé sur les particules de terre (Sinaj *et al.*, 1999). Le Cd est plus labile que Zn ou Ni, même dans le cas de terres carbonatées, et sa labilité est extrêmement forte dans le cas d'une terre polluée à tendance acide. Les quantités de Cd^{2+} assimilable de façon quasi-instantanée sont équivalentes à celle trouvées pour Zn dans le cas de terres polluées ou non et de pH équivalents aux nôtres (Sinaj *et al.*, 1999).

La présence de Zn en quantités importantes dans les terres a sans doute une influence sur les quantités labiles de Cd^{2+} . Le rapport Zn/Cd est plus important pour la terre S5 (160) que pour les terres S1 à S4 (entre 58 et 75). La concentration de Zn^{2+} dans la solution de la terre S5 est également 700 fois supérieure à celle de la terre S4 (chapitre 4). Les fortes concentrations de Zn en solution pourraient entraîner une mise en solution de Cd associé à la phase solide. Ceci expliquerait, en plus du pH, la très forte labilité de Zn pour la terre S5.

Dans les terres S0 à S4, une fraction du Cd total (moyenne de 50 %) est non isotopiquement échangeable. La question se pose de savoir quelles pourraient être ces formes de Cd, pour ces terres carbonatées et polluées par des retombées atmosphériques industrielles. Pour le P, il a été montré que 95 % des ions phosphate les plus cristallisés étaient très lentement échangeables (5% échangeable quasi-immédiatement). Dans les sols, la forme non

échangeable serait du phosphore constitutif des phytates et inclus dans la matière organique, ainsi que dans des systèmes cristallins de type apatitique (phosphate de calcium naturel). Pour ce qui est du Cd, son origine dans les terres étudiées est majoritairement industrielle et atmosphérique. Le Cd pourrait être pour partie dans une matière inerte et vitrifiée (poussières atmosphériques rejetées par les fonderies de Zn) et pourrait y être quasiment non isotopiquement échangeable (sauf peut être en surface). Seul le Cd constitutif du sol (géochimique ou apporté par les engrais) ou le Cd issu de l'altération de ces poussières serait isotopiquement échangeable. Ceci expliquerait la diminution de la part de Cd^{2+} isotopiquement échangeable en fonction de la pollution.

II.3. Cinétique d'échange isotopique du Cd^{2+} dans les poussières industrielles

II.3.1. Matériel

Les poussières issues de la production du Zn (Noyelles Godault) qui ont contaminé les terres S1 à S4 contiennent 0,6 % de Cd, 9 % de Pb et 39 % de Zn (Tableau 28). Ces poussières contiennent également 24 % de soufre. Elles sont issues de l'atelier de l'agglomération et du grillage des minerais de la fonderie. Il s'agit du premier atelier avant le haut fourneau et le raffinage, et c'est celui qui génère le plus d'émissions atmosphériques. Les poussières récupérées dans le filtre sont représentatives de celles rejetées dans l'atmosphère.

Tableau 28 : Caractéristiques chimiques principales des poussières ayant contaminé les terres S1 à S4.

Cd	Zn	Pb	Cu	Mn	Fe	Ca	S	Si
Total en mg kg ⁻¹ poussières								
6 100	393 750	86 250	3 050	852	0,67	0,17	237 300	0,14

II.3.2. Méthodes

La cinétique d'échange du Cd^{2+} dans ces poussières a été réalisée afin de mesurer le Cd^{2+} labile. Un système poussières-eau a été préparé dans un rapport 1 :10 à partir des poussières de la fonderie de Zn de Noyelles-Godault. Dans le but d'atteindre l'équilibre chimique et une concentration constante de Cd^{2+} en solution, les suspensions ont été agitées 24 h. Un mL d'une solution de $^{109}Cd^{2+}$ a été injecté au temps t_0 dans la suspension agitée par un barreau

aimanté. Plusieurs aliquotes de la suspension ont été prélevés avec une seringue après des temps d'échange de 1, 4, 10 et 40 minutes et filtrées immédiatement sur des filtres en nitrate de cellulose (porosité 0,025 μm). La radioactivité en solution a été mesurée par γ -spectrométrie. La radioactivité totale introduite au temps t_0 a été corrigée en prenant en compte la quantité de ^{109}Cd adsorbée sur la surface des flacons et le matériel de filtration. La concentration de la solution en Cd^{2+} stable a été mesurée tout au long de l'expérience. Elle est stable (220 $\mu g L^{-1}$).

II.3.3. Résultats et discussion

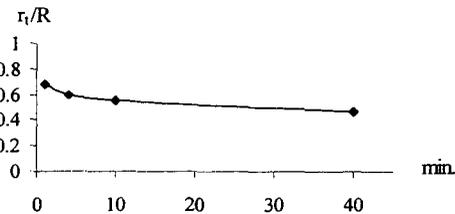


Figure 33 : Evolution de la radioactivité dans la solution d'une suspension poussières-eau 1 :10.

La radioactivité en solution décroît entre 0 et 1 minute et se stabilise rapidement à environ 50 % de la radioactivité ajoutée(Figure 33). Les valeurs r_t/R sont très élevées en comparaison de celles obtenues avec les systèmes terre-eau (0,002 pour les terres S1 à S4).

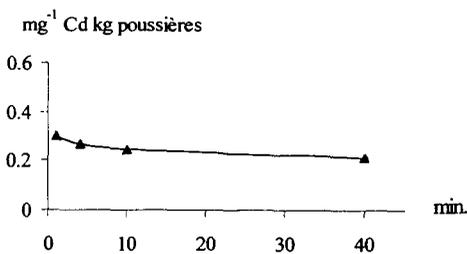


Figure 34 : Evolution de la CI_5 dans la solution d'une suspension poussières-eau 1 :10.

La composition isotopique du Cd^{2+} dans la solution de ce système est stable à partir de 4 min d'échange. Elle est de $0,21 \text{ mg}^{-1} \text{ Cd kg terre}$ (Figure 34). Cette valeur est voisine de celles trouvées pour les terres S1 à S4 mais le Cd total des poussières est largement supérieur (30 fois plus que dans la terre S4).

Tableau 29 : Valeurs E(0-1 min) et E(0-40 min) mesurées pour le système poussières-eau 1 :10.

	En mg Cd kg^{-1} poussières	En % du Cd total dans les poussières
E (0-1 min)	3,28 (0,07)	0,05 %
E(0-40 min)	4,71 (0,19)	0,08 %

() intervalle de confiance au seuil de 5 % (3 répétitions).

Les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables en 40 min dans les poussières sont extrêmement faibles (<0,1 %) (Tableau 29). Par conséquent le contamination de Cd des terres S1 à S4 par les poussières industrielles a introduit du Cd très peu labile. Le Cd est présent dans ces poussières sous forme de sulfures et de sulfates, mais la proportion mesurée étant proche des limites de détection des techniques utilisées, leur spéciation n'est pas encore connue (Sobanska, 1999). Ce résultat, conjugué au pH de 7,8 et à la présence de carbonates dans les terres, expliquerait pourquoi 21 à 70 % du Cd des terres S1 à S4 est peu ou non échangeable et pourquoi les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable diminuent avec la teneur totale des terres en Cd.

Pour la terre S5 87 % Cd est isotopiquement échangeable en 21 jours. Dans ce cas, l'origine de la pollution est différente (ratio Zn/Cd plus élevé) et il est possible que la forme chimique du Cd y soit différente également, en relation avec le type de procédé utilisé. De plus, les caractéristiques physico-chimiques de la terre, en particulier le pH de 6,2, ont pu contribuer à rendre le Cd d'origine industrielle plus labile. L'influence du sol récepteur sur la labilité d'un élément, par rapport aux caractéristiques propres de l'apport, a été prouvée pour divers éléments dont les ions phosphate ou les éléments métalliques (Fujii et Corey, 1986 ; Nakhone et Young, 1993). Les poussières industrielles de fonderie de Zn peuvent être un cas extrême de faible labilité du Cd^{2+} . Une étude complémentaire sur un autre type de pollution cadmiée (boues de station d'épuration non chaulées ayant subie une maturation aérobie) a montré que 75 % du Cd était isotopiquement échangeable en 3 mois.

En conclusion, les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeable à long terme sont réduites dans les terres carbonatées. Ceci provient de la faible labilité du Cd originellement présent

dans les poussières métallurgiques allée aux caractéristiques propres de terres S0 à S4 (pH, teneur en carbonates) à l'inverse de la terre à tendance acide S5.

II.4. Comparaison des CI_S obtenues avec les cinétiques d'échange isotopique et avec le prélèvement direct de solution du sol

Le suivi de la cinétique d'échange isotopique du Cd^{2+} dans les terres étudiées a permis d'obtenir une représentation dynamique des compartiments isotopiquement échangeables. Les valeurs de CI_S mesurées dans un système terre-eau dilué (CEI) sont-elles identiques à celle données par les échantillonneurs SMS en vase de végétation?

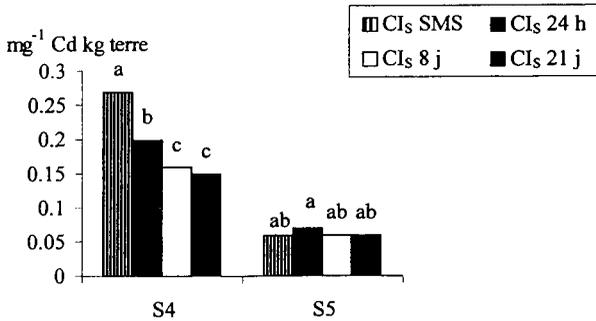


Figure 35 : Valeurs de CI_S mesurées dans la solution des terres S4 et S5 par les échantillonneurs SMS comparées aux CI_S mesurées par les cinétiques d'échange isotopique à 24 h, 8 jours, 21 jours. Pour une même terre, les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions).

Les valeurs de CI_S à 24 h, 8 jours et 21 jours ont été choisies *a posteriori*, au vu des résultats, pour être comparées à celles fournies, pour 3 mois de culture des végétaux, par les échantillonneurs. En effet, les valeurs données par les cinétiques étaient déjà, à ces temps d'échange, égales ou inférieures aux celles données par les échantillonneurs.

Pour la terre à tendance acide S5, les mesures directes de CI_S en solution ou par la méthode des CEI sont identiques (Figure 35). Il a été montré dans les essais préliminaires (cf. paragraphe 1.4) que, pour la terre à tendance acide S5, les résultats étaient peu dépendants du rapport terre-eau choisi, ceci sans doute à cause de la forte labilité de Cd dans cette terre (87 % isotopiquement échangeable en 21 jours).

Pour la terre carbonatée S4, les CEI sous-estiment la valeur de CI_S donnée par les échantillonneurs SMS. Plus le temps d'échange isotopique choisi pour les CEI est long, plus les différences sont marquées entre les deux types de mesure. Après 3 mois d'échange, l'écart serait sans doute encore plus important. Dans le cas de la terre S4, cette surestimation de la valeur $E (1/CI_S)$ par les CEI est attribuée à la différence de rapport terre-eau en vase de végétation (environ 1 :0,25) et le système terre-eau utilisé pour les CEI (5 :10). En effet, les quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables augmentent avec la dilution (cf. paragraphe 1.4.), en raison d'une plus grande accessibilité des sites d'échange du Cd de la phase solide (Sinaj, *et al.*, 1999, Gérard *et al.*, 2000b).

II.5. Comparaison des CI_S obtenues avec les cinétiques d'échange isotopique avec les CI_P du Cd dans les plantes

Les valeurs de CI_S mesurées par les échantillonneurs SMS ont été comparées dans le chapitre 4 aux CI_P , montrant que cette mesure permettait le calcul de la quantité de Cd phytodisponible pour des plantes à prélèvements variés (terre acide S5) et pour le ray grass (terres carbonatées). Les valeurs de CI_P ont été comparées aux valeurs de CI_S données par les cinétiques d'échange isotopique, cette méthode étant plus rapide que l'utilisation des échantillonneurs SMS.

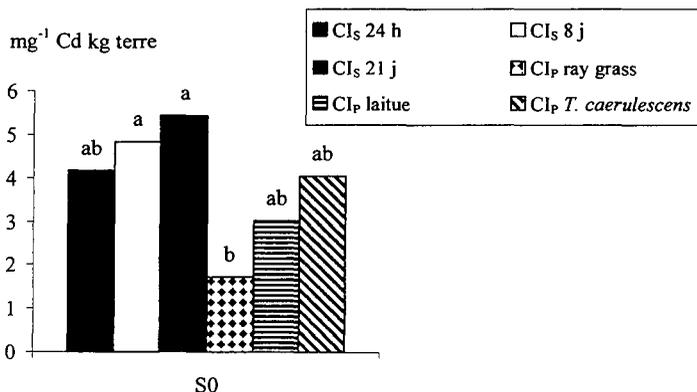


Figure 36 : Valeurs de CI_S mesurées par la méthode des cinétiques d'échange isotopique à 24 h, 8 jours, 21 jours, comparées aux CI_P 3 mois, pour la terre S0. Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions).

Pour la terre S0, les valeurs de CI_S , mesurées entre 24 h et 21 jours lors des CEI, donnent une juste estimation des valeurs de CI_P pour la laitue et *T. caerulescens* (Figure 36). Pour le ray grass, la valeur de CI_P perturbée par des difficultés analytiques lors de la mesure du Cd dans les minéralisats végétaux ne permet pas une comparaison correcte.

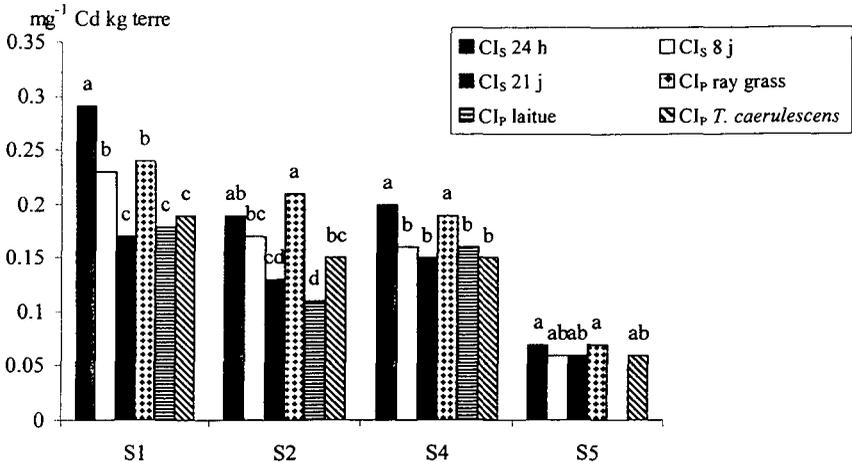


Figure 37 : CI_S mesurées par la méthode des cinétiques d'échange isotopique à 24 h, 8 jours, 21 jours comparées aux CI_P 3 mois, pour les terres S1, S2, S4 et S5. Pour une même terre, les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions).

Pour la terre à tendance acide, les CI_P (pour 3 mois de culture) du ray grass et de *T. caerulescens* sont correctement estimées par les CI_S mesurées entre 24 h et 21 jours d'échange isotopique (Figure 37). Les valeurs L (chapitre 3), E obtenues par les échantillonneurs SMS (chapitre 4) et E(0-21 jours) obtenues par les CEI, sont donc identiques.

Pour les terres carbonatées S1 à S4 la précision des estimations fluctuent. La CI_P du Cd dans le ray grass (3 mois) est identique à la valeur de CI_S à 24 h, sauf pour la terre S1 (8 jours), alors que la CI_P pour la laitue et de *T. caerulescens* est prédite par la CI_S à 21 jours. Les valeurs E(t) des cinétiques (entre 24 h et 21 jours) surestiment les valeurs E données par les échantillonneurs SMS, mais, suivant le temps d'échange considéré, elles sont statistiquement égales aux valeurs L. Les valeurs CI_P après 3 mois de culture présentent des différences marquées avec les CI_S 3 mois estimées par le modèle mathématique ajusté.

En conclusion, la méthode des CEI permet, dans la plupart des cas mais pour des temps d'échange variés, une estimation correcte du Cd phytodisponible dans les sols.

III. Conclusion

Dans le cas de Ni^{+} (Echevarria *et al.*, 1998) et de Zn^{2+} (Sinaj *et al.*, 1999) la cinétique d'échange isotopique suit le modèle classique proposé à propos de l'étude du phosphore assimilable (Fardeau, 1981). Nous avons montré que pour le Cd^{2+} la cinétique d'échange est différente et nous avons été amenés à introduire une modification du modèle initial. En effet, dans le cas des terres carbonatées, le Cd semble se distribuer en deux ensembles de compartiments distincts, l'un correspondant au Cd isotopiquement échangeable (30 à 66 % du Cd total en 21 jours) et l'autre à du Cd non ou peu échangeable (34 à 70 %). Le compartiment non échangeable est probablement dû à la forme de la pollution introduite ainsi qu'au pH élevé de ces terres et à leur teneur en carbonates. En effet, nous avons montré que, dans les poussières industrielles, le Cd était présent sous des formes très peu labiles mais encore non identifiées. Une terre carbonatée, un pH élevé et une pollution par des poussières industrielles où le Cd est extrêmement peu labile, sont sans doute les conditions les plus propices à des quantités réduites de Cd^{2+} isotopiquement échangeable. Le Cd apparaît en général plus labile que le Ni ou le Zn, en particulier dans la terre à tendance acide, où 87 % du Cd est isotopiquement échangeable en 21 jours, en relation avec le pH, les fortes teneurs de Zn par rapport à Cd, et peut être l'origine différente de la contamination de la terre.

Pour une terre à tendance acide, les valeurs de CIs obtenues avec la méthode des CEI pour des temps d'échange compris entre 24 h et 21 jours sont identiques à celles acquises après 3 mois avec les échantillonneurs SMS au cours d'essais en vases de végétation. Ainsi, la mesure de CIs reste peu dépendante du temps et du rapport terre : eau des systèmes étudiés. Cependant, dans le cas des terres carbonatées, ces valeurs sous-estiment celles des mesures avec les échantillonneurs SMS et, par conséquent, surestiment ainsi la valeur E du Cd^{2+} isotopiquement échangeable. Il est possible que l'emploi de rapports terre : eau relativement faibles par rapport à ceux existant dans un vase de végétation conduise à une dispersion des agrégats et, par conséquent, augmentent l'accessibilité des sites d'échange du Cd^{2+} . Nous avons montré que la méthode des CEI permet, en temps court de déterminer la quantité réelle de Cd phytodisponible dans les sols. Cette conclusion est surtout valable pour les terres peu polluées ou à tendance acide car dans le cas de terres carbonatées le temps d'échange isotopique doit être choisi en fonction de la plante considérée.

Chapitre 6 : Application du principe de dilution isotopique au choix d'extractants chimiques pour mesurer le Cd phytodisponible dans les sols

La mesure de la valeur E (ou de CI_S) directement en solution par les échantillonneurs SMS ou par la méthode des cinétiques d'échange isotopique, permet de fournir, dans certaines conditions, les quantités de Cd phytodisponibles dans des terres agricoles plus ou moins polluées. Ces méthodes peuvent être longues à mettre en œuvre et imposent l'emploi d'un isotope radioactif limitant leur utilisation en routine. Par contre, le principe de dilution isotopique peut aider aux choix d'extractants chimiques, d'emploi plus courant, dans le but de caractériser le Cd phytodisponible des sols. Les extractions chimiques visent à simuler la mise en solution des éléments de la phase solide d'un sol, au cours d'un cycle cultural. L'aptitude d'un réactif chimique à rendre compte du Cd phytodisponible peut être déterminée à partir du couplage de la dilution isotopique à l'extraction chimique. La CI_S de l'extrait obtenu avec le réactif chimique est comparée aux CI_P de plantes à prélèvements variés en Cd. Le rapport de la CI_S de l'extrait chimique sur la CI_P correspond à la fraction extraite qui contient la part du Cd^{2+} ayant les mêmes propriétés que les ions assimilés (Fardeau *et al.*, 1988). Plus la CI_S de l'extrait est faible par rapport à CI_P , plus l'extrait contient du Cd non assimilable par les plantes, par conséquent moins le réactif informe sur le Cd phytodisponible des sols.

I. Matériel et méthodes

I.1. Terres étudiées

Les terres étudiées sont S0, S1, S2, S3 et S5.

I.2. Extractants choisis

Il existe plusieurs type d'«extractants», plus ou moins agressifs vis à vis du sol. Certains donnent une information valable sur l'aptitude des sols à fournir du Cd à la plante : DTPA, l'eau déionisée, $CaCl_2$ et $NaNO_3$, NH_4NO_3 etc. Ils sont déjà utilisés de façon courante et des référentiels d'interprétation existent. Ce sont ces extractants qui ont été testés.

1.3. Protocole

Des extractions chimiques ont été réalisées en suivant les protocoles décrits dans la thèse de Lebourg (1996). Les 5 types de terre gardées nues tout au long de la culture des plantes décrite dans le chapitre 3, ont été utilisées pour tester les réactifs. Ces terres ont été homogénéisées et séchées à l'air pendant une dizaine de jours. Une prise d'essai de 5 ou 20 g suivant l'extractant, est placée dans un tube à centrifuger en Nalgène de 250 mL, dans lequel est ajouté 50 mL de l'extractant en solution (4 répétitions). L'extraction à l'eau utilise de l'eau ultrapure aérée une nuit de manière stabiliser le pH. Le flacon a subi une agitation rotative de 2 h à température ambiante et la suspension a été centrifugée pendant 10 min à 1300 g afin de faciliter la filtration réalisée sur des filtres sans cendre de porosité 0,45 µm. Une dizaine de mL du filtrat a été conservée afin de pouvoir doser le Cd total extrait par kg de sol. Une légère acidification a permis de garder les métaux en solution jusqu'à l'analyse. Enfin, 1 mL du filtrat a été prélevé dans le but de réaliser un comptage de la radioactivité. Le tableau 30 montre les variantes du protocole suivant le réactif chimique utilisé (Lebourg, 1996).

Tableau 30 : Variantes dans le protocole des extractions suivant le réactif utilisé.

Protocole	H ₂ O	CaCl ₂ -H ₂ O 0,01 M	CaCl ₂ -H ₂ O 0,1 M	NaNO ₃ 0,1 M	DTPA- TEA-CaCl ₂	NH ₄ NO ₃
Prise d'essai	20 g	5 g	5 g	20 g	10 g	20 g
Acidification	aucune	0,5 mL HCl	0,5 mL HCl	0,5 mL HNO ₃	aucune	0,5 mL HNO ₃

Les quantités de Cd stable et radioactif ont été mesurées dans les extraits chimiques et la composition isotopique du Cd dans l'extrait (CI_{SE}) a été calculée.

II. Caractérisation du Cd extrait

II.1. Compositions isotopiques du Cd²⁺ dans l'extrait, CI_{SE}, comparées à celles dans les plantes

La CI de Cd²⁺ dans les extraits chimiques, CI_{SE}, a été comparée à celle dans les plantes, CI_P, pour 3 mois de culture.

Tableau 31 : Valeurs de CI du Cd²⁺ (mg⁻¹ Cd kg terre) dans les plantes (3 mois) et les extraits chimiques.

Terre	CI _P 3 mois			CI _{SE}					
	ray grass	Laitue	<i>T. caerulea</i>	H ₂ O	CaCl ₂ 0,01M	CaCl ₂ 0,1M	NaNO ₃ 0,1M	DTPA- TEA-CaCl ₂	NH ₄ NO ₃
S0	1,74 d	3,32 bc	3,97 a	3,41 b	0,23 e	3,28 bc	1,14 d	2,74 c	*
S1	0,24 bc	0,18 bc	0,18 bc	0,06 c	0,42 ab	0,18 bc	0,42 ab	0,17 bc	*
S2	0,21 a	0,10 c	0,15 bc	0,13 c	0,14 bc	0,11 c	0,19 ab	0,11 c	*
S3	0,16 b	0,09 b	0,11 b	0,31 a	0,08 b	0,09 b	0,14 b	0,10 b	*
S5	0,07 a	*	0,06 a	0,06 ab	0,06 ab	0,07 a	0,07 a	0,06 ab	0,06 ab

Les moyennes d'une même ligne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, (4 répétitions). Le symbole * signifie qu'aucune donnée n'est disponible.

Pour la terre S5, toutes les CI_{SE} sont égales entre elles et égales aux CI_P du ray grass et de *T. caerulea* (Tableau 31). Pour les terres S1 et S3, les CI_{SE} de tous les extractants, sauf H₂O pour S3, sont aussi égales aux CI_P des 3 plantes. Pour les terres carbonatées en général, le Cd assimilable par la laitue et *T. caerulea* est statistiquement égal à celui extrait par CaCl₂ 0,1 M et DTPA-TEA-CaCl₂. Toutefois pour la terre S0 qui est faiblement polluée, le Cd disponible pour *T. caerulea* n'est correctement estimé par aucun extractant. Le NaNO₃ permet d'extraire le Cd assimilable par le ray grass pour toutes les terres carbonatées. En ce qui concerne H₂O, la radioactivité présente dans les extraits était extrêmement faible et proche du bruit de fond. De plus, la faible quantité de Cd mis en solution pose des problèmes de limite de détection en spectrophotométrie d'absorption atomique. Il convient donc de rester prudent quant à l'interprétation des résultats obtenus en terme de CI_{SE}. Un résultat est incohérent par rapport à la CI_P du ray grass : la CI_{SE} de 0,31 mg⁻¹ Cd kg terre pour la terre S3. Cette valeur obtenue pour H₂O peut s'expliquer par la faible radioactivité en solution. Puisque le ray grass a accès au pool de Cd²⁺ isotopiquement échangeable (démonstré pour les terres S4, et S5 dans le chapitre 4) la CI_{SE} ne peut dépasser la valeur de CI_P pour le ray grass. C'est effectivement le cas pour toutes les terres carbonatées à partir du moment où la pollution est élevée (supérieure à 0,6 mg Cd kg⁻¹ sol). La CI_P de valeur 1,74 mg⁻¹ Cd kg terre pour la terre S0 a été attribuée à des difficultés analytiques lors de la mesure du Cd prélevé par la plante.

II.2. Choix d'un réactif chimique pour estimer le Cd phytodisponible

Ainsi, pour une terre à tendance acide où le Cd^{2+} est isotopiquement échangeable à 87 % en 21 jours, les extractants chimiques testés permettent de mesurer le Cd assimilable par les plantes. C'est le cas également pour certaines terres carbonatées (sauf H_2O) mais des écarts entre le Cd extrait et le Cd phytodisponible peuvent apparaître suivant la plante testée.

- Le NaNO_3 0,1 M permet d'extraire le Cd disponible pour le ray grass dans les terres carbonatées étudiées. Le NaNO_3 0,1 M extrait moins de Cd que CaCl_2 aux concentrations 0,1 et 0,01 M (Gupta et Aten, 1993; Novozansky *et al.*, 1993). Ceci est confirmé par les Cl_5 des terres carbonatées polluées (S1 à S3) obtenues par extraction au NaNO_3 qui sont supérieures à celles des extraits par CaCl_2 0,1 et 0,01 M.
- Des concentrations de CaCl_2 allant de 0,01 M à 0,1 M sont souvent employées avec une efficacité prouvée pour l'évaluation de la biodisponibilité du Cd, dans le cas de la laitue et du ray-grass par exemple (Gupta et Aten, 1993; Wu *et al.*, 1989). Le Ca^{2+} permet en effet de déplacer facilement le Cd retenu sur le complexe argilo-humique du sol (Lebourg, 1996). Certains auteurs estiment cependant que le pH du sol doit être supérieur à 5,5, et que la formation de complexes entre Cl^- et Cd^{2+} peut entraîner une surestimation de la fraction extractible (Jackson et Alloway, 1991). D'après les résultats, le CaCl_2 0,1 M est un extractant approprié pour estimer les quantités de Cd assimilable par la laitue et l'hyperaccumulatrice *T. caerulescens* dans les terres carbonatées.
- En général, la fraction de Cd extraite par DTPA-TEA- CaCl_2 est plus ou moins corrélée avec celle effectivement prélevée par les plantes (Rocca et Pomares, 1991 ; Brown *et al.*, 1989 ; Kuo, 1990 ; Hooda et Alloway, 1993). Ici, le mélange DTPA-TEA- CaCl_2 permet d'estimer les quantités de Cd assimilable par la laitue et l'hyperaccumulatrice *T. caerulescens* dans les terres carbonatées S1 à S3.

III. Conclusion

En conclusion, dans une terre fortement polluée et acide, où le Cd est très labile, la plupart des extractants utilisés communément permettent de mesurer les quantités de Cd assimilable pour des plantes ayant des comportements variés par rapport à l'absorption du Cd. Les réactifs permettent dans l'ensemble une bonne estimation des quantités de Cd phytodisponible pour les terres polluées à tendance plus calcaire et basique. Cependant dans ce cas, une surestimation des quantités de Cd phytodisponible peut apparaître suivant les plantes et les terres étudiées. Ainsi pour ce type de terre le CaCl_2 0,1 M et le mélange DTPA-TEA- CaCl_2

peuvent être recommandé pour des plantes ayant des prélèvements relativement importants de Cd. Le NaNO_3 apparaît plus adapté pour estimer le Cd assimilable pour des plantes à prélèvement plus faible. Bien entendu, ces conclusions se limitent aux situations étudiées et il est nécessaire d'envisager des essais complémentaires afin de relier certaines caractéristiques physico-chimiques des terres (contenu total en éléments traces, pH, MO, CaCO_3) ainsi que les plantes étudiées à la capacité des réactifs chimiques à évaluer les quantités phytodisponibles de Cd.

Classiquement la validation d'un extractant chimique est basée sur des essais en vases de végétation couplés à l'extraction. L'obtention de corrélations entre le métal absorbé par la plante et les quantités extraites permet de retenir les réactifs utilisables en routine pour estimer les risques de transfert sol-plante des éléments. Cependant, il n'y a pas alors d'estimation directe des quantités assimilables par la plante. De plus, il n'y a pas identité chimique entre les ions absorbés par la plante et ceux extraits par le réactif mais seulement une relation mathématique. Lorsque la CI de Cd dans un extrait chimique est identique à la CI_p pour une plante, les quantités de Cd assimilable pour cette plante sont connues et il y a identité chimique entre ces fractions et celles extraites par le réactif. En effet, la probabilité que les compositions isotopiques de l'extrait et du Cd dans la plante soient identiques par hasard est quasi-nulle.

Conclusion générale

L'importance de la caractérisation de la phytodisponibilité des éléments en trace dans les sols se justifie par la toxicité de ces éléments vis à vis des plantes et de leurs consommateurs directs ou indirects. De nombreux travaux ont porté sur la mobilité de ces éléments dans les sols ainsi que les mécanismes d'absorption par les végétaux. Cependant, les méthodes utilisées (biologiques, chimiques et isotopiques) n'ont pas permis de quantifier et de connaître précisément la spéciation des éléments en trace phytodisponibles. L'objectif de la thèse était de coupler des méthodes biologiques et chimiques à la dilution isotopique pour caractériser la phytodisponibilité d'un élément en trace modèle : le cadmium. Afin de déterminer si les quantités de Cd phytodisponible étaient les mêmes pour toutes les plantes, 3 végétaux ayant des niveaux de prélèvement varié en Cd ont été retenus : le ray grass, la laitue et l'hyperaccumulatrice de Cd et Zn *Thlaspi caerulescens*. Différents échantillons de terre ont été ensuite choisis pour étudier l'influence des caractéristiques physico-chimiques du sol sur les compartiments du Cd assimilable. Ainsi 4 terres de caractéristiques proches (carbonatées, pH égal à 8) mais polluées de façon croissante par Cd d'origine industrielle ont été retenues. Une autre terre, contaminée par Cd à un niveau similaire à la terre carbonatée la plus polluée, mais ayant un pH plus bas (6,2), a été également sélectionnée, afin de disposer d'un ensemble de types de terre contrastées. Les principales méthodes employées ont été la culture des végétaux couplée au marquage du Cd^{2+} isotopiquement échangeable des terres, des mesures de radioactivité et de concentrations ioniques dans la solution du sol, des cinétiques d'échange isotopique et des extractions chimiques simples.

Les résultats obtenus montrent que le Cd, élément en trace non essentiel pour les plantes, est très phytodisponible dans des terres agricoles polluées, même carbonatées. La dilution isotopique, couplée à des méthodes biologiques ou chimiques, permet de mesurer ces quantités assimilables pour des végétaux à prélèvement varié en Cd. Pour la terre à tendance acide (pH 6,2) et polluée à hauteur de $20,3 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ par des poussières de fonderie de Zn, la mesure de la valeur L montre qu'environ 80 % du Cd est phytodisponible. Ce résultat est confirmé par une mesure des quantités de Cd^{2+} isotopiquement échangeables en solution à un temps t égal au temps de croissance des végétaux (valeur E). La méthode des cinétiques d'échange isotopique permet d'avoir une représentation de E en fonction du temps (valeur E(t)). Cette dernière méthode montre que 87 % du Cd est isotopiquement échangeable en 21

jours. Dans une terre polluée à tendance acide les quantités labiles de Cd sont bien plus importantes que pour le Zn ou le Ni dans des terres de pH équivalents où une fraction reste peu échangeable pour des temps supérieurs à 3 mois (75 à 97 %). Ce résultat pour le Cd a été mis en relation avec le pH et les fortes teneurs en Zn de la terre étudiée. Lorsque le Cd est très labile, des plantes à prélèvements en Cd aussi variés que le ray grass et l'hyperaccumulatrice *T. caerulescens*, ont accès à un même compartiment de Cd phytodisponible dans les sols. Un prélèvement de la solution couplé à la dilution isotopique montre que ce compartiment est celui du Cd²⁺ isotopiquement échangeable. Aucun effet des plantes sur la phytodisponibilité du Cd n'a donc été mis en évidence pour cette terre à tendance acide.

Dans le cas des terres carbonatées (pH égal à 8), polluées de façon croissante par des poussières de fonderie de Zn (0,6 à 25,4 mg Cd kg⁻¹ terre), la phytodisponibilité du Cd est dépendante du couple terre-végétal considéré. Ainsi, suivant les plantes, la valeur L varie de 25 à 66 % du Cd total des terres. En effet, toutes les plantes n'ont pas accès aux mêmes compartiments de Cd dans le sol. Le ray grass a accès strictement au Cd²⁺ isotopiquement échangeable, tandis que la laitue et *T. caerulescens* ont accès à des quantités plus importantes, cette fraction différente représentant entre 16 et 52 % des quantités qui leur sont assimilables. Ces résultats sont différents de ceux trouvés dans d'autres études (Hamon et al., 1997 ; Hamon et McLaughlin, 1999 ; Hutchinson et al., 2000) où les valeurs L de différentes espèces courantes ou hyperaccumulatrices étaient égales. Ceci serait dû aux caractéristiques particulières des terres carbonatées étudiées, polluées par des poussières industrielles. La mesure des quantités de Cd²⁺ isotopiquement échangeable dans la solution du sol (E) permet donc d'avoir une caractérisation des quantités de Cd assimilable par le ray grass, mais sous-estime les quantités de Cd phytodisponibles pour la laitue et *T. caerulescens*. Un effet de ces deux plantes sur la composition ionique de la solution du sol a été montré. Ce suivi a permis d'émettre l'hypothèse de la présence de molécules organiques complexantes ou acidifiantes dans la rhizosphère de la laitue. L'augmentation des quantités de Cd phytodisponible dans le cas de *T. caerulescens*, pourrait être due à un déséquilibre entre la solution et la phase solide, créé par les forts prélèvements de Cd, et ayant entraîné la mise en solution de Cd²⁺ non assimilable à l'origine. Pour ces terres carbonatées, l'estimation des quantités phytodisponibles par les cinétiques d'échange isotopique dépend du temps d'échange et de la dilution du système terre-eau. La valeur E(t) augmente en fonction du temps, durant les 21 premiers jours de l'échange isotopique. Pour le ray grass, une mesure de E(t) après 24 h d'échange est égale à la valeur L, alors que 21 jours sont nécessaires pour obtenir une mesure de quantités phytodisponibles pour la laitue et *T. caerulescens*. La moins bonne corrélation,

par rapport au cas de la terre de tendance acide, des quantités isotopiquement échangeables données par les cinétiques, avec les quantités phytodisponibles, s'explique par l'augmentation de la valeur $E(t)$ sous l'effet de la dilution du système terre-eau. La réalisation des cinétiques d'échange isotopique et l'ajustement d'un modèle mathématique développé pour les ions phosphates et Ni^{+} a montré que, contrairement aux deux précédents ions, 21 à 70 % (moyenne de 50 %) des quantités totales de Cd dans les terres carbonatées n'étaient pas isotopiquement échangeables du tout pour des temps infinis. En fait, deux principaux compartiments ont été caractérisés : l'un peu ou non isotopiquement échangeable et un autre très rapidement échangeable (en 21 jours) représentant 30 à 66 % du Cd total. L'existence de fractions peu ou non isotopiquement échangeables a été expliquée par les très faibles quantités de Cd labile dans les poussières industrielles à l'origine de la contamination (moins de 0,1 % isotopiquement échangeable en 40 minutes), couplé au pH et à la teneur en carbonates des terres considérées.

La phytodisponibilité du Cd est forte dans les terres étudiées, mêmes carbonatées. Le chaulage des terres agricoles contaminées par les poussières industrielles n'a donc pas réduit suffisamment les risques de transfert vers les plantes cultivées. Les concentrations de Cd dans les plantes étant fonction de l'espèce végétale, voire de la variété, le choix des cultures à pratiquer doit se porter sur des végétaux prélevant peu de Cd. Pour les plantes à feuille comme la laitue, le transport de Cd vers les parties aériennes est limité pour certaines variétés. Cependant, cet effet est marqué surtout lorsque les teneurs du Cd dans les terres sont faibles.

La caractérisation des compartiments phytodisponibles du Cd pour des hyperaccumulatrices a des implications en terme de phytoremédiation. En effet, l'utilisation des plantes hyperaccumulatrices d'éléments en trace comme outil de dépollution des sols, impose de connaître le ou les compartiment(s) dans le(s)quel(s) ces plantes vont prélever l'élément. Si une hyperaccumulatrice a accès à une fraction différente de l'élément dans la terre, ses prélèvements ne réduiront pas forcément le risque de transfert du polluant vers d'autres plantes. D'après les résultats de ce travail, lorsque les quantités de Cd labile ou phytodisponible sont élevées et concernent la quasi-totalité du Cd (terre à tendance acide), les hyperaccumulatrices puisent le Cd^{2+} dans les mêmes compartiments que des plantes ayant des prélèvements modérés (ray grass). Les hyperaccumulatrices seraient alors un outil intéressant pour réduire les quantités assimilables. Ceci implique cependant que l'absorption du Cd^{2+} par la plante n'entraîne pas une mise en solution des faibles fractions qui n'étaient pas assimilables au départ. Ceci pourrait être vérifié pour la terre à tendance acide par la culture d'une nouvelle génération de *T. caerulea* sur cette même terre et la mesure de la valeur L ,

ou par la réalisation de cinétiques d'échange isotopique pour la terre après culture. Quoiqu'il en soit, le Cd étant déjà pratiquement totalement assimilable, plusieurs cycles de culture de la plante seraient nécessaires pour réduire les quantités de façon significative (dans le cas de la terre à tendance acide étudiée, 22 cultures successives de 3 mois pour réduire les quantités assimilables de 50 %). En effet, la biomasse produite par *T. caerulescens* est faible dans les vases de végétation (1,5 g MS kg⁻¹ terre en 3 mois pour cette terre), ce qui limite les quantités de Cd prélevé. Enfin, la récolte de l'ensemble de la plante (racines + parties aériennes) doit être envisagée, puisque le Cd présent dans la biomasse n'est pas moins mobile qu'il ne l'était dans la terre (Perronnet, 2000). En ce qui concerne les terres polluées carbonatées, *T. caerulescens*, comme la laitue, a accès à une quantité de Cd supérieure à celle du ray grass. Dans ce cas, *T. caerulescens* diminuerait non seulement la quantité de Cd assimilable mais aussi une fraction non assimilable par des plantes courantes comme le ray grass. *T. caerulescens* pourrait être utilisée pour réduire les quantités assimilables, grâce aux fortes quantités totales prélevées (1,7 mg Cd kg⁻¹ terre en 3 mois pour S3, soit 6,6 %). En effet, la biomasse produite est plus importante que pour la terre à tendance acide et la concentration dans la MS est supérieure. Dans ce cas également, il devra être vérifié que les prélèvements par la plante ne sont pas compensés par un réapprovisionnement de la solution du sol par du Cd de la phase solide qui n'était pas assimilable à l'origine.

Le choix d'un outil de caractérisation des quantités de Cd phytodisponible dans les sols repose sur au moins deux critères : la spécificité de la mesure et son aspect pratique. La culture de végétaux couplée à la dilution isotopique est une méthode qui permet de déterminer les quantités de Cd phytodisponible (valeurs L), bien que l'on puisse reprocher aux plantes de perturber le système étudié. En effet, alors que l'on cherche à définir un état stable de la terre étudiée (quantités de Cd assimilable), l'outil de mesure (les plantes) modifie lui-même les quantités phytodisponibles par le prélèvement de l'élément. Dans la plupart des cas, les prélèvements totaux de Cd par les plantes représentent une faible part des quantités assimilables mais, pour *T. caerulescens*, les prélèvements en 3 mois sur la terre S3 (1,67 mg Cd kg⁻¹ terre) représentent 19 % du Cd assimilable, défini par la valeur L. Ces forts prélèvements, susceptibles de modifier les quantités phytodisponibles, sont une limite à la validité de la mesure des quantités de Cd assimilable pour les plantes hyperaccumulatrices.

La mesure de la valeur E dans une solution de sol par l'intermédiaire d'échantillonneurs SMS est une méthode peu perturbatrice du système. Lorsqu'elle est utilisée dans des terres nues (non perturbées par le prélèvement des plantes) elle donne une mesure des quantités phytodisponibles pour la terre à tendance acide mais sous-estime celles assimilables par la

laitue ou *T. caerulescens* pour les terres carbonatées (- 40 % environ). Placés dans les terres carbonatées cultivées, les échantillonneurs ne permettent pas de prendre en compte ces phénomènes dus aux plantes et se déroulant au voisinage des racines car ces zones évoluent en fonction de la croissance de la plante alors que l'échantillonneur est fixe. Que le milieu soit cultivé ou non, les écarts-types sur la mesure sont importants pour ces terres carbonatées car la radioactivité en solution est très faible (fort pouvoir tampon de la terre). On pourrait également reprocher à l'échantillonnage direct de solution de sol la longueur de l'expérience mais la mesure peut être réalisée une semaine après le marquage du Cd^{2+} isotopiquement échangeable, la Cl_s variant très peu ensuite. En conclusion, cette méthode présente des limites dans le cas des terres polluées et carbonatées en raison de la faible radioactivité en solution et l'absence de prise en compte d'un effet plante lorsque l'on travaille en milieu non perturbé (nu). Cette méthode est par contre valable dans le cas d'une terre plus acide et lorsque les quantités de Cd labile sont importantes.

La méthode des cinétiques d'échange du $^{109}\text{Cd}^{2+}$ a donné la mesure du Cd phytodisponible en 24 h pour la terre à tendance acide, et en 24 h ou 21 jours suivant les plantes, pour les terres carbonatées. Dans ce dernier cas, la dilution du système terre-eau (de 1 : 0,25 pour un vase de végétation à 5 : 10 pour les cinétiques) semble être le principal facteur de variation de la valeur $E(t)$ (avec la précision sur la concentration de Cd^{2+} en solution lorsqu'on est proche des limites de détection). Cette méthode nécessitera sans doute certains ajustements du protocole (rapport terre-eau) en fonction de la terre utilisée et d'aspects pratiques, notamment la facilité de filtration. Le rapport terre-eau le plus élevé sera celui recommandé pour approcher au mieux un système cultivé. Dans les terres étudiées, plus les quantités de Cd labile sont importantes, moins les conditions expérimentales influent sur les valeurs $E(t)$, et plus celles-ci sont proches des quantités de Cd assimilable.

Ces trois méthodes (culture de végétaux, prélèvement de solution, cinétique d'échange du $^{109}\text{Cd}^{2+}$) nécessitent l'apport d'un isotope radioactif dans le système étudié, ce qui limite leur utilisation dans des laboratoires non agréés. La mesure de valeurs L pour différentes plantes a permis de tester des réactifs chimiques quant à leur capacité à extraire le Cd phytodisponible des terres. Ces méthodes sont facilement utilisables en routine. Pour une terre à tendance acide, tous les réactifs chimiques courants testés donnent une estimation correcte du Cd phytodisponible. Les extractants permettent également de mesurer le Cd phytodisponible pour les terres carbonatées, avec des surestimations possibles suivant la plante et la terre étudiée. Le NaNO_3 donne une mesure du Cd assimilable pour des plantes ayant des prélèvements de Cd modéré (ray grass), tandis que le CaCl_2 0,1 M et le mélange DTPA-TEA- CaCl_2 sont plus

adaptés pour estimer le Cd accessible par des plantes qui ont des prélèvements de Cd plus élevés (laitue, *T. caerulescens*).

La plupart des limites énoncées pour chaque méthode d'évaluation de la phytodisponibilité de Cd dans les sols serait généralisable à d'autres éléments en traces comme Ni et surtout Zn qui est proche chimiquement de Cd. Par exemple, le prélèvement massif de Zn par les plantes est une limite à leur utilisation pour la mesure de valeurs L. La caractérisation de la phytodisponibilité de Zn dans les sols sera en général plus délicate que pour Cd, puisque les quantités labiles sont moins importantes, même pour des terres à tendance acide et de fortes contaminations d'origine industrielle (Sinaj *et al.*, 1999). En effet, chaque méthode s'est montrée d'autant plus efficace que les quantités de Cd labiles étaient importantes dans les sols.

Ce travail ouvre des perspectives dans le cadre de l'influence de l'interaction entre éléments traces et en particulier Cd/Zn sur les quantités phytodisponibles et labiles de ces éléments dans les sols. De comportement chimique voisin, ces deux éléments en traces sont souvent associés lors d'une pollution, particulièrement lorsque celle-ci est d'origine industrielle. Il serait intéressant d'étudier l'évolution des valeurs E en fonction des ratios Cd/Zn et de comprendre les mécanismes qui en sont responsables. Une même étude sur Cd/Ca pourrait permettre d'expliquer la variabilité des mesures E(t) du Cd²⁺ en fonction de la dilution dans le cas de terres carbonatées et le comportement particulier de celles-ci par rapport à une terre plus acide. Ceci permettrait également de mieux comprendre les mécanismes responsables des fortes quantités de Cd phytodisponible dans les terres polluées, même carbonatées. Pour caractériser plus précisément le Cd phytodisponible des sols il serait intéressant de pouvoir relier les compartiments de Cd²⁺ isotopiquement échangeable en fonction du temps avec des formes chimiques particulières. On peut envisager dans ce but de réaliser des CEI du Cd²⁺ pour des composés modèles tels que des argiles pures, des oxydes ou de la matière organique. Il serait souhaitable également d'approfondir les mécanismes qui permettent à une plante de modifier les quantités de Cd²⁺ assimilable dans un sol. Un travail avec les plantes les plus susceptibles d'interférer sur les quantités de Cd²⁺ labiles comme les hyperaccumulatrices ou des plantes connues pour modifier la rhizosphère pourrait être réalisé. Des CEI effectuées sur la terre rhizosphérique adhérente aux racines pourrait rendre compte de l'évolution des quantités isotopiquement échangeables. Enfin, dans le cadre de la phytoremédiation, des études doivent se poursuivre pour caractériser le réapprovisionnement de la solution du sol après de forts prélèvements par une hyperaccumulatrice. Des CEI après culture devrait permettre de

savoir si les quantités assimilables sont définitivement réduites ou si au contraire du Cd non assimilable à l'origine a été mobilisé.

Enfin, la généralisation de la validité des réactifs chimiques testés dans le cadre de cette étude pour mesurer les quantités de Cd phytodisponible dans les sols nécessite de nouvelles expériences sur une large gamme de terres. Par exemple, on pourra faire varier l'origine de la pollution cadmiée (industrielle, boues de station d'épuration, engrais phosphatés, Cd géochimique) ainsi que d'autres caractéristiques des terres (teneurs en argile, matière organique, etc.).

Références bibliographiques

Alloway, B.J. 1995. Cadmium. p.123-151. In B.J. Alloway (ed.) Heavy metals in soils. Blackie Academic and Professional, London.

Atkins, G.L. 1973. Terminologie de l'analyse compartimentale. p.7-19. In Gauthier-Villard (ed.) Modèles à compartiments multiples pour les systèmes biologiques. 1979 (Multicompartment models for biological systems. Methuen & Co. Ltd., Bordas, Belgium.

Backes, C.A., R.G. McLaren, A.W. Rate, and R.S. Swift. 1995. Kinetics of cadmium and cobalt desorption from iron and manganese oxides. Soil Sci. Soc. Am. J. 59:778-785.

Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and Excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. J. Plant Nutr. 3:643-654.

Baker, A.J.M., S.P. McGrath, C.M.D. Sidoli, et R.D. Reeves. 1993. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. p.11 :1-4. In Proceedings of the International Conference on Environnemental Biotechnology in Waste Treatment and Recycling, 12-14 january 1993, Resources, Conservation and Recycling, Hong-Kong.

Barbier, G., M. Lesaint, et E. Tyszkiewicz. 1954. Recherches, au moyen d'isotopes, sur les phénomènes d'autodiffusion dans le sol et sur l'alimentation des plantes. Annales Agronomiques 6:923-959.

Beaux, M.F., H. Gouet, J.P. Gouet, P. Morlegem, G. Philippeau, J. Tranchefort, et M. Verneau. 1991. STAT-ITCF. Manuel d'utilisation. ITCF Editor, Paris, France.

Bingham, F.T., G. Sposito et J.E. Strong. 1984. The effect of chloride on the availability of cadmium. J. Environ. Qual. 13:71-74.

Bingham, F.T., J.E. Strong et G. Sposito. 1983. Influence of chloride salinity on cadmium uptake by Swiss chard. Soil Science 135:160-165.

Bitton, G., et V. Freihoffer. 1978. Influence of extracellular polysaccharides on the toxicity of copper and cadmium toward *Klebsiella aerogenes*. Microbiol. Ecol. 4 :119-125.

Bitton, G., K. Jung, et B. Koopman. 1994. Evaluation of a microplate assay specific for heavy metal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27, 1:25-28.

Bolton, K.A. et L.J. Evans. 1991. Elemental composition and speciation of some landfill leachates with particular reference to cadmium. *Water, Air, and Soil Pollution* 60:43-53.

Boularbah, A. 1992. Interactions entre le cadmium et *Bacillus brevis* isolé d'un sol pollué par les métaux lourds (Abstract in English). Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 93 p.

Boularbah, A., J.L. Morel, G. Bitton, et A. Guckert. 1992. Cadmium biosorption and toxicity to six Cd-resistant Gram positive bacteria isolated from contaminated soil. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 7 :237-246.

Bourrelrier, P.H., et J. Berthelin. 1998. Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 42.

Boyd, R.S., et S.N. Martens. 1991. The "raison d'être" for hyperaccumulation by plants, The vegetation of ultramafic soils. p.279-289. *In Proceedings of the 1st International Conference on Serpentine Ecology*, Un. Of California, Davis.

Brooks, R.R., J. Lee, R.D. Reeves, et T. Jaffré. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J. Geochem. Exploration* 7:49-57.

Brown, S.L., R.L. Chaney, J.S. Angle, et A.J.M. Baker. 1994. Phytoremediation Potential of *Thlaspi caerulescens* and Bladder Campion for Zinc-and Cadmium- soil. *J. Environ. Qual.* 23:1151-1157.

Brown, P.H., L. Dunemann, R. Schulz, et H. Marshner. 1989. Influence of redox potential and plant species on the uptake of nickel and cadmium from soils. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 152:85-91.

Cabrera, D., S.D. Young, et D.L. Rowell. 1988. The toxicity of cadmium to barley plants as affected by complex formation with humic acid. *Plant and Soil* 105:195-204.

Candelaria, L.M., et A.C. Chang. 1997. Cadmium activities, solution speciation, and solid phase distribution of Cd in cadmium nitrate and sewage sludge-treated soil systems. *Soil Science* 162, 10 :722-732

Références bibliographiques

- Cataldo, D.A., T.R. Garland, et R.E. Wildung. 1981. Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiol.* 68:835-839.
- Cavallaro, N., et M.B. McBride. 1978. Copper and cadmium adsorption characteristics of selected acid and calcareous soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42:550-556.
- Chino, M., et A. Baba. 1981. The effects of some environmental factors on the partitioning of zinc and cadmium between roots and tops of rice plants. *J. Plant Nutr.* 3:203-314.
- Chlopecka, A., J.R. Bacon, M.J. Wilson et J. Kay. 1996. Forms of cadmium, lead, and zinc in contaminated soils from Southwest Poland. *J. Environ. Qual.* 25, 1:1151-1157.
- Christensen, T.H. 1984. Cadmium soil sorption at low concentrations : I. Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. *Water, Air, and Soil Pollution* 21:105-114.
- Costa, G. 1992. Réponses physiologiques de *Lactuca sativa* (L.) et de *Lupinus albus* (L.) aux faibles concentrations en cadmium. Thèse de doctorat de l'Institut national Polytechnique de Lorraine. 158 p.
- Costa, G., et J.L Morel. 1993. Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance. *J. Plant Nutr.* 16, 10:1921-1929.
- Costa, G., et J.L Morel. 1994. Efficiency of H(+)-ATPase activity on cadmium uptake by four cultivars of lettuce. *J. Plant Nutr.* 17,4:627-637.
- Cottenie A. 1981. Sludge treatment and disposal in relation to heavy metals. p.167. *In Proceedings of the international Conference "Heavy Metals in the Environment" Amsterdam, September 1981, CEP Consultants Ltd., Edinburgh.*
- Cunningham, J.D., D.R. Keeney, et J.A. Ryan. 1975. Yield and metal composition of rye grown on sewage sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.* 4:448-454.
- Davies, B.E. 1995. Lead. p.206-223. *In* B.J. Alloway (ed., 2nd ed) *Heavy metals in soils*, Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- Didier, V., M. Mench, A. Gomez, A. Manceau, D. Tinet, et C. Juste. 1993. Réhabilitation de sols pollués par le cadmium : évaluation de l'efficacité d'amendements minéraux pour diminuer la biodisponibilité du Cd. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 316, 3:83-88.

Dinkelaker, B., V. Römheld, et H. Marshner. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant, Cell and Environment* 12:285-292.

Dyanand, S., et M.K. Sinha. 1985. Labile pool and selective distribution of iron in calcareous and sodic soils. *Plant and Soil* 88:11-21.

Echevarria, G. 1996. Contribution à la prévision des transferts sol-plante des radionucléides. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 219 p.

Echevarria, G., J.L Morel, J.C. Fardeau, et E. Leclerc-Cessac. 1998. Assessment of phytoavailability of Nickel in soils. *J. Environ. Qual.* 27:1064-1070.

Echevarria, G., C. Schwartz, J.L Morel, S. Shallari et E. Gerard. 2000. Risk assessment of industrial soils contaminated by heavy metals. p.845-848. *In Proceedings of the SUITMA Conference, 12-18 July 2000, Essen.*

Erikson, J.E. 1989. The influence of pH, soil type and time on adsorption and uptake by plants of Cd added to the soil. *Water, Air Soil Pollut.* 48, 3-4:317-335.

Fardeau, J.C. 1981. Cinétiques de dilution isotopique et phosphore assimilable des sols. Thèse de doctorat d'Etat de Paris VI, 198p.

Fardeau, J.C. 1993. Le phosphore assimilable des sols : Sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie, Paris*, 13:1-15.

Fardeau, J.C., et J. Jappé. 1976. Nouvelle méthode de détermination du phosphore assimilable par les plantes : Extrapolation des cinétiques de dilution isotopique. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 282:1137-1140.

Fardeau, J.C., J.M. Hétiér, et J. Jappé. 1979. Potassium assimilable du sol : Identification du compartiment des ions isotopiquement diluables. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 288:1039-1042.

Fardeau, J.C., C. Morel, et R. Boniface. 1991. Cinétiques de transfert des ions phosphate vers la solution du sol : paramètres caractéristiques. *Agronomie (Paris)* 11:787-797.

Filius, A., T. Streck, et J. Richter. 1998. Cadmium sorption and desorption in limed topsoils as influenced by pH: isotherms and simulated leaching. *J. Environ. Qual.* 27:12-18.

Références bibliographiques

- Fischer, L., E. Zur Mulhen, G.W. Brummer, et H. Niehus. 1996. Atomic force microscopy (AFM) investigations of the surface topography of a multidomain porous goethite. *Eur. J. Soil Sci.* 47:329-334.
- Frémy, D. et M. Frémy. Cadmium, minerais. p. 1613b. *In* Quid 2000 R. Laffont (ed.).
- Fried, M., et A.L. Dean. 1952. A concept concerning the measurement of available soil nutrients. *Soil Sci.* 73:263-271.
- Fujii, R., et R.B. Corey. 1986. Estimation of isotopically exchangeable cadmium and zinc in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50:306-308.
- Garcia-Miragaya, J., et A.L. Page. 1977. Influence of exchangeable cation on the sorption of trace amounts of cadmium by montmorillonite. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42:718-721
- Gardner, W.K., et D.G. Parbery. 1982a. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. I. Some characteristics of the soil/root interface. *Plant and Soil* 68:19-32.
- Gardner, W.K., et D.G. Parbery. 1982b. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. II. The effect of varying phosphorus supply and soil type on some characteristics of the soil/root interface. *Plant and Soil* 68:19-32.
- Gérard, E., G. Echevarria, T. Sterckeman, et J.L.Morel. 2000a. Cadmium availability to three plants species varying in Cd accumulation pattern. *J. Environ. Qual.* 29:1117-1123.
- Gérard, E., G. Echevarria, C. Morel, T. Sterckeman et J.L.Morel. 2000b. Isotopic exchange kinetics method for assessing cadmium availability in soils. *In* Iskandar K. Iskandar (ed.) Trace Elements in Soils: Bioavailability, Flux, and Transfer. CRC Press LLC (in press).
- Giordano, P.M., D.A. Mays, et A.D. Behel, Jr. 1979. Soil temperature effects on the uptake of cadmium and zinc by vegetables grown on sludge amended soil. *J. Environ. Qual.* 8 :232-236.
- Goor B.J. van, et D. Wiersma. 1976. Chemical forms of manganese and zinc in phloem exudates. *Physiologia Plantarum* 36:213-216.

Références bibliographiques

- Gupta, S.K. 1987. Interrelationship between degree of metal binding capacity of sludge and metal concentration in plants. p.418-420. *In* S.E. Lindberg, T.C. Hutchinson (ed.) Heavy Metals in the environment, VI Int. Conf., New Orleans, US Environmental Protection Agency.
- Gupta, S.K., et C. Aten. 1993. Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in a simple model to predict the biological relevance of heavy metal concentrations in contaminated soils. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 51:25-46.
- Gupta, S.K., et F.X. Stadelmann. 1984. Effect of sewage sludge on the bioavailable cadmium concentration. p.435-445. *In* P. L'hermite et H. Ott (ed.) Processing and use of sewage sludge, Proceedings of the 3rd International Symposium, Brighton, Commission of the European Communities, Reidel D. Publishing company, Brussels.
- Haghir, F. 1974. Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature. *J. Environ. Qual.* 3:180-183.
- Hamon, R.E. et M.J. McLaughlin. 1999. Use of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* for bioavailable contaminant stripping. p.908. *In* Proc. 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Vienna, Austria, July 1999.
- Hamon, R.E., S.E. Lorenz, P.E. Holm, T.H. Christensen, et S.P. McGrath. 1995. Changes in trace metal species and other components of the rhizosphere during growth of radish. *Plant, Cell Environ.* 18:749-756.
- Hamon R.E., M.J. McLaughlin, R. Naidu, et R. Correll. 1998. Long-term changes in cadmium bioavailability in soil. *Environ. Sci. Technol.* 32:3699-3703.
- Hamon, R.E., J. Wundke, M.J. McLaughlin, et R. Naidu. 1997. Availability of zinc and cadmium to different plant species. *Aust. J. Soil Res.* 35:1267-1277.
- Harter, R.D. 1979. Adsorption of copper and lead by Ap and B₂ horizons of several northeastern United States soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:679-683.
- Haynes, R.J. 1990. Active ion uptake and maintenance of cation anion balance : a critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. *Plant and Soil* 126, 2:247-267.

- He, Q.B., et B.R. Singh. 1994. Crop uptake of cadmium from phosphorus fertilizers : 1. Yield and cadmium content. *Water, Air Soil Pollut.* 74, 3-4:251-265.
- Hedley, M.J., R.E. White, et P.H. Nye. 1982. Plant-induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var. Emerald) seedlings. III. Changes in L value, soil phosphate fractions and phosphatase activity. *New Phytologist* 91:45-56.
- Hemphill, D.D. Jr., T.L. Jackson, L.M. Martin, G.L. Kiemmec, D. Hanson, et V.V. Volk. 1982. Sweet corn response to application of three sewage sludges. *J. Environ. Qual.* 11:191-196.
- Hickey, T.D., et J.A. Kittrick. 1984. Chemical partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in soils and sediment containing high levels of heavy metals. *J. Environ. Qual.* 13:372-376.
- Hiltner, L. 1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arb. Deut. Landw. Ges.* 98:59-78.
- Hinesly, T.D., E.L. Ziegler, et G.L. Barrett. 1979. Residual effect of irrigating corn with digested sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 8,1:35-38.
- Hirsch, D., et A. Banin. 1990. Cadmium speciation in soil solutions. *J. Environ. Qual.* 19:366-372.
- Hooda, P.S., et B.J. Alloway. 1993. Effects of time and temperature on the bioavailability of Cd and Pb from sludge-amended soils. *J. Soil. Sci.* 44, 1:97-110.
- Huffman, E.W.D., et J.F. Hodgson. 1973. Distribution of cadmium and zinc-cadmium ratios in crops from 19 states east of the Rocky mountains. *J. Environ. Qual.* 2:289-291.
- Hutchinson, J.J., S.D. Young, S.P. McGrath, H.M. West, C.R. Black, et A.J.M. Baker. 2000. Determining uptake of « non-labile » soil cadmium by *Thlaspi caerulescens* using isotopic dilution techniques. *New Phytol.* 146 :453-460.
- Hutton, M. 1983. Sources of cadmium in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7:9-24.
- Jackson, A.P., et B.J. Alloway. 1991. The bioavailability of cadmium to lettuce and cabbage in soils previously treated with sewage sludges. *Plant and Soil* 132:179-186.

- Jaffré, T., R.R. Brooks, J. Lee, et R.D. Reeves. 1976. *Sebertia acuminata*: a hyperaccumulator of nickel from New Caledonia. *Science* 193:579-580.
- Jensen H et Mosbaek. 1990. Relative availability of 200 years old cadmium from soil to lettuce. *Chemosphere* 20:693-702.
- Jopony, M., et S.D. Young. 1994. The solid-solution equilibria of lead and cadmium in polluted soils. *Eur. J. Soil Sci.* 45:59-70.
- Juste, C. 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces des sols. *Science du sol* 26, 2:103-112.
- Kabata-Pendias, A., et H. Pendias. 1992. Elements of Group II: Cadmium. p.131-141. *In* A. Kabata-Pendias et H. Pendias (ed.) *Trace Elements in Soils and Plants 2nd Edition*, CRC Press LLC, London.
- Knight, B.P., F.J. Zhao, S.P. McGrath, et Z.G. Shen. 1997. Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effect on the concentration and chemical speciation of metals in soil solutions. *Plant and Soil* 197:71-78.
- Knight, B.P., A.M. Chaudri, S.P. McGrath et K.E. Giller. 1998. Determination of chemical availability of cadmium and zinc in soils using inert soil moisture samplers. *Environmental Pollution* 99:293-298.
- Korcak, R.F., et D.S. Fanning. 1978. Extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc by double acid vs. DTPA and plant content at excessive soil levels. *J. Environ. Qual.* 7 :506-512.
- Korte, F. 1983. Ecotoxicology of cadmium : general overview. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7:3-8.
- Krämer, U., J.D. Cotter-Howells, J.M. Charnock, A.J.M. Baker, et J.A.C. Smith. 1996. Free histidine as a nickel chelator in plants that hyperaccumulate nickel. *Nature* 379:635-638.
- Kuo, S. 1990. Cadmium buffering capacity and accumulation in swiss chard in some sludge- amended soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 1:86-91.
- Lamy, L., P. Cambier, et S. Bourgeois. 1994. Pb and Cd complexation with soluble organic carbon and speciation in alkaline soil leachates. p.1-15. *In* D.C. Adriano (ed.) *Biogeochemistry of trace elements*, Chen. Z.S., Yang S.S., Northwood (GB).

- Larsen, S. 1952. The use of ^{32}P in studies on the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 4:1-10.
- Lebourg, A. 1996. Etude de l'extraction des métaux en traces de sols pollués en vue de la détermination de leur biodisponibilité. Thèse de doctorat de l'université des Sciences et Technologies de Lille, 154 p.
- Leita, L., M.T. Baca Garcia, et A. Maggioni. 1992. Cadmium uptake by *Pisum sativum* : accumulation and defense mechanism. *Agrochimica* 36, 3:253-259.
- Levi-Minzi, R., G. F. Soldatini, et R. Riffaldi. 1976. Cadmium adsorption by soils. *J. Soil Sci.* 27:10-15.
- Li U-M, R.L. Chaney et A.A. Schreiner. 1984. Effect of soil chloride level on cadmium concentration in sunflower kernels. *Plant and soil* 167:275-280.
- Lindsay, W.B., et W.A. Norwell. 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese, and copper, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42:421-428.
- Llyod, C.A., R.L. Chaney, et P.J. Mastradone. 1981. Labile cadmium in soils of long-term sludge utilization farms. p.29. *In Agronomy abstracts*. ASA, Madison, WI.
- Lopez, P.L., et E.R. Graham. 1970. Isotopic exchange studies of micronutrients in soils. *Soil Sci.* 110:24-30.
- Lopez, P.L., et E.R. Graham. 1972. Labile pool and plant uptake of micronutrients. I. Determination of labile pool of Mn, Fe, Zn, Co, and Cu in deficient soils by isotopic exchange. *Soil Sci.* 114:195-299.
- Lorenz, S.E., R.E. Hamon, et S.P. McGrath. 1994. Differences between soil solutions obtained from rhizosphere and non-rhizosphere soils by water displacement and soil centrifugation. *Eur. J. Soil Sci.* 45:431-438.
- Malher, R.J., F.T. Bingham, et A.L. Page. 1978. Cadmium-enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: effect on yield and cadmium uptake by lettuce and chard. *J. Environ. Qual.* 7:274-281.

- Malher, R.J., F.T. Bingham, A.L. Page, et J.A. Ryan. 1982. Cadmium-enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: effect on soil and nutrition of lettuce, corn, tomato, and swiss chard. *J. Environ. Qual.* 11, 4:694-700.
- Marshner, H., V. Romheld, et I. Cakmak. 1987. Root-induced changes of nutrient availability in the rhizosphere. *J. Plant nutrition* 10, 9-16:1175-1184.
- Marshner, H., V. Romheld, W.J. Horst, et Martin P. 1986. Root-induced changes in the rhizosphere : Importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 149:441-456.
- McBride, M.B. 1980. Chemisorption of Cd on calcite surfaces. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 1:26-33.
- McBride, M.B., L.D. Tyler, et D.A. Hovde. 1981. Cadmium adsorption by soils and uptake by plants as affected by soils chemical properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45, 4:739-744.
- McBride, M.B., S. Sauvé et W.H. Hendershot. 1997. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Europ. J. Soil Sci.* 48:337-346.
- McGrath, S.P., Z.G. Chen, et F.J. Zhao. 1997. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant and Soil* 188:153-159.
- McGrath, S.P. 1998. Phytoextraction for soil remediation. p 261-287. *In* R. Brooks (ed.) *Plants that hyperaccumulate heavy metals*, Palmerton North, New Zealand.
- McLaren, R.G., C.A. Backes, A.W. Rate, et R.S. Swift. 1998. Cadmium and cobalt desorption kinetics from soil clays: effect of sorption period. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62:332-337.
- McLaughlin, M.J. 1998. Soil-root interface : physicochemical processes. *SSSA, Soil Chemistry and Ecosystem Health, Special publication* 52:233-277.
- McLaughlin, M.J., N.A. Maier, G.E. Rayment, L.A. Sparrow, G. Berg, A. McKay, P. Milham, R.H. Merry, et M.K. Smart. 1997. Cadmium in Australian potato tubers and soils. *J. Environ. Qual.* 26:1644-1649.

McLaughlin, M.J., E. Smolders, et R. Merckx. 1998. Soil-root interface : Physicochemical processes. p.233-277. *In* P.M. Huang (ed.) Soil chemistry and ecosystem health. Soil Sci. Soc. Am. J. Spec. Publ. 52. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, WI.

McLaughlin, M.J., E. Smolders, et R. Merckx, et a. Maes. 1997. Plant uptake of cadmium and zinc in chelator-buffered nutrient solution depends on ligand type. P 113-118. *In* Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment. Eds. Ando T., K. Fujita, T. Mae, H. Matsumoto, S. Mori et J. Sekija. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.

McLaughlin, M.J., K.G. Tiller, T.A. Beech et M.K. Smart. 1994. Soil salinity causes elevated cadmium concentrations in field-grown potato tubers. *J. Environ. Qual.*23:1013-1018.

McLaughlin, M.J., K.G. Tiller et M.K. Smart. 1997. Speciation of cadmium in soil solutions of saline:sodic soils and relationship with cadmium concentrations in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Aust. J. Soil Res.* 35:183-198.

Mench, M., J. Tancogne, A. Gomez, et C. Juste. 1989. Cadmium bioavailability to *Nicotina Tabacum* L., *Nicotiana rustica* L., and *Zea mays* L. Grown in soil amended or not amended with cadmium nitrate. *Biol. Fertil. Soils* 8:48-53.

Mench, M., J. Vangronsveld, V. Didier, et H. Clijsters. 1994. Evaluation of metal mobility, plant availability and immobilization by chemical agents in a limed-silty soil. *Environnemental Pollution* 86:279-286.

Merian, E. 1984. Introduction on environmental chemistry and global cycles of chromium, nickel, cobalt, beryllium, arsenic, cadmium and selenium, and their derivatives. *Toxicol. Environ. Chem.* 8:9-38.

Miller, W.P., D.C. Martens, et L.W. Zelazny. 1985. Effect of sequence in extraction of trace metals from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50:598-601.

Mitchell, G.A., F.T. Bingham, et A.L. Page. 1978. Yield and metal composition of lettuce and wheat grown on soils amended with sewage sludge enriched with cadmium, copper, nickel and zinc. *J. Environ. Qual.* 7, 2:165-171.

Morel, C., et C. Plenchette. 1994. Is the isotopically exchangeable P of a loamy soil the available P to growing plant ? *Plant and Soil* 158:287-297.

- Morel, J.L. 1985. Contribution à l'étude du transfert des métaux lourds dans le système sol-plante : le rôle des mucilages racinaires. Thèse de doctorat d'Etat Sciences, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 155 p.
- Morel, J.L. 1997. Bioavailability of Trace Elements to Terrestrial Plants. p.142-176. In J. Tarradellas, G. Bitton, D. Rossel (ed.) Soil Ecotoxicology. Lewis Publishers, New York.
- Morel, J.L., M. Mench, et A. Guckert. 1986. Measurement of Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} binding with mucilage exsudates from maize (*Zea mays* L.) roots. Biol. Fertil. Soils 2:29-34.
- Mullins, G.L. et L.E. Sommers. 1986. Characterization of cadmium and zinc in four soils treated with sewage sludge. J. Environ. Qual. 15, 4 :382-387.
- Mullins, G.L., L.E. Sommers, et T.L. Housley. 1986. Metal speciation in xylem and phloem exudates. Plant and Soil 96:377-391.
- Nakhone, L.N., et S.D. Young. 1993. The significance of (radio-) labile cadmium pools in soil. Environmental Pollution 95:93-103.
- Nanda Kumar, P.B.A., V. Viatcheslav Dushenko, H. Motto, et I. Raskin. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. Envir. Sci. Technol. 29, 5:1232-1238.
- Novozamsky, I., T.M. Lexmond, et V.J.G. Houba. 1993. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals in plants. Intern. J. Environ. Chem. 51:45-58.
- Nriagu, J.O. 1979. Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. Nature 279:409-411.
- O'Connor, G.A. 1988. Use and misuse of the DTPA soil test. J. Environ. Qual. 17:715-718.
- Oliver D.P., R. Hannam, K.G. Tiller, N.S. Wilhem, R.H.Merry et G.D. Cozens. 1994. The effects of zinc fertilization on cadmium concentration in wheat grain. J. Environ. Qual. 23:705-711.
- Pacyna, J.M. 1987. p.69-87. In T.C. Hutchinson et K.M. Meema (ed.) Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment, Scope 31, John Wiley and Sons Publisher, Chichester.

Page, A.L. 1981. Co-recycling of sewage sludge and fly ash: heavy metal uptake by crop, cadmium in soils and its accumulation by food crops, an overview of acid deposition and its impact on soils. p.185, 206, 339. *In* Proceedings of the international Conference "Heavy Metals in the Environment", Amsterdam, September 1981, CEP Consultants Ltd., Edinburgh.

Page, A.L., et A.C. Chang. 1978. Trace elements impact on plants during cropland disposal of sewage sludges. p.91-96. *In* Proceedings of the Fifth National conference on Acceptable Sludge Disposal Techniques. Information Transfert inc., Rockville, Maryland.

Pandeya, S.B., A.K. Singh, et P. Jha. 1998. Labile pool of cadmium in sludge-treated soils. *Plant and Soil* 203:1-13.

Panichev, N., A. Djakov, et K. Kvitko. 2000. Biotransformation of chemical forms of cadmium by bacteria *Pseudomonas* sp. p.59. *In* Proceedings of the 5th international Symposium on Environmental Geochemistry, Cape Town, april 2000.

Pepper, I.L., D.F. Bezdicek, A.S. Baker, et J.M. Sims. 1983. Silage corn uptake of sludge-applied zinc and cadmium as affected by soil pH. *J. Environ. Qual.* 12, 2:270-275.

Perronnet, K. 2000. Flux du cadmium et du zinc prélevé par *T. caerulescens* dans le système sol-plante hyperaccumulatrice (Abstract in English). Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 140 p.

Probert, M.E., et S. Larsen. 1972. The kinetics of heterogeneous isotopic exchange. *J. Soil Sci.* 23:76-81.

Robinson, N.J. 1990. Metal-Binding Polypeptids in Plants p.6:75-92. *In* A.J. Shaw (ed.) Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary aspects. Boca Raton, Fl., USA.

Rocca, J. et F. Pomares. 1991. Prediction of available heavy metals by six chemical extractants in a sewage sludge-amended Soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 22, 19 et 20:2119-2136.

Ross, S.M. 1994. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. p.27-62. *In* S.M. Ross (ed.) Toxic Metals in Soil-Plant Systems. John Wiley and Sons Publishers, New York.

Rule, J.H., et E.R. Graham. 1976. Soil labile pools of manganese, iron, and zinc as measured by plant uptake and DTPA equilibrium. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40:853-857.

Russell, R.S., J.B. Rickson, et S.N. Adams. 1954. Isotope equilibrium between phosphate in soil and their significance in the assessment of fertility by tracer method. *J. Soil Sci.* 67:1-16.

Salt, D.E., R.C. Prince, I.J. Pickering, et I. Raskin. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *Plant Physiol.* 109:1427-1433.

Sameni, A.M., M. Mafloun, et A. Bassiri. 1987. Responses of tomato and sweet corn to different cadmium levels in calcareous soils. *J. of Horticul. Sci.* 62:227-232.

Sanchez-Martin, M.J., et M. Sanchez-Camazano. 1993. Adsorption and mobility as a consequence of sewage sludge disposal. *J. Environ. Qual.* 22, 4:732-737.

Schwartz, C. 1997. Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens* (Abstract in English). Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 175 p.

Schwartz, C., K.D. Fetzer, J. Kubiniok, et J.L. Morel. 2000. Availability of pollutants in garden soils. p.485-490. *In Proceedings of the SUTMA Conference, Essen.*

Schwartz, C., K.D. Fetzer et J.L. Morel. 1997. Factors of contamination of garden soils by heavy metals. CD-rom *In R. Prost (ed.) Proceedings of the 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris.*

Schwartz, C., J.L. Morel, S. Saumier, S.N. Whiting, et A.J.M. Baker. 1999. Root development of the zinc-hyperaccumulator plant *Thlaspi caerulescens* as affected by metal origin, content and localization in soil. *Plant and Soil* 208:103-115.

Shallari, S. 1997. Disponibilité du nickel du sol pour l'hyperaccumulateur *Alyssum murale* (Abstract in English). Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 105 p.

Shallari, S., G. Echevarria, et J.L. Morel. 1999. Where does the hyperaccumulator *Alyssum murale* take up its nickel from? p.9. *In Proceedings of 3rd International Conference on Serpentine Ecology, Kruger National Park, South Africa.*

Sinaj, S., F. Mächler et E. Frossard. 1999. Assessment of isotopically exchangeable zinc in polluted and nonpolluted soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1618-1625.

- Smolders, E., K. Brans, A. Foldi, et R. Merckx. 1999. Cadmium fixation in soils measured by isotopic dilution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63 :78-85.
- Smolders, E., et M.J. McLaughlin. 1996a. Chloride increases cadmium uptake in Swiss chard in a resin-buffered nutrient solution. *SSSAJ* 60:1443-1447.
- Smolders, E., et M.J. McLaughlin. 1996b. Effetc of Cl on Cd uptake by swiss chard in nutrient solution. *SSSAJ* 60:1443-1447.
- Smolders, E., K. van den Brande et R. Merckx. 1997. The soil solution composition as a predictor for metal availability to spinach: a comparative study using ^{137}Cs , ^{85}Sr , ^{109}Cd , ^{65}Zn and ^{152}Eu . p 487-492. *In Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment*. Eds. Ando T., K. Fujita, T. Mae, H. Matsumoto, S. Mori et J. Sekija. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Sobanska, S. 1999. Etude de la spéciation du plomb et du zinc dans des poussières industrielles et dans un sol contaminé. Thèse de doctorat de l'Université des Sciences et Technologie de Lille, 152 p.
- Sposito, G., et F.T. Bingham. 1981. Computer modeling of trace metal speciation in soil solutions: correlation with trace metal uptake by higher plants. *J. Plant Nutr.* 3:35-49.
- Sposito, G., L.J. Lund, et A.C. Chang. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field from soils amended with sewage sludge. I- Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46:260-264.
- Street, J.J, W.L Lindsay, et B.R. Sabey. 1977. Solubility and plant uptake of cadmium in soils amended with cadmium and sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 6, 1:72-77.
- Street, J.J., B.R. Sabey, et W.L. Lindsay. 1978. Influence of pH, phosphorus, cadmium, sewage sludge, and incubation time on the solubility and plant uptake of cadmium. *J. Environ. Qual.* 7:286-290.
- Swift, R.S., et R.G. McLaren. 1991. Micronutrients adsorption by soils and soils colloids. p.225-249. *In G.H. Bolt et al. (ed.) Interactions at the soil colloid-soil solution interface*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Tessier, A., P.G.C. Campbell, et M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51,7:844-851.

- Tiller, K.G., J.L. Honeysett, et M.P.C. De Vries. 1972. Soil zinc and its uptake by plants. I. Isotopic exchange equilibria and the application of tracer techniques. *Aust. J. Soil Res.* 10:151-164.
- Tiller, K.G. 1996. Soil contamination issues: past, present and future, a personal perspective. p.1-27. *In* R. Naidu *et al.* (ed.), *Contaminants and the Soil environment in the Australasia-Pacific Region*, Kluwer Academic Publishers, Great Britain.
- Tran, T.S., J.C. Fardeau, et M. Giroux. 1988. Effects of soil properties on plant-available phosphorus determined by the isotopic dilution phosphorus-32 method. *Soil Sci. Soc. Am.J.* 52:1383-1390.
- Turner, A.P. 1994. The responses of plants to heavy metals. p.153-188. *In* S.M. Ross (ed.), *Toxic Metals in Soil-Plant Systems*, John Wiley and Sons Publishers, New York.
- Tyler, L.D., et M.B. McBride. 1982. Influence of Ca, pH and humic acid on Cd uptake. *Plant and Soil* 64:259-262.
- Uren, N.C., et H.M. Reisenauer. 1988. The role of root exsudates in nutrient acquisition. *Adva. Plant Nutr.* 3:79-114.
- Vazquez, M.D. et J. Barcelo. 1992. Localisation of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens*, a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. *J. Plant Physiol.* 140:350-355.
- Vazquez, M.D., C. Poschenrieder et J. Barcelo. 1989. Pulvinus structure and leaf abscission in cadmium-treated bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Canadian Journal of Botany* 67:2756-2764.
- Vigue, G.T., I.L. Pepper, et D.F. Bezdicek. 1981. The effect of Cd on nodulation and $N_2(C_2H_2)$ -fixation by dry beans. *J. Environ. Qual.* 10, 1:87-90.
- Wagner, G.J., et R. Yeargan. 1986. Variation in cadmium accumulation potential and tissue distribution of cadmium in tobacco. *Plant Physiol.* 82:274-279.
- Weissenhorn, I., C. Leyval, et J. Berthelin. 1995. Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza, in a soil polluted by atmosphere deposition from a smelter. *Biol. Fertil. Soils* 19:22-28.
- White M.C., R.I. Chaney, et A.M. Decker. 1981. Metal complexation in xylem fluid. III. Electrophoretic evidence. *Plant Physiology* 67:311-315.

Références bibliographiques

Wu, Q.T. 1989. Biodisponibilité du cadmium dans les systèmes sol-plante. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 86 p.

Wu, Q.T., J.L. Morel, et A. Guckert. 1989. Influence de la forme de l'azote combiné sur le transfert sol-plante du cadmium. C. R. Acad. Sci., Paris, 309, 3:215-220.

Young, S.D., A. Tye, A. Cartensen, L. Resende, et N. Crout. 2000. Methods for determining labile cadmium and zinc in soil. Eur. J. Soil Sci. 51:129-136.

Lexique

AS : activité spécifique d'un élément

CI_P : composition isotopique du cadmium dans les parties aériennes d'une plante

CI_S : composition isotopique du cadmium dans une solution de sol

CI_{SE} : composition isotopique du cadmium dans un extrait de sol (extraction chimique)

E : quantité de cadmium isotopiquement échangeable, ou labile, dans une terre, mesurée par équilibre chimique

E(t) : quantité de cadmium isotopiquement échangeable en fonction du temps

E(0-1 min) : quantité de cadmium isotopiquement échangeable entre 0 et 1 minute

L : quantité de cadmium isotopiquement échangeable, ou labile, dans une terre, mesurée par prélèvement par la plante

S0 : terre 0

S1 : terre 1

Etc.

r_t/R : rapport de la radioactivité restant en solution après une minute d'échange, lors de la réalisation d'une cinétique d'échange isotopique. L'inverse de cette valeur renseigne sur le pouvoir tampon de la terre étudiée

n : pente de la courbe décrivant la décroissance de la radioactivité en solution lors d'une cinétique d'échange isotopique

C_{Cd} : quantité de cadmium total dans une solution de sol, en mg Cd L⁻¹ solution

Cd_S : quantité de cadmium total dans une solution de sol, en mg Cd kg⁻¹ terre

Cd_P : quantité de cadmium total dans les parties aériennes d'une plante, en mg Cd kg⁻¹ terre

Cd_{SE} : quantité de cadmium total dans une solution d'extraction, en mg Cd kg⁻¹ terre

Cd_T : cadmium total dans la terre, en mg Cd kg⁻¹ terre

CAC : capacité au champ mesuré à 0,01 MPa.

Annexe 1 : Photographies



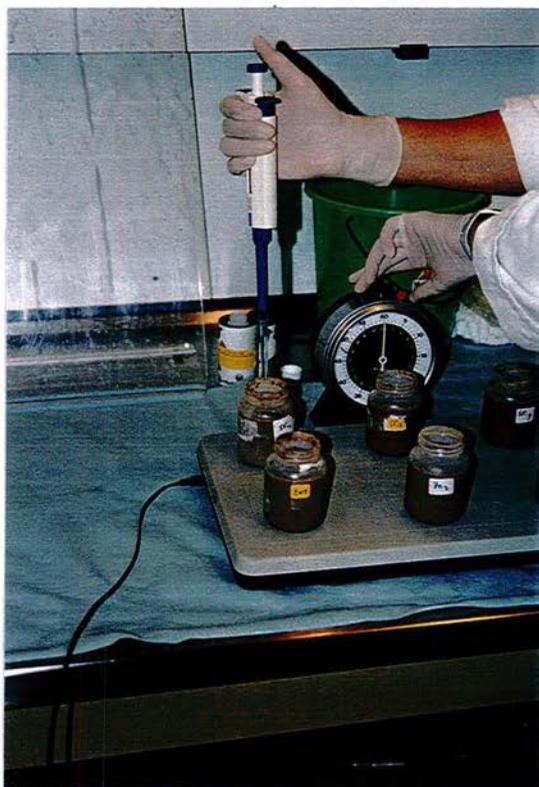
Photographie 1 : Cultures du ray grass, de la laitue et *Thlaspi caerulescens* en vases de végétation pour les terres S0 à S3.



Photographie 2 : Prélèvement de la solution du sol par l'échantillonneur SMS dans un milieu cultivé.



Photographie 3 : Prélèvement de la solution du sol par l'échantillonneur SMS dans terre nue.



Photographie 4 : Injection de $^{109}\text{Cd}^{2+}$ dans la solution d'un système terre-eau en agitation, lors de la réalisation de cinétiques d'échange isotopique.



Photographie 5 : L'hyperaccumulatrice de Cd et Zn *Thlaspi caerulescens*.

Annexe 2 : Analyse chimique des solutions de terres carbonatées

Tableau 32: Concentrations en divers éléments dans les solutions de sol filtrées à 0,2 ou 0,025 μm et préparées à partir d'un système terre-eau 1 :10.

Concentration en solution	S0		S1		S2		S3	
	0,2 μm	0,025 μm						
Ca mg L ⁻¹	29,5	27,7	25,5	24,3	25,9	24,2	20,2	18,7
Mg mg L ⁻¹	1,1	1,1	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,8
K mg L ⁻¹	13,7	13,8	2,1	2,9	2,9	3,2	7,8	7,9
Na mg L ⁻¹	4,3	2,4	3,4	1,3	3,9	2,1	3,3	1,3
Al mg L ⁻¹	<0,1	0,3	<0,1	1,2	<0,1	0,3	<0,1	1,3
Cu mg L ⁻¹	0	<0,05	0	<0,05	0	<0,005	0	0
Fe mg L ⁻¹	<0,05	0,3	<0,05	0,4	<0,05	0,4	<0,05	1,5
Mn	<0,05	0	<0,005	0	<0,005	0	<0,005	0
P mg L ⁻¹	5,2	4,9	2,8	2,2	2	2,2	3,6	3,5
Zn mg L ⁻¹	0	0	0	0	<0,025	0	0,1	0,2
Pb mg L ⁻¹	0	<0,002	0	0	0	0	0	0,1
Cd $\mu\text{g L}^{-1}$	0,2	0,1	0,6	1,1	1,1	1,4	2	3,1
Si mg L ⁻¹	2,6	3	4,1	7,1	4,1	4,9	4,2	7,3
S mg L ⁻¹	2,6	8,1	2	6,3	1,8	6	2	7
Cl mg L ⁻¹	1,5	0,8	0,9	1	2,5	1,9	1,7	1,2
N (NO ₃) mg L ⁻¹	9,7	10,3	5,2	5,3	5,2	5,6	3,9	3,7
N (NH ₄) mg L ⁻¹	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C org mg L ⁻¹	38,8	19,5	17,7	13,7	27,2	11,4	23,4	11,5
pH	7,7	7,4	7,5	7,5	7,7	7,5	7,5	7,5

Annexe 3 : Zn, Pb, Ca et K dans les végétaux

Tableau 33 : Teneurs et prélèvement de Zn par le ray grass, terres S0 à S3

Durée	Terre	Zn (mg kg ⁻¹ MS)	Zn (µg kg ⁻¹ terre)
1 mois	S0	41,5 (19)	202 (91)
	S1	134 (15)	534 (64)
	S2	174 (16)	680 (62)
	S3	332 (52)	1288 (230)
Entre 2 et 3 mois	S0	22 (1)	26 (1)
	S1	84 (5)	87 (8)
	S2	154 (16)	124 (11)
	S3	318 (57)	281 (49)

() : intervalle de confiance

Tableau 34 : Teneurs et prélèvement de Pb par le ray grass, terres S0 à S3

Durée	Terre	Pb (mg kg ⁻¹ MS)	Pb (µg kg ⁻¹ terre)
1 mois	S0	1,00 (0,10)	4,9 (0,4)
	S1	2,31 (0,27)	9,2 (1,1)
	S2	4,21 (0,23)	16,5 (9)
	S3	10,81 (1,64)	418 (7)
Entre 2 et 3 mois	S0	0,77 (0,06)	0,9 (0,1)
	S1	1,28 (0,26)	1,13 (0,3)
	S2	3,77 (0,41)	3,0 (0,3)
	S3	6,02 (0,98)	5,3 (0,9)

() : intervalle de confiance

Tableau 35 : Teneurs et prélèvement de Zn par la laitue, terres S0 à S3

Durée	Terre	Zn (mg kg ⁻¹ MS)	Zn (µg kg ⁻¹ terre)
2 mois	S0	14 (2)	38 (5)
	S1	22 (3)	45 (11)
	S2	27 (4)	35 (6)
	S3	39 (3)	62 (6)

() : intervalle de confiance

Tableau 36 : Teneurs et prélèvement de Pb par la laitue, terres S0 à S3

Durée	Terre	Pb (mg kg ⁻¹ MS)	Pb (µg kg ⁻¹ terre)
2 mois	S0	0,95 (0,13)	2,6 (0,4)
	S1	2,52 (0,78)	5,2 (1,6)
	S2	2,74 (0,40)	3,4 (0,5)
	S3	4,12 (1,46)	63 (1,5)

() : intervalle de confiance

Tableau 37 : Teneurs et prélèvement de Zn par *T. caerulescens*, terres S0 à S3

Durée	Terre	Zn (mg kg ⁻¹ MS)	Zn (µg kg ⁻¹ terre)
1 mois	S0	398 (52)	97 (55)
	S1	3 676 (542)	568 (459)
	S2	3 474 (626)	1 019 (866)
	S3	5 297 (752)	2 109 (1 069)
3 mois	S0	406 (82)	1 318 (238)
	S1	3 690 (690)	9 476 (2 691)
	S2	1 640,8 (139,8)	4 445 (385)
	S3	3 308,0 (582,0)	9 255 (4 845)

() : intervalle de confiance

Tableau 38 : Teneurs et prélèvement de Pb par *T. caeruleus*, terres S0 à S3

Durée	Terre	Pb (mg kg ⁻¹ MS)	Pb (µg kg ⁻¹ terre)
1 mois	S0	<2,9	0,2 (0,01)
	S1	11,1 (4,8)	0,9 (0,3)
	S2	22,4 (3,5)	2,1 (0,3)
	S3	15,5 (5,0)	1,7 (0,7)
3 mois	S0	0,5 (0)	1,6 (2)
	S1	2,5 (1,2)	7,5 (3,6)
	S2	4 (1,2)	10,7 (3,2)
	S3	9,4 (5,3)	18,3 (8,7)

() : intervalle de confiance

Tableau 39 : Prélèvements de Zn, Pb et Ca par les végétaux, terre S4.

Plante	Durée	Zn	Pb	Ca
		µg kg ⁻¹ terre	µg kg ⁻¹ terre	mg kg ⁻¹ terre
Ray grass	1 mois	260 ± 121	11 ± 4	5 ± 2
Laitue		99 ± 13	7 ± 1	11 ± 2
<i>T. caeruleus</i>		(21)	(0,4)	(0,5)
Ray grass	3 mois	252 ± 59	8,8 ± 2	6,3 ± 0,8
Laitue		427 ± 33	14 ± 2	48 ± 9
<i>T. caeruleus</i>		55 ± 13	2 ± 0,6	0,7 ± 0,1

Moyenne ± intervalle de confiance, 4 répétitions.

Tableau 40 : Prélèvements de Zn, Pb, Ca et K par les végétaux, terre S5.

Plante	Durée	Zn	Pb	Ca	K
		µg kg ⁻¹ terre	µg kg ⁻¹ terre	mg kg ⁻¹ terre	mg kg ⁻¹ terre
Ray grass	1 mois	1511 ± 107	4 ± 0,7	3,1 ± 0,2	14,6 ± 1,2
<i>T. caeruleus</i>		513 ± 246	2,3 ± 1,1	0,45 ± 0,2	3,5 ± 1,8
Ray grass	3 mois	3224 ± 179	8,8 ± 0,9	6,4 ± 0,9	27,6 ± 2,3
<i>T. caeruleus</i>		6590 ± 1150	32 ± 7	6,5 ± 1,5	8,2 ± 1,4

Moyenne ± intervalle de confiance, 4 répétitions.

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Madame LEYVAL Corinne, Directeur de Recherches CNRS, Centre de Pédologie Biologique Vandoeuvre,

Monsieur Mc LAUGHLIN Mike, Docteur (PhD), CSIRO Land and Water, Glen Osmon (Australie),

Monsieur ROBERT Michel, Directeur de Recherches CNRS, INRA Versailles.

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Mademoiselle GERARD Emilie

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une thèse intitulée :

"Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par des méthodes isotopiques".

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : "SCIENCES AGRONOMIQUES"

Fait à Vandoeuvre le, 12 octobre 2000

Le Président de l'I.N.P.L.,

J. HARDY



Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

Résumé

La quantification du cadmium (Cd) phytodisponible des sols est essentielle à l'évaluation du risque de transfert de ce métal toxique vers les plantes. Des méthodes isotopiques (cinétiques d'échange isotopique (CEI), marquage isotopique) couplées à la culture de végétaux, ont été mises en œuvre dans le but d'identifier l'origine du Cd prélevé par la plante et, sur le plan pratique, de définir des méthodes chimiques d'évaluation du Cd phytodisponible. Le ray grass (*Lolium perenne* L.), la laitue (*Lactuca sativa* L.) et l'hyperaccumulatrice de Cd *Thlaspi caerulescens* Presl. & C. Presl. ont été choisis pour leur prélèvements variés en Cd. Les terres retenues sont polluées par du Cd d'origine industrielle, elles ont des pH différents et représentent une gamme de concentration en Cd total.

Les résultats montrent que, dans une terre à tendance acide, toutes les plantes ont accès à un même compartiment, le Cd²⁺ isotopiquement échangeable. C'est aussi le cas dans des terres carbonatées pour le ray grass mais la laitue et *T. caerulescens* ont alors accès à une fraction plus importante et non isotopiquement échangeable du Cd représentant 16 à 52 % des quantités phytodisponibles. La majorité du Cd dans une terre à tendance acide est rapidement isotopiquement échangeable (87 % en 21 jours). Dans les terres carbonatées, le Cd se répartit en deux fractions, l'une très rapidement échangeable et l'autre non échangeable après 21 jours (21 à 70 % du Cd total), en relation avec les faibles quantités de Cd labile dans les poussières à l'origine de la contamination. La mesure en solution de la composition isotopique du Cd²⁺ et les CEI permettent de quantifier le Cd phytodisponible dans les sols, mais restent peu utilisables en routine. La plupart des réactifs chimiques courants testés (CaCl₂, DTPA etc.) rendent compte du Cd phytodisponible des sols. Cependant, pour les terres carbonatées, le réactif doit parfois être choisi en fonction de la plante.

Assessment of phytoavailable cadmium in soils using isotopic methods

The quantification of phytoavailable Cd in soils is necessary to determine the transfer risk of this toxic element to plants. Isotopic methods (isotopic exchange kinetics (IEK), isotopic dilution) were used to characterize the phytoavailable Cd and, practically, to select chemical methods for determining available Cd to plants. Rye grass (*Lolium perenne* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.) and the Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. Presl. & C. Presl. were selected as test plants because of their wide range of Cd uptake ability. The chosen soils had different pH and displayed a Cd-contamination gradient due to the atmospheric deposition of industrial particles.

In the acidic soil, plants had access to the same metal pool, the one that was isotopically exchangeable with Cd²⁺. This was also the case for rye grass on the calcareous soils but there, lettuce and *T. caerulescens* accessed a bigger and non-isotopically exchangeable pool that accounted for 16 to 52 % of the plant available Cd. Most of the Cd was isotopically exchangeable in a short time in the acidic soil (87 % within 21 days). In the calcareous soils two pools were identified, one pool was isotopically exchangeable in a very short time, and the other one was not exchangeable after 21 days (21 to 70 % of the total Cd). Actually, the quantities of labile Cd in the industrial particles which had contaminated these soils were very small. IEK methods and the measurement of the isotopic composition of Cd²⁺ in soil solutions allowed for the estimation of the phytoavailable Cd in soils, but cannot be commonly used. Most of the chemical extractants studied such as CaCl₂ or DTPA are suitable to assess the phytoavailable Cd. However, on calcareous soils, the choice of extractant needs to sometimes be modified in relation to the rate of Cd plant absorption.

Discipline : Sciences Agronomique.

Mots clés : cadmium - éléments en trace - transfert - sol - plante - biodisponibilité - pollution - risque

Projet financé par la Région Nord - Pas de Calais et l'INRA.

Laboratoire Sols et Environnement, ENSAIA/INRA-INPL, BP 172, 2 av. de la Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-Lès Nancy cedex. France.