

## Validation interlaboratoire d'un nouveau test végétal normalisé ISO pour mesurer la phytodisponibilité environnementale des éléments traces

**BRAVIN Matthieu N.<sup>1</sup>, LEMAL Laure<sup>2</sup>, CAZEVIEILLE Patrick<sup>2</sup>, CHEVASSUS-ROSSET Claire<sup>2</sup>, MONTES Mélanie<sup>2</sup>, MARGER Jean-Luc<sup>2</sup>, ARNAL Didier<sup>3</sup>, HINSINGER Philippe<sup>3</sup> et DOELSCH Emmanuel<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> : CIRAD, UPR Recyclage et risque, Saint-Denis de la Réunion, matthieu.bravin@cirad.fr

<sup>2</sup> : CIRAD, UPR Recyclage et risque, Montpellier

<sup>3</sup> : INRA, UMR Eco&Sols, Montpellier

<sup>4</sup> : CIRAD, UPR Recyclage et risque, Aix-en-Provence

### Introduction

Les travaux du groupe de travail de l'ISO « Biodisponibilité des contaminants dans les sols » ont abouti en 2008 à un consensus international sur le concept de biodisponibilité et ses applications méthodologiques (ISO 17402). En distinguant la disponibilité environnementale, la biodisponibilité environnementale et la biodisponibilité toxicologique, cette norme a proposé un état de l'art sur les méthodes actuellement normalisées pour la mesure ou l'estimation de la biodisponibilité des contaminants dans les sols.

Pour ce qui concerne l'évaluation de la biodisponibilité des éléments traces pour les plantes (i.e. phytodisponibilité), de nombreuses méthodes physico-chimiques permettent de mesurer la disponibilité environnementale tandis que quelques méthodes biologiques (i.e. biotests) sont également proposées pour mesurer la phytodisponibilité toxicologique (i.e. phytotoxicité). En revanche, aucun biotest (ISO ou OCDE) n'est actuellement normalisé pour évaluer la phytodisponibilité environnementale, i.e. le transfert depuis le sol et la bioaccumulation dans la plante des éléments transferts. Pour pallier à ce manque, un nouveau biotest, le RHIZOtest, a été développé dans le cadre des projets NormaRHIZO (ANR, 2010-2013) et RHIZOlab (ADEME, 2012) dans l'optique de sa normalisation ISO.

La présente communication a pour objectif de présenter la validation du RHIZOtest par un test interlaboratoire international qui a constitué l'ultime étape de la procédure de normalisation.

### Matériel et méthodes

Dans sa version normalisée (ISO/DIS 16198), le RHIZOtest est déployé en deux étapes successives (Fig. 1). Durant la première étape (i.e. pré-culture), les semences sont mises à germer puis les plantules sont cultivées en hydroponie pendant deux semaines afin de permettre le développement d'une biomasse suffisante ainsi que d'un tapis racinaire plan, dense et homogène recouvrant la totalité de la toile en polyamide qui le sépare de la solution nutritive. Durant la seconde étape (i.e. culture test), le tapis racinaire est mis en contact pendant huit jours avec une couche de sol de 6 mm d'épaisseur, le tapis racinaire restant physiquement séparé du sol par la toile en polyamide. Les plantes sont enfin récoltées et la concentration en éléments traces accumulés dans les plantes est mesurée.

L'essai interlaboratoire réalisé en 2012 a consisté à faire utiliser le RHIZOtest par huit laboratoires pour cultiver trois espèces végétales (chou : *Brassica oleracea* ; fétuque : *Festuca arundinacea* ; tomate : *Lycopersicon esculentum*) sur quatre sols présentant des propriétés physico-chimiques et des niveaux de contamination variés (Tab. 1). Les éléments traces mesurés dans la plante ont été : As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn. Les paramètres biologiques évalués ont été la concentration en éléments traces dans les parties aériennes et racinaires ainsi que le flux de prélèvement de chaque élément trace par la plante entière. La répétabilité (i.e. variabilité intra-laboratoire) et la reproductibilité (i.e. variabilité inter-laboratoire) de chaque paramètre biologique ont été déterminées d'après la norme ISO 5275-2.

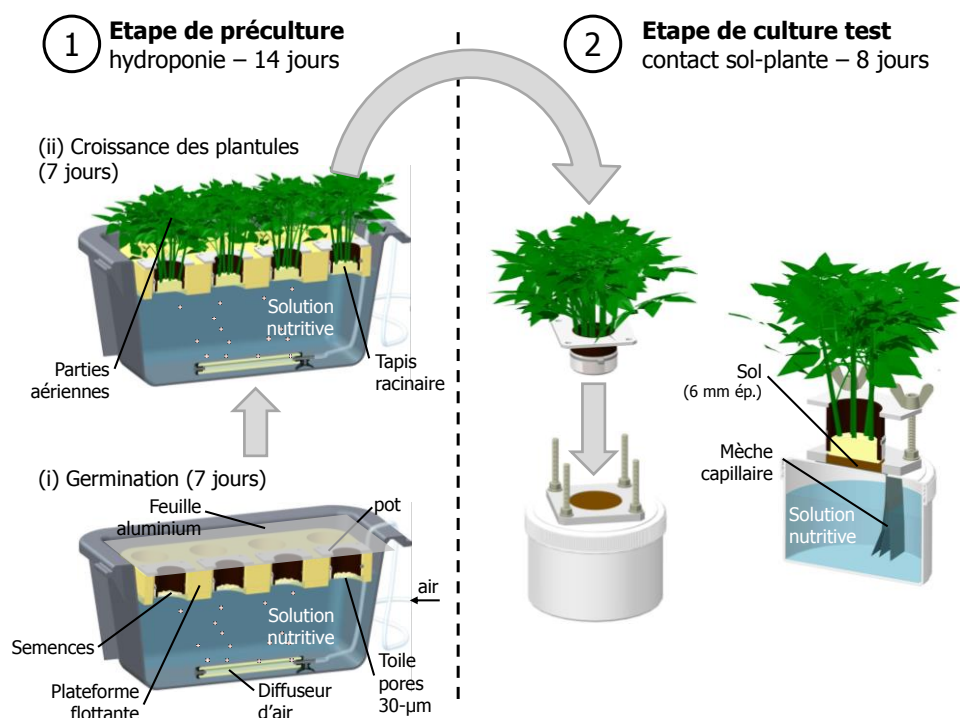


Fig. 1. Procédure expérimentale du RHIZOtest en deux étapes (préculture et culture test)

## Résultats et discussion

Sur près de 3500 données obtenues pour chaque paramètre biologique mesuré, les flux de prélèvements ont présenté un pourcentage de valeurs aberrantes (5 %) deux fois inférieur à celui présenté par les concentrations. La distribution des valeurs aberrantes n'a pas pu être clairement reliée à un laboratoire, à un sol ou un élément trace particulier. Ces résultats tendent à montrer que la reproductibilité et la répétabilité du RHIZOtest sont bonnes, en particulier pour la mesure de flux de prélèvement.

Le coefficient de variation moyen des mesures de concentrations et de flux de prélèvement ont été comprises entre 22 et 32 % pour la répétabilité et entre 47 et 61 % pour la reproductibilité. Les plus forts coefficients de variation ont été obtenus pour Pb, en lien avec de possibles problèmes de contamination d'échantillons lors de l'analyse.

Enfin, une méthode statistique de classification des sols a été mise en œuvre pour chaque laboratoire sur les flux de prélèvement. Sur les huit laboratoires, sept ont classés les sols dans le même ordre, i.e. sol 4 > sol 3 > sol 1 > sol 2, alors que le huitième laboratoire a seulement inversé les sols 1 et 2. Ainsi, ce résultat met en évidence la capacité du RHIZOtest à discriminer la phytodisponibilité des éléments traces entre différents sols.

Tab. 1. Principales propriétés physico-chimiques des quatre sols utilisés au cours du test interlaboratoire

	Texture			pH <sub>eau</sub>	Corg g kg <sup>-1</sup>	Concentrations totales en élément trace						
	S g kg <sup>-1</sup>	L g kg <sup>-1</sup>	A g kg <sup>-1</sup>			As	Cd	Cr	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Ni	Pb	Zn
Sol 1	740	102	158	7,7	13	14	1,7	90	98	32	163	432
Sol 2	561	322	117	6,2	13	24	0,5	33	453	14	215	74
Sol 3	550	337	113	5,9	25	10	4,2	38	24	12	590	429
Sol 4	527	311	162	6,7	41	203	100	109	388	131	131 340	1 172

## Conclusion

Fort de cette validation interlaboratoire, la version finale (FDIS) de la norme décrivant la méthode RHIZOtest a été soumise en février 2014 et devrait être publiée dans le courant de l'année.