Réhabilitation des sols pollués en éléments tracés par des amendements minéraux : faisabilité et durabilité d'après la mobilité des éléments et la phytotoxicité du sol

Jolanda Boisson-Gruppen

▶ **To cite this version:**

Jolanda Boisson-Gruppen. Réhabilitation des sols pollués en éléments tracés par des amendements minéraux : faisabilité et durabilité d'après la mobilité des éléments et la phytotoxicité du sol. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Lorraine, 1999. Français. NNT : 1999INPL037N . tel-01750561

HAL Id: tel-01750561
https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01750561

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.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

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

136019044 2
93INPL037V

ACADEMIE DE NANCY-METZ

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

CD 1999 BOISSON-GRUPPEN J

THESE

présentée en vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'INPL

Spécialité Sciences Agronomiques

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

par Jolanda BOISSON-GRUPPEN

REHABILITATION DE SOLS POLLUES EN ELEMENTS TRACES PAR DES AMENDEMENTS MINERAUX.

Faisabilité et durabilité d'après la mobilité des éléments et la phytotoxicité du sol.

Soutenue le 9 avril 1999 à l'INPL devant le jury composé de :

Armand GUCKERT	Professeur, ENSAIA, Nancy	Président
Emmanuel FROSSARD	Professeur, ETHZ, Zürich, Suisse	Rapporteur
Alain MANCEAU	Directeur de Recherches, CNRS, Grenoble	Rapporteur
Pierre CHASSIN	Directeur de Recherches, INRA, Bordeaux	Examinateur
Michel MENCH	Chargé de Recherches, INRA, Bordeaux	Examinateur
Jaco VANGRONSVELD	Assistant Professeur, LUC, Hasselt, Belgique	Examinateur

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé à l'Unité d'Agronomie (Centre de Recherches INRA de Bordeaux) sous la direction de M. Pierre Chassin puis de M. Jean-Pierre Gaudillère, que je remercie pour m'avoir accueillie dans ce laboratoire. Je remercie doublement M. Pierre Chassin pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse.

Je remercie Armand Guckert (Professeur de l'ENSAIA, Nancy) pour avoir rendu possible cette thèse pour moi en France et pour avoir accepter d'être mon responsable d'école doctorale.

Je remercie tout particulièrement Michel Mench, qui a dirigé ce travail, pour ses conseils et son encouragement mais aussi pour m'avoir 'ouvert l'esprit' et pour m'avoir stimulée à collaborer avec des équipes extérieures à l'INRA de Bordeaux. J'ai une dette envers lui parce que le temps que j'ai pris pour lui apprendre quelques mots de néerlandais est négligeable par rapport aux investissements qu'il a fait tout au long de mon travail et surtout pendant la phase de rédaction.

Je remercie Alain Manceau (directeur de recherche au CNRS, Grenoble) de m'avoir transmis ses connaissances qui m'ont aidé à mieux comprendre ce qui ce passe dans ce système complexe nommé sol. Je le remercie également pour avoir accepté son rôle de rapporteur.

J'exprime ma reconnaissance à Emmanuel Frossard (Professeur de l'Institut für Pflanzenwissenschaften, Suisse) d'avoir accepté son rôle de rapporteur.

Je tiens à remercier Jaco Vangronsveld (Professeur de Limburg Universitair Centrum, Belgique) pour son aide scientifique, sa disponibilité et les visites aux sites pollués qui m'ont fait comprendre l'importance de notre projet de recherche. Le nom de Ann Ruttens, qui travaille dans le groupe de Jaco, paraît beaucoup dans ce mémoire. Je la remercie pour sa collaboration efficace, enthousiaste et amicale.

J'associe à ce travail Christian Morel pour m'avoir fait bénéficier de ses connaissances, mais aussi pour son aide technique, les nombreuses heures de discussion scientifique et sa patience quand je 'n'étais pas d'accord'.

Je souhaite aussi remercier Alain Gomez pour son enseignement technique sur le dosage de l'arsenic et Pierre Masson et Alain Vives pour les nombreuses analyses réalisées.

Je remercie également Olivier Donnard (Laboratoire de Chimie Bio-Inorganique et Environnement, Pau) pour m'avoir accueillie dans son laboratoire ainsi que Hervé Garraud, Corinne Casiot et Agnès Woller pour leur aide pendant la détermination de la spéciation de l'arsenic.

Merci à Jean-Claude Fardeau pour ses réflexions autour de la 'méthode Fardeau' et pour s'être plongé dans ses veilles notes.

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un programme de recherche européen intitulé : Stratégies pour la réhabilitation des sols pollués par des métaux : phytorémédiation, immobilisation et revégétalisation *in-situ* (PHYTOREHAB). Merci à Jos Verkleij, Henk Schat, Nathalie van Hoof, Niels van der Lelie, Tjarda de Koe, Jaco Vangronsveld, Ann Ruttens, Sirpa Kärenlampi, Arja Tervahauta, Merja Utriainen, Païvi Kopponen, Harrie Kokko et Michel Mench pour les moments de reflexion mais également pour les moments de détente inoubliables.

Nombreuses sont les autres personnes que je tiens à remercier : Sylvie B. et Gwenaelle pour leur aide pendant les jours sans fin de détermination de l'activité enzymatique ; Sylvie C. pour sa participation pendant 4 mois à l'étude en lysimètres ; Guy, Jean-Claude et Christian pour leur aide au bricolage (bravo pour les lysimètres!) ; Arnaud pour une nouvelle blague chaque jour ; Valérie pour son amitié et pour me remonter le moral ; Bernard pour sa disponibilité et ses conseils ; André pour les discussions intéressantes ; Sylvie E. et Laurence D. pour leur coup de main au moment crucial ; Céline et Laurence pour leur amitié et leur bonne humeur ; et enfin tous les membres de l'Unité Agronomie et les stagiaires pour leur gentillesse.

Enfin merci à Philippe pour m'avoir suivie sans hésitation quand je me suis lancée dans l'aventure de la thèse à Bordeaux, pour avoir supporté les dernières semaines durant lesquelles le seul sujet de conversation était l'arsenic et pour les maintes heures consacrées à franciser ma prose.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

SOMMAIRE 1
ABBREVIATIONS 5
DEFINITIONS 7

INTRODUCTION GENERALE 9

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE : ELEMENTS TRACES 13
1.1 GENERALITES 13
1.2 VOIES D'EXPOSITION DES ORGANISMES VIVANTS 15
1.3 DISTRIBUTION ET SPECIATION DES ELEMENTS TRACES DANS LE SOL 16
1.3.1 Caractéristiques chimiques et physico-chimiques des éléments traces 16
1.3.2 Spéciation dans la solution du sol 17
1.3.3 La phase solide et ses sites réactifs 18
1.3.4 Réactions déterminant la distribution sur la phase solide et la solution du sol 20
1.3.4.1 Altération minérale 20
1.3.4.2 Précipitation 20
1.3.4.3 Fixation par les surfaces minérales 21
1.3.4.4 Fixation par la matière organique 26
1.4 TRANSFERT SOL-PLANTE DES ELEMENTS TRACES 26
1.4.1 Processus impliqués dans le transfert sol-plante 26
1.4.2 Facteurs ayant un rôle important dans le transfert sol-plante 27
1.4.2.1 Nature et spéciation de l'élément 28
1.4.2.2 Plante 28
1.4.2.3 Sol 29
1.4.3 Evaluation de la disponibilité des éléments traces 32
1.4.3.1 Tests avec des plantes 32
1.4.3.2 Tests microbiologiques 33
1.4.3.3 Extractions sélectives 33
1.4.3.4 Etudes de sorption et de désorption 34
1.4.3.5 Cinétique d'échange isotopique 35
1.5 TOXICITE DES ELEMENTS TRACES 36
1.5.1 Toxicité chez l'homme 36
1.5.2 Toxicité chez les végétaux 38
1.5.2.1 Dommages membranaires 38
1.5.2.2 Inhibition d'enzymes et découplage de la phosphorylation 39
1.5.2.3 Mécanismes de défense 40
1.5.3 Evaluation de la phytotoxicité des sols pollués en éléments traces 41
1.6 REHABILITATION DES SOLS CONTAMINES 43
1.6.1 Résumé des techniques de réhabilitation 43
1.6.2 Immobilisation 45
1.6.3 Phytostabilisation 47

CHAPITRE 2. SITES, SOLS ET AMENDEMENTS 49
2.1 SITES ET SOLS POLLUES 49
2.1.1 Site de Overpelt (Belgique) 49
2.1.2 Site de Reppel (Belgique) 51
2.1.3 Site de Jales (Portugal) 52
2.2 SOLS DE REFERENCE 52
2.3 AMENDEMENTS MINERAUX 53
2.3.1 Composés à base de fer 54
2.3.1.1 Magnétite 54
2.3.1.2 Maghémite 54
2.3.1.3 Grenaille d'acier 55
2.3.2 Hydroxyapatite 55
2.3.3 Béringite 56

CHAPITRE 3. IMMOBILISATION DES ELEMENTS TRACES APRES DES AMENDEMENTS MINERAUX : EVALUATION PAR EXTRACTION 57
3.1 INTRODUCTION 57
3.2 MATERIELS ET METHODES 58
3.2.1 Mise à l'équilibre en vase de végétation 58
3.2.2 pH du sol 59
3.2.3 Extraction sélective 59
3.2.4 Concentration en éléments traces dans la solution 59
3.2.5 Analyses statistiques 60
3.3 RESULTATS 60
3.3.1 Mobilité dans les sols NT : corrélations entre extractabilité et paramètres du sol 60
3.3.2 Influence des amendements sur le pH du sol 61
3.3.3 Effet des amendements sur la mobilité des métaux et de l'arsenic 62
3.3.4 Effet reproductible pour les sols et les éléments traces 66
3.4 DISCUSSION 67
3.5 CONCLUSION 75

CHAPITRE 4. IMMOBILISATION DES ELEMENTS TRACES APRES DES AMENDEMENTS MINERAUX : EVALUATION PAR BIO-ESSAI 77
4.1 INTRODUCTION 77
4.2 MATERIELS ET METHODES 78
4.2.1 Culture des plantes 78
4.2.2 Détermination des paramètres indicateurs du développement 79
4.2.3 Détermination des activités enzymatiques dans les troisièmes feuilles et les racines 79
4.2.4 Dosage des protéines totales 80
4.2.5 Détermination de la composition minérale du maïs 80
4.2.6 Analyses statistiques 81
4.3 RESULTATS ET DISCUSSION 81
4.3.1 Concentration en éléments traces dans le maïs 81
4.3.1.1 Concentration en métaux traces 82

4.3.1.2 Concentration en arsenic 86
4.3.1.3 Conclusions 88
4.3.2 Concentration en éléments nutritifs dans le maïs 89
4.3.2.1 Concentration en Ca, P, Fe, K, Mg et Mn 89
4.3.2.2 Conclusions 93
4.3.3 Paramètres morphologiques, densité de chlorophylle et activités enzymatiques 93
4.3.3.1 Phytotoxicité des sols non-traités (NT) 94
4.3.3.2 Effet des amendements sur la phytotoxicité des sols 97
4.3.3.3 Conclusions 101
4.4 CONCLUSION DU CHAPITRE 102

CHAPITRE 5. DURABILITE DE L'IMMOBILISATION DE L'ARSENIC : LIXIVIATION ET TRANSFERT SOL-PLANTE 105
5.1 INTRODUCTION 105
5.2 MATERIELS ET METHODES 107
5.2.1 Sols et amendements 107
5.2.2 Dispositif de lysimètrie 107
5.2.3 Lixiviation 108
5.2.4 Culture des végétaux 109
5.2.5 Prélèvement de la solution du sol 110
5.2.6 Dosage de la concentration totale en arsenic 111
5.2.6.1 Lixiviat 111
5.2.6.2 Echantillons de végétaux 111
5.2.7 Dosage des différentes espèces chimiques d'arsenic (As^{V}, As^{III}, MMA et DMA) dans 112
5.3 RESULTATS ET DISCUSSION 113
5.3.1 Lixiviation 113
5.3.1.1 pH des lixiviats 113
5.3.1.2 Quantité de lixiviat 114
5.3.1.3 Concentration d'As dans le lixiviat 115
5.3.1.4 Lixiviation totale d'As 116
5.3.1.5 Conclusions 117
5.3.2 Spéciation de l'As dans la solution du sol 117
5.3.3 Croissance des plantes et accumulation des éléments nutritifs 119
5.3.4 Concentration en As dans la plante 120
5.3.4.1 Concentration en As dans le maïs lors de la première année 120
5.3.4.2 Concentration en As dans le maïs lors de la deuxième année 122
5.3.4.3 Concentration en As dans le radis 122
5.3.4.4 Transfert racines-parties aériennes d'As 124
5.3.4.5 Conclusions 125
5.4 CONCLUSION DU CHAPITRE 125

CHAPITRE 6. ECHANGEABILITE DES IONS ARSENIATE DANS LE SOL DE REPPEL AVANT ET APRES UN APPORT D'AMENDEMENTS 127
6.1 INTRODUCTION 127
6.2 MATERIELS ET METHODES 128

6.2.1 Echantillons de sol 128
6.2.2 Détermination de la quantité d'arsenic isotopiquement échangeable 128
6.2.2.1 Principe 128
6.2.2.2 Mises au point préliminaires 129
6.2.2.3 Protocole 129
6.2.2.4 Description mathématique de r_t/R en fonction du temps 130
6.2.3 Influence des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate 131
6.2.3.1 Echangeabilité des ions As^V en fonction de t dans les sols NT, GA, B et GAB. 131
6.2.3.2 Echangeabilité des ions As^V en fonction de t et de C_{AS} les sols NT et GAB. 131
6.2.4 Analyses statistiques 131
6.3 RESULTATS ET DISCUSSION 132
6.3.1 Cinétique d'évolution de C_{AS} 132
6.3.2 Description mathématique de r_t/R 132
6.3.3 Effet des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate en fonction du temps 135
6.3.4 Effet des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate en fonction du temps et 140
6.4 CONCLUSIONS 145

CONCLUSION GENERALE 147

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 153

ANNEXES 171

GLOSSAIRE

ABBREVIATIONS

AFNOR	Association Française de NORmalisation
As^V	Arséniate
As^{III}	Arsénite
B	Béringite
C	Concentration dans la solution du sol
CEC	Capacité d'Echange Cationique
CEE	Communauté Economique Européenne
CRE	Capacité de Rétention en Eau
E_t	Quantité d'ions isotopiquement échangeable pour un temps t donné
EXAFS	Extended X-ray Absorption Fine Structure
F3	Troisième feuille du maïs
FTIR	Fourrier Transform InfraRed
G	Sol de référence provenant du site Gouzengrez
GA	Grenaille d'Acier
GAB	Grenaille d'Acier + Béringite
GDH	Glutamate déshydrogénase
HA	Hydroxyapatite
HPLC-ICP-MS	High Performance Liquid Chromatography – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICDH	Isocitrate déshydrogénase
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
ISO	International Organization for Standardization
ITCF	Institut Technique des Céréales et des Fourrages
JL	Sol de référence provenant d'un jardin en Belgique
ME	Enzyme malic
MF	Matière Fraîche
MH	Maghémite
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
m/m	rapport masse sur masse
MN	Magnétite

MS	Matière Sèche
Ov1	Sol provenant du site pollué Overpelt 1
Ov2	Sol provenant du site pollué Overpelt 2
P	Sol de référence provenant du site Pierroton
PA	Parties Aériennes
PCN	Point de Charge Nulle
POD	Péroxydase
Port	Sol provenant du site pollué au Portugal
PT	Pouvoir Tampon du sol
Q	Quantité d'élément disponible dans le sol
$\mathbf{Q_s}$	Quantité d'élément sorbée
$\mathbf{Q_{ss}}$	Quantité d'élément dans la solution du sol
R	Racines
R	Quantité de radioactivité introduite dans la suspension de sol (chapitre 6)
$\mathbf{r_t}$	Quantité de radioactivité en solution après un temps t donné
Rep1	Sol provenant du site pollué Reppel 1 (champs de maïs)
Rep2	Sol provenant du site pollué Reppel 2 (site industriel)
S	Sol de référence provenant du site Solepur
SAAET	Spectrométrie d'Absorption Atomique par ElectroThermie à four graphite
SAAF	Spectrométrie d'Absorption Atomique en Flamme

DEFINITIONS

Certains termes employés dans ce travail possèdent des définitions différentes selon les auteurs. Par conséquent, on précise pour chacun d'entre eux le sens dans lequel il est employé dans ce manuscrit.

Réhabilitation du sol : mesures pour restaurer les fonctions du sol dans l'intention de l'utiliser ou pour protéger l'homme et l'environnement de certains dangers. Cette définition est conforme au projet de norme ISO/DIS 11074-1 (1993).

Contamination et pollution : le comité ISO/TC 190 a évité de définir ces termes mais a souligné l'importance d'identifier le sens de ces mots avant de les utiliser. Nous avons désigné par **contamination** une forte concentration d'une substance indésirable, et par **pollution** une forte concentration d'une même substance d'origine anthropique.

Elément disponible : élément présent dans le sol sous une ou des formes qui peuvent participer à l'exposition d'un organisme vivant dans le sol (racine d'une plante, micro-organisme, mésofaune....). Un élément disponible doit se trouver sous une forme qui peut être absorbé par cet organisme.

Quantité : dans ce travail, la quantité (Q) est la quantité totale de l'élément disponible, c'est à dire la quantité transit en solution pendant la durée de la croissance des plantes.

Disponibilité d'un élément[1] **:** son aptitude à être transféré sous une forme assimilable dans la solution du sol où puise le système racinaire de la plante.

Mobilité d'un élément[1] **:** son aptitude à être transféré dans la solution du sol. Mobilité est un terme plus large que disponibilité car la spéciation de l'élément n'est pas inclue.

Transfert sol-plante : l'absorption réelle d'un élément par la plante. Le transfert sol-plante intègre la disponibilité de l'élément dans le sol et la capacité de la plante à les absorber.

Exposition : l'exposition désigne le "contact avec les éléments".

[1] La disponibilité et la mobilité caractérisent donc, si l'on tient à ces définitions, un potentiel de transfert plus qu'un transfert effectif.

Durable : persistent dans le temps.

Adsorption : fixation à la surface d'une phase solide.

Fixation / Sorption : englobe tous les mécanismes de fixation par la phase solide (adsorption, diffusion dans le réseau cristallin, ...).

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Dans la Communauté Européenne, parmi les 154.000 sites qui nécessitent une réhabilitation (Anonyme, 1993), certains sont contaminés en métaux traces et/ou en arsenic. Ceux-ci sont présents principalement aux abords des mines, des fonderies et des raffineries. Les terres agricoles peuvent également être contaminées en éléments traces par l'épandage de boues de station d'épuration, les traitements phytosanitaires ou les retombées atmosphériques.

Pour les métaux présents dans le sol, la voie principale d'exposition de l'homme est l'ingestion des aliments d'origine végétale ou animale. Dans le cas de l'arsenic, l'ingestion d'eau potable est également une voie d'exposition importante. L'accumulation des éléments traces par les plantes et leur concentration en solution sont, entre autres, dépendants de leur mobilité (disponibilité), c'est-à-dire leur aptitude à être transférés (sous une forme assimilable) vers la solution du sol. Cette mobilité est, à sa tour, dépendante de nombreux facteurs physico-chimiques du sol comme le taux d'argiles, de carbonates, d'hydroxydes et de matière organique, le pH et le potentiel d'oxydo-réduction.

La plupart des techniques de dépollution des sols pollués en éléments traces sont coûteuses, et altèrent l'activité biologique ou détruisent la structure du sol. D'autres techniques sont dites 'douces' car elles ne bouleversent pas l'activité biologique, les propriétés physico-chimiques et la structure du sol. C'est le cas de la phytorémédiation dont on distingue deux techniques : la phytoextraction et l'immobilisation. La technique d'immobilisation ne se base pas sur l'élimination de la pollution mais utilise des amendements et des plantes pour réduire la mobilité et la disponibilité des éléments traces dans le sol afin de diminuer l'exposition de l'écosystème et de l'homme. Notre travail concerne l'immobilisation des éléments traces par l'apport des amendements minéraux à des sols pollués.

Dans des zones fortement polluées où la végétation est rare ou même absente, l'immobilisation des éléments traces peut favoriser une revégétalisation du site. Ceci permet de protéger l'écosystème aux alentours du site en diminuant l'érosion latérale par le vent ou l'eau et la lixiviation des éléments vers les profondeurs. Dans des zones dont le niveau de contamination est modéré ou bas, une baisse de l'exposition des racines peut aboutir à une diminution de la concentration en éléments traces dans les végétaux. Ainsi, le transfert par la chaîne alimentaire est réduit.

Ces dernières années, beaucoup de travaux ont été effectués afin de déterminer l'efficacité des amendements minéraux à immobiliser les éléments traces. Par contre, peu d'études ont comparé l'efficacité des plus prometteurs d'entre eux à diminuer aussi bien la mobilité que le transfert sol-plante des éléments traces. Aussi, il est difficile de généraliser les résultats obtenus car peu d'études sur l'immobilisation des éléments traces ont inclus des sols avec des paramètres physico-chimiques très différents. Enfin, l'immobilisation de l'arsenic a rarement été l'objet d'étude. Les sites pollués autour

d'anciennes fonderies et de mines contiennent pourtant souvent, en plus des métaux traces, des teneurs élevées en arsenic.

Des études physiques comme la spectroscopie EXAFS ont montré que certains minéraux, présents dans des sols très divers, sont capables d'adsorber aussi bien les métaux traces que l'arsenic. Ceci nous a mené à notre première hypothèse principale. Deux autres hypothèses ont été formulées à partir des voies d'exposition.

Hypothèses

- Par des amendements minéraux, les paramètres physico-chimiques de divers sols peuvent être changés afin de diminuer la mobilité (disponibilité) des métaux traces et de l'arsenic, et ainsi abaisser l'exposition des organismes vivants du sol et la dispersion de la pollution par la lixiviation;
- Une diminution de l'exposition réduit le transfert des éléments traces via la chaîne alimentaire vers l'écosystème ;
- Une diminution de la concentration dans la solution du sol diminue la phytotoxicité du sol.

Objectifs

A partir de ces hypothèses, quatre objectifs ont été déterminés. Nous avons choisi d'étudier l'immobilisation à l'échelle agronomique afin de conclure en sa faisabilité. Les objectifs ont donc été en partie tournés vers la démonstration des bénéfices et des limites de l'immobilisation.

- Sélectionner des amendements minéraux capables de diminuer la mobilité des métaux traces et de l'arsenic dans des sols dont les paramètres physico-chimiques sont différents ;
- Déterminer le devenir des éléments traces après un apport d'amendements minéraux au sol ; évaluer la mobilité et le transfert sol-plante des éléments traces ;
- Evaluer l'effet des amendements sur la phytotoxicité du sol ;
- Evaluer la durabilité de l'immobilisation.

Plan de la thèse

Après la synthèse bibliographique et la présentation des sols et des amendements, le plan de la thèse suit le plan de travail, défini afin de remplir les objectifs (figure A). La dernière partie du travail (chapitres 5 et 6) concerne plus spécifiquement l'arsenic.

Le chapitre 1 est constitué d'une synthèse bibliographique qui permet d'acquérir les bases des connaissances nécessaires pour le choix des amendements, l'évaluation du devenir des éléments traces et la détermination de la phytotoxicité du sol. Les techniques de réhabilitation des sols sont aussi présentées.

Les sols des sites pollués et de référence ainsi que les amendements étudiés sont présentés dans le chapitre 2. Le fait d'inclure 5 sols avec des caractéristiques physico-chimiques différentes nous permet de conclure en un effet reproductible sur différents sols.

Le chapitre 3 présente une évaluation globale à court terme de l'influence des amendements sur la mobilité des métaux traces et de l'arsenic, ce qui nous permet de faire un premier tri des amendements.

L'effet des amendements sélectionnés sur le prélèvement des éléments traces par le maïs est évalué dans un bio-essai à court terme en vase de végétation (chapitre 4). Dans ce bio-essai, on évalue aussi l'effet des amendements sur le fonctionnement du maïs afin de déterminer la phytotoxicité du sol.

La variabilité spatiale et le temps de réaction dans le sol sont des données fortes du devenir des éléments traces dans le sol. Dans le chapitre 5, on teste si l'effet des amendements sur l'accumulation de l'arsenic par les plantes est reproductible dans un système à plus grande échelle et s'il est durable pendant 1 an. On détermine également si l'effet des amendements est dépendant de l'espèce végétale. Le dispositif expérimental permet d'évaluer aussi l'effet des amendements sur la lixiviation de l'arsenic et sur la spéciation de l'arsenic en solution.

Enfin, dans le chapitre 6, on évalue le devenir des ions arséniate associés à la phase solide après l'apport des amendements au sol. Ceci nous permet de déterminer si la quantité d'arsenic disponible et/ou la disponibilité a changé après un apport des amendements. On modélise le transfert sol-solution de l'ion arséniate en prenant en compte progressivement le temps et la concentration, des paramètres importants dans la description du transfert sol-solution.

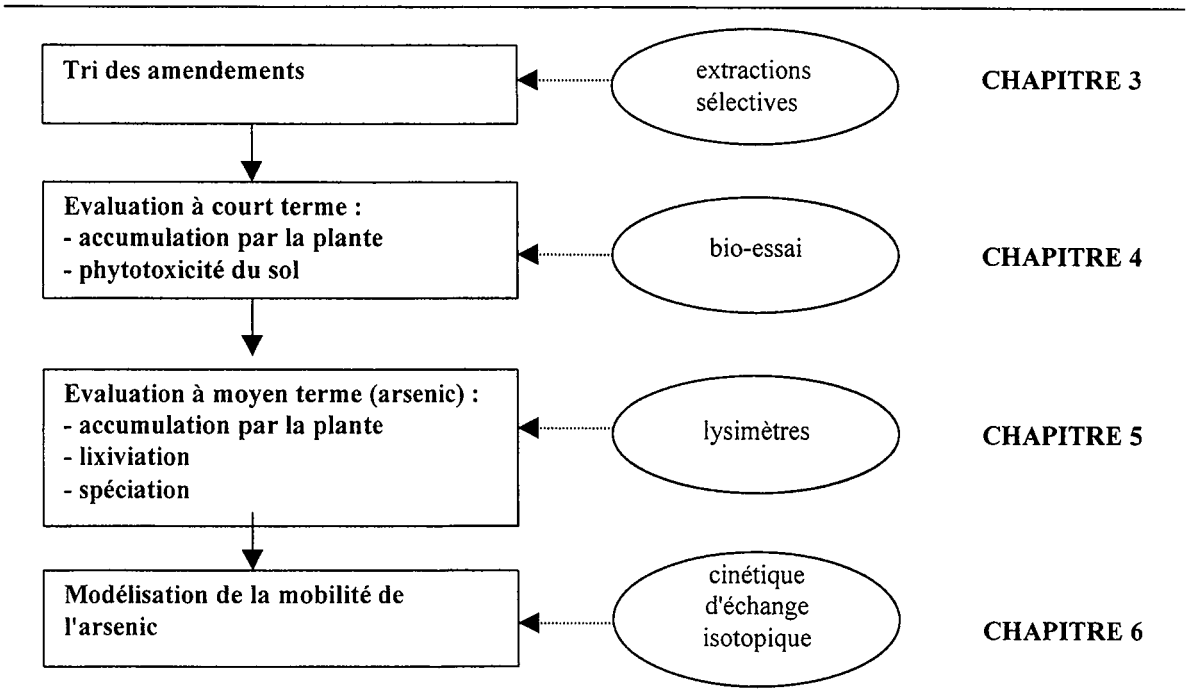


Figure A : Plan de travail

CHAPITRE 1

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE : ELEMENTS TRACES

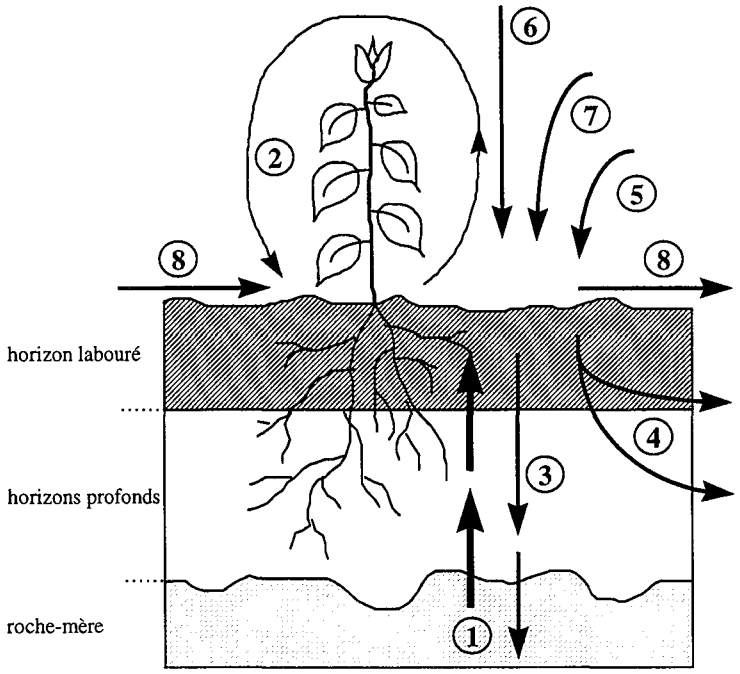
1.1 GENERALITES

Les éléments chimiques ont été séparés conventionnellement en éléments majeurs et en éléments traces. Les éléments traces en Sciences de la Terre sont les 68 éléments minéraux, constituants de la croûte terrestre, dont la concentration est pour chacun d'entre eux inférieure à 0,1%. Ils ne représentent à eux tous que 0,6% du total, alors que les 12 éléments majeurs interviennent pour 99,4% (Baize, 1997). En Sciences de la Vie, les éléments traces sont définis comme des éléments présents dans les organismes vivants à des concentrations inférieures à 0,01% (Adriano, 1986). Le terme "éléments traces" n'a alors aucune relation avec une propriété ou une fonction. Les éléments traces peuvent être des métaux (ex: Cd, Cu, Ni, Zn, Pb) ou des éléments non métalliques (ex: As, Se).

Les origines des éléments traces dans le sol sont données dans la figure 1.1. L'altération de la roche mère est la source principale du fond pédo-géochimique. Selon la composition chimique initiale de la roche, le sol aura une concentration plus ou moins élevée en tel élément. Le Cd, par exemple, est plus abondant dans les roches sédimentaires et dans les sédiments à forte concentration en carbone, sulfures et phosphates que dans les roches magmatiques (Baize, 1997).

Le tableau 1.1 résume les concentrations médianes en métaux traces par grande catégorie de granulométrie dans 580 horizons (A1) français localisés dans des zones rurales. Les écarts sont importants selon la granulométrie de l'échantillon étudié (en fait la teneur en argile), un sol sableux ayant des concentrations en éléments traces plus faibles qu'un sol argileux. Il y a également une forte relation entre les teneurs totales en fer et en manganèse et celles en métaux traces (Baize, 1997). La médiane de la concentration en As total sur une population de 186 échantillons de sols (horizons de surface et de profondeur, sols cultivés et sous forêts) du secteur de La Châtre en France (zone rurale sans pollution particulière) est de 17,5 mg kg^{-1} (Baize, communication personnelle).

Par rapport aux sources géogènes, les sources anthropogènes (fig. 1.1) peuvent émettre des quantités d'éléments trace élevées et entraîner une pollution de la biosphère. Un exemple de pollution en Cd due à des apports massifs localisés issus d'une source locale se trouve dans le Nord de la France. Des activités anthropogènes ont conduit à une contamination importante du sol en Cd dans une zone agricole périphérique d'un ancien complexe industriel qui se composait d'une zinguerie et



Les éléments proviennent d'abord de phénomènes naturels (fond pédo-géochimique naturel) :
1. héritage de la roche mère (composition chimique de la roche et des formations superficielles) ;
2. cycle bio-géochimique : des éléments sont absorbés par les racines dans tous les horizons, assimilés par des plantes et libérés plus tard soit dans le sol (décomposition des racines) soit à la surface (débris des parties aériennes, litières forestières) ;
3. transferts pédologiques verticaux : migrations sous formes solubles ou associées aux particules d'argile et au fer vers les horizons profonds ou vers les nappes phréatiques;
4. transferts pédologiques latéraux : lessivage latéral de particules ou redistributions suite aux cycles réduction/oxydation;
5. poussières et aérosols d'origine lointaine : volcaniques, embruns et vents lointains.

Les teneurs totales mesurées résultent aussi d'influences directes ou indirectes des activités humaines :
6. apports agricoles gérés à la parcelle : engrais (notamment phosphatés), amendements calcaires, fumiers, lisiers, épandages divers, boues de stations d'épuration, composts urbains, produits phytosanitaires, etc.;
7. apports diffus aériens d'origine lointaine : poussières et aérosols provenant des chauffages, activités industrielles, moteurs d'automobiles, etc.;
8. apports massifs localisés d'origine proche ;
9. transferts latéraux de particules par ruissellement à la surface. Apports ou pertes selon la position sur le versant.

Figure 1.1 : Origine des éléments traces métalliques dans les sols (d'après Baize, 1994).

Tableau 1.1 : Concentrations médianes des métaux traces dans 580 horizons (mélange d'horizons calcaires et non calcaires, horizons de surface et horizons profonds, sols cultivés et sols forestier) français (d'après Baize, 1997).

texture du sol	**sableux**	**limoneux**	**équilibré**	**Argileux**	**argileux lourd**
élément	**concentration (mg kg^{-1} terre fine)**				
Cd	0,03	0,10	0,11	0,21	0,20
Cu	3,2	6,2	11,8	19,0	16,7
Mn	72	478	611	1143	861
Ni	4,2	12,5	27,6	38,4	57,7
Pb	16,4	23,1	27,0	40,7	42,1
Zn	17	40	63,5	98	132

d'une usine de production d'acide sulfurique; 85% des teneurs sont supérieures à 2 mg Cd kg^{-1} (norme AFNOR pour l'épandage des boues), la valeur maximum atteinte est 20,1 mg kg^{-1} (Espagnol, 1997). La région de Salsigne dans la vallée d'Orbeil (au nord de Carcassonne, France) est un exemple de région fortement polluée par l'As. Cette région a été le siège d'activités minières depuis de nombreuses années. Une des activités consistait en l'extraction et au traitement pyrométallurgique et hydrométallurgique d'un minéral composé d'or, de soufre et d'arsenic. Dans un rayon de 7 km autour de Salsigne, la concentration en As dans des échantillons de terre est très élevée avec des valeurs atteignant 2241 mg kg^{-1} (Evrard, communication personnelle).

Les éléments traces sont classés en deux catégories: ceux qui sont essentiels pour la vie (oligo-éléments) et ceux pour lesquels la preuve de l'essentialité n'existe pas (encore). Pour les végétaux, on retient comme oligo-éléments: B, Cl, Cu, Co, Fe, Mn, Mo, Na, Ni et Zn (Juste et al., 1995). On peut considérer aussi Al, Sn, Cr, Si, Se et Ti comme essentiels ou bénéfiques pour la plante (Kabata-Pendias et Pendias 1992; Davies, 1994; Mehra et Farago, 1994; Alloway, 1995). Les éléments traces essentiels pour les animaux sont: As, Co, Cr, Cu, F, Fe, I, Li, Mn, Mo, Ni, Se, Si, Sn, V et Zn (Neuzil, 1990; Juste et al., 1995). Un apport insuffisant d'un oligo-élément affecte le fonctionnement, la reproduction et/ou la croissance de l'organisme. Par contre, un apport trop important peut provoquer des symptômes de toxicité dès que la concentration de l'élément dépasse un seuil. Certains métaux traces sans aucune fonction biologique connue, comme Cd et Pb, s'avèrent également toxiques à partir d'une certaine teneur seuil dans l'organisme. La valeur seuil est fonction de la nature de l'élément et du tissu de l'organisme considéré.

1.2 VOIES D'EXPOSITION DES ORGANISMES VIVANTS

Outre l'exposition professionnelle et l'inhalation de poussières ou de fumées, la voie principale pour l'exposition de l'homme aux métaux est l'ingestion des aliments d'origine végétale ou animale (tableau 1.2). En ce qui concerne l'As, la contamination de l'eau potable est la cause la plus fréquente de l'empoisonnement chronique (Yamauchi et Fowler, 1994), l'air et les aliments pollués étant d'autres sources (Wang et Rossman, 1996).

Tableau 1.2 : Sources d'exposition humaine au cadmium et au plomb (µg/jour) (Decloitre, 1998)

	Atmosphère	Cigarettes (20/j)	Eau de boisson (2l/j)	Alimentation
Cd	0,15	2-4	1	20
Pb	26	24	10	100-500

Les plantes prélèvent des éléments traces du sol par les racines. Les éléments entrent ainsi dans la chaîne alimentaire. Le tableau 1.3 donne un exemple de pollution de la chaîne alimentaire en As. Les légumes de jardins potagers, pollués par une ancienne raffinerie d'As, contiennent des concentrations en As supérieures aux produits cultivés dans des terres non-contaminées. Les plantes peuvent alors être considérées comme des réservoirs intermédiaires par lesquels les éléments traces sont transférés des sources primaires (dans ce cas, le sol) aux organismes vivants.

Tableau 1.3 : Concentration en As (mg kg^{-1} matière fraîche) dans des parties consommables de végétaux cultivés dans des jardins potagers pollués en As et dans un sol de référence non-contaminé. As a été déterminé après lavage des plantes, sauf dans le cas des épinards où l'As a été déterminé avant (1) et après (2) lavage. PMD = pas de matériel végétal disponible (Vangronsveld et al., 1994).

Jardins	laitue	haricot	épinard (1)	épinard (2)	pomme de terre	carotte	radis
As1	0.159	0.015	0.428	0.033	0.020	0.043	0.120
As2	0.138	0.020	0.179	0.060	0.033	0.040	0.113
As3	0.116	0.011	0.198	0.045	0.019	0.025	0.117
As4	0.119	0.001	0.170	0.044	0.021	0.032	0.140
As5	0.047	0.016	0.172	0.087	PMD	0.022	0.193
Référence	0.017	<0.001	0.005	0.004	<0.001	0.007	0.005

1.3 DISTRIBUTION ET SPECIATION DES ELEMENTS TRACES DANS LE SOL

Le sol est un ensemble complexe dans lequel on distingue trois phases : solide, liquide et gazeuse. Dans ce travail, on s'intéresse à la phase solide et la phase liquide et à la distribution des éléments traces entre ces deux phases. On ne considère que les éléments étudiés dans ce travail ; l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le plomb (Pb) et le zinc (Zn). Afin de comprendre leur comportement dans le sol, quelques caractéristiques physico-chimiques de ces éléments sont données dans le § 1.3.1. Dans le § 1.3.2, la spéciation des éléments traces dans la solution du sol est discutée. Les composants de la phase solide ainsi qu'une description de leurs sites réactifs sont donnés dans le § 1.3.3. Les réactions qui déterminent la distribution des éléments entre la phase solide et la phase liquide du sol sont discutées dans le § 1.3.4. Du fait de leurs propriétés physico-chimiques différentes, les métaux traces et l'arsenic sont discutés séparément.

1.3.1 Caractéristiques physico-chimiques des éléments traces

Les métaux se distinguent des autres éléments chimiques par leurs propriétés physiques (conductibilité électrique et thermique élevée, éclat, malléabilité), qui sont en grande partie expliquées par leurs propriétés chimiques (essentiellement la tendance à céder des électrons)

(Pauling, 1966 ; Cambier et Mench, 1998). Dans les sols aérés, les métaux étudiés (Cd, Cu, Ni, Pb et Zn) sont présents à des degrés d'oxydation positifs, principalement +II. De ce fait, les ions métalliques dans le sol sont des acides de Lewis, capable d'accepter un ou plusieurs électrons.

Nieboer et Richardson (1980) ont proposé une classification de métaux en trois catégories sur la base de leur électronégativité, leur rayon ionique et leur charge formelle : classe A (ex. Ca^{2+}, Al^{3+}, Na^{+}, K^{+}), classe B (ex. Hg^{2+}, Pd^{2+}, Pt^{2+}) et classe intermédiaire (ex. Zn^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Ni^{2+}). La préférence des éléments de la classe A pour les ligands décroît selon la séquence F^{-} >Cl^{-}>Br^{-}>I^{-} et pour les atomes O>N>S~Se et N>As. Les séquences d'affinité sont inversées pour les éléments de la classe B. Les différences d'affinité entre les éléments de la classe intermédiaire et ceux de la classe B ne sont pas très nettes. Il existe au sein des éléments intermédiaires des différences sensibles de comportement. Ainsi, le degré de caractère 'B' croît selon la séquence Zn^{2+}<Ni^{2+}<Cd^{2+}<Cu^{2+}< Pb^{2+} (Nieboer et Richardson, 1980; Boisset et Narbonne, 1996). Pour les éléments de la classe A, les interactions avec un anion sont de caractère ionique tandis que les éléments de la classe B forment des complexes essentiellement covalents.

L'arsenic (As) appartient au groupe V du tableau de la classification périodique des éléments. L'électronégativité de l'As est trop élevé pour lui donner un caractère métallique ; As appartient au groupe des métalloïdes. Il forme divers composés inorganiques et organiques dans le sol mais il est présent principalement sous forme inorganique (Masscheleyn et al., 1991b). Dans ce travail, on ne considère que les formes inorganiques les plus présentes dans les sols aérés : l'arséniate (sel de l'acide arsénique, degré d'oxydation +V, As^{V}) et l'arsénite (sel de l'acide arsénieux, degré d'oxydation +III, As^{III}). Ces composés présentent des propriétés d'acides faibles et sont généralement solubles dans l'eau. Le degré d'ionisation de ces composés est fonction du pH. La spéciation de As^{V} et As^{III} en solution en fonction du pH est donnée dans la figure 1.2. Les oxyanions d'As^{V} ($H_2AsO_4^{-}$, $HAsO_4^{2-}$ et AsO_4^{3-}) et d'As^{III} ($H_2AsO_3^{-}$ et $HAsO_3^{2-}$) sont des bases de Lewis, capable de donner un ou plusieurs électrons.

1.3.2 Spéciation dans la solution du sol

Les métaux traces peuvent être présents sous leur forme cationique (divalente) libre dans la solution du sol. Leur acidité peut entraîner la formation de complexes. En fonction du pH, les cations peuvent s'hydrolyser et/ou former des complexes solubles avec des ligands inorganiques et organiques. Les espèces prédominantes dans la solution du sol sont présentées dans le tableau 1.4.

Tableau 1.4 : Espèces chimiques prédominantes des éléments traces métalliques dans la solution du sol (Alloway, 1995).

Cation	pH 3.5-6.0	pH 6.0-8.5
Cd^{2+}	Cd^{2+}, $CdCl^{+}$, $CdSO_4$	Cd^{2+}, $CdCl^{+}$, $CdSO_4$
Cu^{2+}	organique, Cu^{2+}	Cu-hydroxydes, $CuCO_3$, organique
Ni^{2+}	Ni^{2+}, $NiSO_4$, organique	Ni^{2+}, $NiHCO_3^{+}$, $NiCO_3$
Pb^{2+}	Pb^{2+}, $PbSO_4$, organique	Pb hydroxydes et carbonates, organique
Zn^{2+}	Zn^{2+}, $ZnSO_4$, organique	Zn^{2+}, organique, Zn hydroxydes et carbonates

La distribution d'As sur des formes As^{V} et As^{III} est fonction du pH et du pE. Le diagramme pE-pH pour le système As-H_2O est donné dans la figure 1.3. Si on considère que dans les sols le pH peut varier de 3 à 8, l'acide arsénique est présent sous une forme d'oxyanion avec une charge principale de –1 ($H_2AsO_4^{-}$, pH < 6,97) ou –2 ($HAsO_4^{2-}$, pH > 6,97) (fig. 1.2). Aux valeurs de pH considérées, les oxyanions de l'acide arsénique ne forment pas de complexes solubles stables avec les autres constituants de la solution du sol. Le pH est donc le facteur déterminant la spéciation de ces oxyanions dans la solution du sol (Ferguson et Gavis, 1972 ; Cullen et Reimer, 1989). L'acidité de l'acide arsénieux est telle qu'il est présent principalement sous forme neutre (H_3AsO_3) aux valeurs de pH considérées (fig. 1.2).

1.3.3 La phase solide et ses sites réactifs

La phase solide du sol est constituée d'un ensemble de minéraux et de matière organique. Les sites réactifs des surfaces minérales et organiques peuvent être divisés en deux groupes principaux:

i) Sites de compensation avec charge négative permanente

Les charges permanentes proviennent des défauts cristallins. Les argiles (phyllosilicates) possèdent une charge nette négative permanente à cause de la substitution isomorphique de Si^{4+} par Al^{3+} (et éventuellement Fe^{3+}) dans les couches tétraédriques et de Al^{3+} ou Fe^{3+} par des ions de charge +2 (comme Mg^{2+}, Fe^{2+} et Zn^{2+}) dans les couches octaédriques. La substitution isomorphique entre $Mn^{4+}/Mn^{3+}/Mn^{2+}$ dans des oxydes de Mn (phyllomanganates) résulte également en la formation des sites avec une charge négative permanente.

ii) Sites de surface de charge variable dépendante du pH

En ce qui concerne les minéraux, les charges variables sont portées par les atomes de bordure dont une partie des liaisons chimiques sont cassées du fait de la rupture du réseau cristallin en surface. Les ions métalliques de surface ne sont donc pas saturés du point de vu de la coordination. En présence d'eau, ces ions de la surface peuvent former des complexes avec H_2O (adsorption de molécules d'eau). En fonction du pH, des groupes OH ou O^{-} se forment à la surface par dissociation

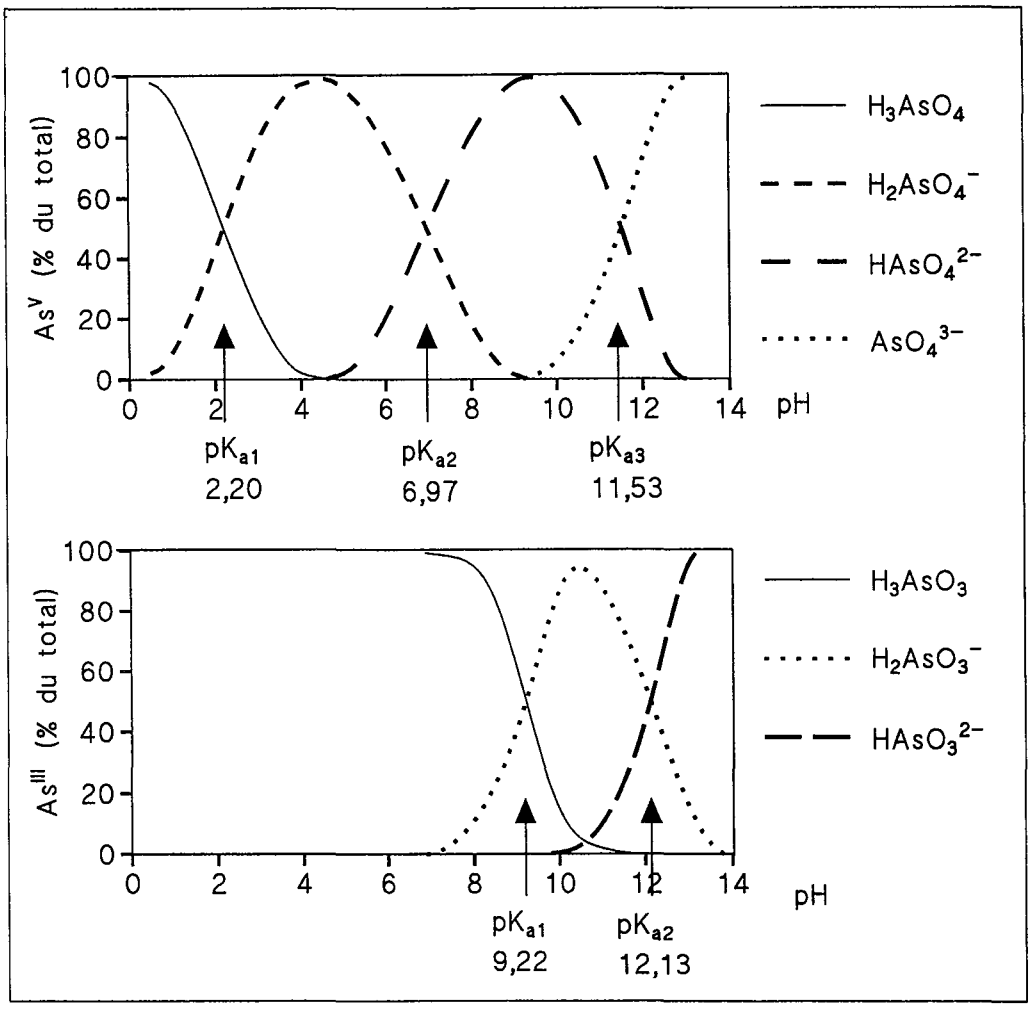


Figure 1.2 : Spéciation de l'arséniate (As^V) et de l'arsénite (As^{III}) en fonction du pH (Scott, 1991).

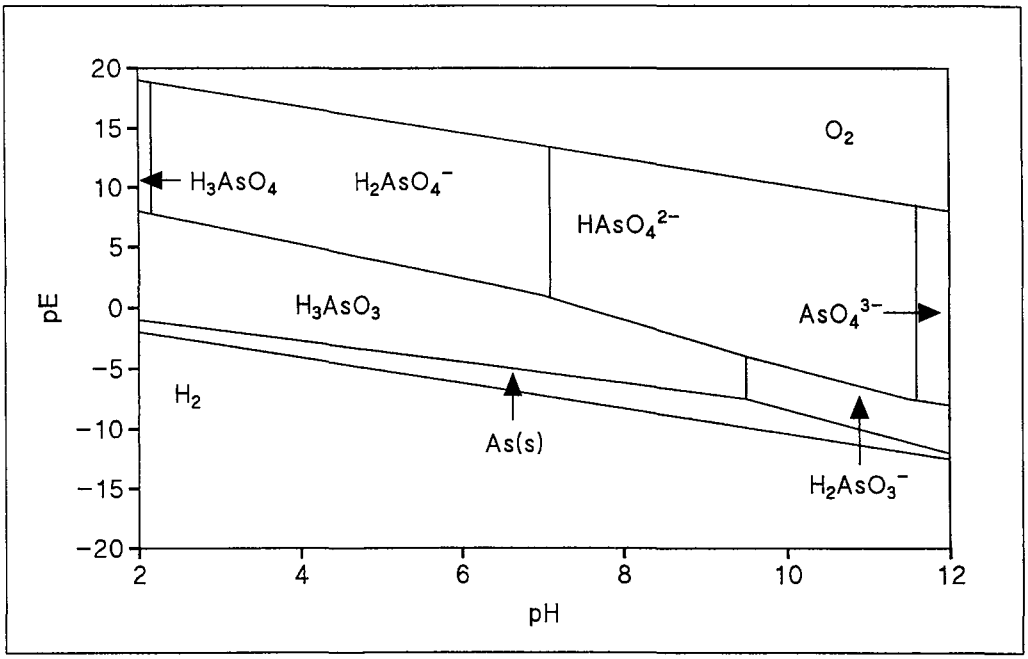


Figure 1.3 : Diagramme pE-pH pour le système As-H_2O (25°C, As_{total} = 10 µM) (Scott, 1991).

des protons (Morel et Hering, 1993). La charge résultante est alors dépendante du pH. Ces charges se trouvent sur les bordures des feuillets argileux et sur les (hydr)oxydes. Dans les sols des régions à climat tempéré non-volcanique, la quantité totale de charges variables des constituants du sol est probablement faible par rapport aux charges permanentes sur des argiles (McBride, 1994).

La réactivité de la matière organique est avant tout déterminée par l'existence de groupements fonctionnels acides de natures différentes : des groupes carboxyle, phénol, carbonyle, et probablement sulfhydryle (groupes acides) et amine (groupes basiques). Les deux premiers groupes sont les plus abondants (McBride, 1994 ; Senesi, 1992). Le caractère acide/base des groupements fonctionnels implique que les charges de la matière organique sont variables et dépendantes du pH.

1.3.4 Réactions déterminant la distribution entre la phase solide et la solution du sol

1.3.4.1 Altération minérale

L'altération minérale est définie comme la modification des propriétés physico-chimiques des roches par les agents atmosphériques et par les eaux souterraines. Elle a généralement pour effet de rendre les roches moins cohérentes ce qui facilite leur désintégration (Focault et Raoult, 1988). Les éléments traces présents dans les minéraux des roches (tableau 1.5) peuvent être libérés dans la solution du sol au cours du processus d'altération minérale.

Tableau 1.5 : Quelques constituants traces de minéraux dans les roches (Alloway, 1995).

Minéral	Eléments traces	Susceptibilité d'altération
Olivine	Ni, Co, Mn, Li, Zn, Cu, Mo	facilement altéré
Hornblende	Ni, Co, Mn, Sc, Li, V, Zn, Cu, Ga	
Biotite	Rb, Ba, Ni, Co, Sc, Li, Mn, V, Zn, Cu, Ga	↓
Apatite	Pb, Sr	
Muscovite	F, Rb, Ba, Sr, Cu, Ga, V	
Magnetite	Zn, Co, Ni, Cr, V	
Quartz	-	très résistant à l'altération

1.3.4.2 Précipitation

La précipitation est la néoformation d'une phase solide. Cela se produit quand la concentration en éléments est suffisamment élevée pour excéder le produit de solubilité de la nouvelle phase solide. La concentration en éléments traces est rarement suffisamment élevée pour qu'ils précipitent. Leur solubilité est généralement déterminée par les processus d'adsorption, plutôt que par la néoformation de phases minérales secondaires (McBride, 1994 ; McLaughlin et al, 1998). Cependant, dans les sols pollués, la solubilité des métaux peut être contrôlée par exemple par

l'octavite ($CdCO_3$), l'hopeite ($Zn(PO_4).4H_2O$) et la pyromorphite ($Pb_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) (Lindsay, 1979). En ce qui concerne l'As, si la concentration en As^V et en Fe ou Mn est suffisamment élevée, les minéraux $Fe_3(AsO_4)_2$ ou $Mn_3(AsO_4)_2$ peuvent se former aux valeurs de pH compris entre 3 et 9. $Ca_3(AsO_4)_2$ est stable à un pH > 7 et $FeAsO_4$ et $AlAsO_4$ peuvent se former à un pH < 5. Dans un milieu réducteur (arsenic présent sous forme d'As^{III}) les minéraux constitués de sulfide et d'As^{III} sont les plus stables (Sadiq, 1997).

1.3.4.3 Fixation par les surfaces minérales

La fixation par les surfaces minérales peut faire intervenir différents mécanismes (fig. 1.4). Dans le sol il existe un continuum de forces de liaison qui va de la formation des complexes très forts (ex. complexe de sphère interne) aux complexes faibles (complexe de sphère externe). Par la suite on traite plus en détail quelques-uns des mécanismes de fixation.

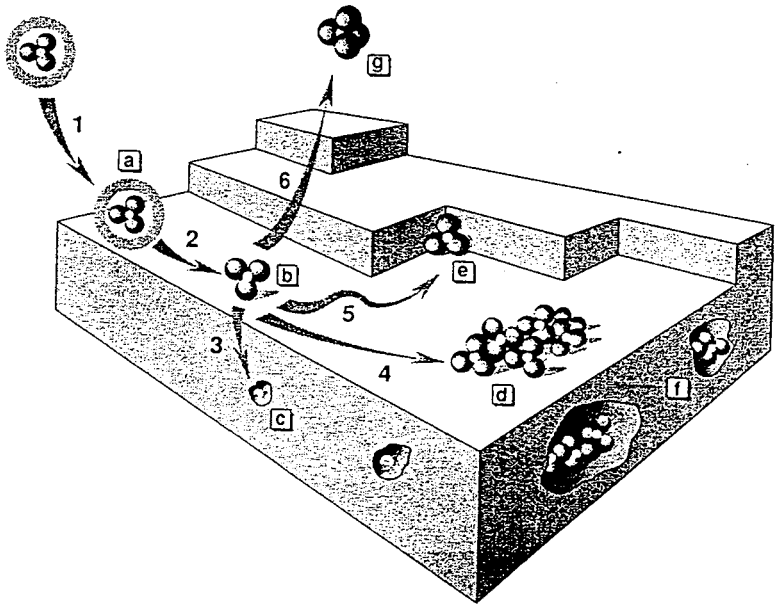


Figure 1.4 : Représentation des différents mécanismes de fixation des ions à l'interface solide/solution. Adsorption (1) : l'ion est attiré par des forces de nature coulombienne et garde sa sphère d'hydratation; l'ion forme ainsi un complexe de sphère externe avec le groupement réactif de la surface (a); perte de sa sphère d'hydratation (2) et formation d' un complexe de sphère interne(b); l'ion peut également diffuser dans le réseau cristallin du substrat et remplir des lacunes (3) ou se substituer aux ions initialement présents (c); diffusion latérale rapide (4,5); le complexe de sphère interne peut polymériser et donner lieu à un précipité de surface (d) ou s'adsorber en bordure de la surface (e); fixation dans le réseau cristallin (f); l'ion adsorbé peut éventuellement repasser en solution suite, par exemple, à des réactions rédox de surface ou d'un équilibre dynamique (g) (d'après Charlet et Manceau, 1993).

Formation de complexes de sphère externe

Les cations des métaux traces peuvent former des complexes de sphère externe (fig. 1.4 a) en surface et dans les sites interfoliaires des phyllosilicates. Ces complexes compensent la charge négative permanente dans les couches tétraédriques et octaédriques et maintiennent ainsi l'électroneutralité. Ces cations sont fixés par des interactions principalement électrostatiques. Des complexes de sphère externe peuvent également se former sur des sites à charge variable comme les groupements silanol des arêtes des silicates et allophanes.

La fixation par des complexes de sphère externe dans des sites interfoliaires est un processus indépendant du pH, réversible et pratiquement non-spécifique (McBride, 1994). La non-spécificité implique que la formation de ces complexes dépend de la force ionique. Les éléments adsorbés selon ce mécanisme sont échangeables par d'autres éléments. La capacité d'un sol à adsorber les cations sous forme échangeable est nommée "Capacité d'Echange Cationique (CEC)". La concentration des éléments majeurs (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}) dans la solution de la plupart des sols sol étant beaucoup plus élevée que celle des éléments traces, la sorption des éléments traces par échange cationique est quantitativement peu importante (Swift et McLaren, 1991). Cependant, dans des sols fortement pollués, la concentration des éléments "traces" dans la solution du sol peut être si élevée qu'un effet compétitif pour les sites de sorption non-spécifiques pourrait exister (McLaughlin et al., 1998).

Certains oxyanions, comme le nitrate, forme des complexes de sphère externe (McBride, 1994). En ce qui concerne l'arsenic, il est considéré que ces oxyanions forment uniquement des complexes de sphère interne (J. Lutzenkirchen, communication personnelle).

Formation de complexes de sphère interne

La formation des complexes de sphère interne des éléments traces peut se produire sur la plupart des phases solides du sol comme les oxydes et oxyhydroxydes et les bordures des feuillets argileux (Schindler et Sposito, 1991). La formation de ces complexes se fait par partage d'arêtes ou de sommets simples, doubles ou triples en surface des minéraux (Hargé, 1997).

Les surfaces avec des sites de charge variable (§ 1.3.3) se comportent comme des amphotères. Suivant le pH du milieu, ils acquièrent ou perdent un proton (équation 1.1 et 1.2) :

$$>S\text{-}OH + H^{+} \Leftrightarrow >S\text{-}OH_2^{+} \quad [1.1]$$

$$>S\text{-}OH \Leftrightarrow >S\text{-}O^{-} + H^{+} \quad [1.2]$$

Ces surfaces sont donc chargées positivement pour les pH faibles et négativement pour les pH élevés. Le point de charge nulle (PCN) est la valeur de pH pour laquelle la surface du solide a une charge nette nulle, car les charges négatives équilibrent les charges positives. Tous les minéraux sont

caractérisés par un PCN. Au pH inférieur au PCN, le minéral possède une charge nette positive et au-delà du PCN, sa charge nette est négative. Le PCN peut varier en fonction de la formation de complexes de surface avec les cations ou anions (Sposito, 1981).

La déprotonation des hydroxyles de surface (équation 1.2) crée des bases de Lewis (groupes >S-O$^-$) à la surface. Les ions métalliques dans la solution du sol (acides de Lewis, § 1.3.1) peuvent former des complexes avec 1 ou 2 de ces groupements et la réaction peut ainsi être considéré comme un échange avec les protons (équations 1.3 et 1.4) (McBride, 1994; Schindler et Sposito, 1991) :

$$>S\text{-}OH + Me^{2+} \Leftrightarrow >S\text{-}OMe^{+} + H^{+} \quad [1.3]$$

$$2\,>S\text{-}OH + Me^{2+} \Leftrightarrow >(S\text{-}O)_2Me + 2\,H^{+} \quad [1.4]$$

Ces équations montrent que le pH est une variable importante qui gouverne largement la fixation des métaux (fig. 1.5). Plus le pH du sol augmente, plus les groupes >S-OH sont déprotonés, plus il y a formation des bases de Lewis sur la surface et donc, plus les éléments traces sont complexés. Pour un minéral donné, il existe une fourchette de 1 à 2 unités de pH ou la sorption des métaux augmente de 0 à presque 100 % (Stumm, 1992). Cette fourchette est dépendante du minéral (pour les minéraux avec un PCN faible, la fixation des métaux commence à des pH plus bas que pour les minéraux avec un PCN plus élevé) et du métal (fig. 1.5).

La plupart des études sur les mécanismes d'adsorption des métaux traces par les (hydr)oxydes ont été effectuées à l'échelle macroscopique à partir des isothermes d'adsorption et de désorption.

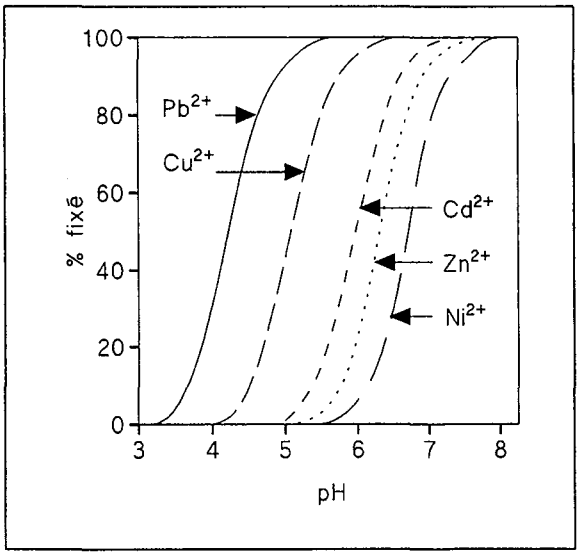


Figure 1.5 : Isotherme d'adsorption des métaux traces sur un oxyde de fer en fonction du pH (d'après Stumm, 1992).

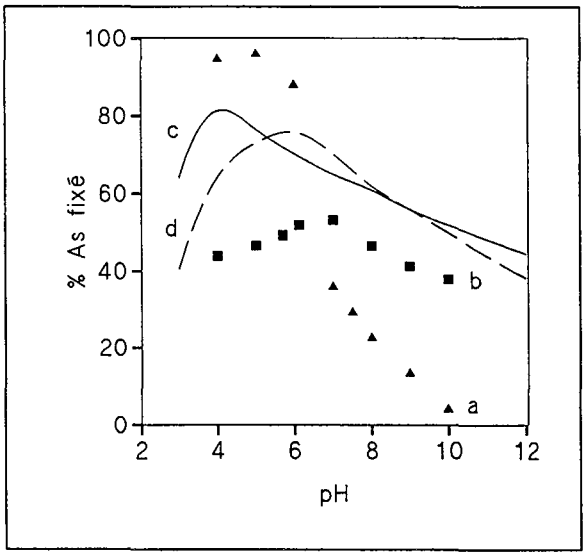


Figure 1.6 : Adsorption de As^{V} (a) et As^{III} (b) sur $Fe(OH)_3$ amorphe en fonction du pH et de As^{V} sur l'hématite (c) et le feldspath (d) (d'après Pierce et Moore, 1982 (a+b) et Prasad,

Depuis une dizaine d'années, des méthodes physiques comme la spectroscopie EXAFS permettent d'étudier ces mécanismes à l'échelle microscopique (Manceau et al., 1992 ; Spadini et al., 1994). Le caractère spécifique de l'adsorption des ions métalliques à la surface des minéraux par la formation de complexes de sphère interne a été démontré.

Les acides arséniate (As^V) et arsénieux (As^{III}) forment (en fonction du pH) des oxyanions dans la solution du sol (fig. 1.2). Ces bases de Lewis peuvent former des complexes avec des acides de Lewis sur la surface des minéraux (ex. Fe^{3+}). Les oxyanions peuvent se lier à la surface lors d'échanges avec les ligands $-OH_2^+$ ou $-OH$ de surface (équation 1.5, 1.6 et 1.7) :

$$>S\text{-}OH_2^+ + A^{n-} \Leftrightarrow >S\text{-}A^{(n-1)-} + H_2O \quad [1.5]$$

$$>S\text{-}OH + A^{n-} \Leftrightarrow >S\text{-}A^{(n-1)-} + OH^- \quad [1.6]$$

$$2\,>S\text{-}OH + A^{n-} \Leftrightarrow (>S)_2\text{-}A^{(n-2)-} + 2\,OH^- \quad [1.7]$$

L'acide arsénieux est un acide faible ($pK_{a1} = 9,22$) qui forme des oxyanions à un pH élevé (fig. 1.2). Etant donné qu'une espèce chargée ($H_2AsO_3^-$) est plus réactive qu'une espèce neutre (H_3AsO_3), la formation optimale de complexes de surface des oxyanions d'acides faibles se fait à un pH modéré. L'acide arséniate est un acide plus fort. A un pH > 2,2 l'acide est principalement présent sous forme d'oxyanion (fig. 1.2). L'adsorption maximale des oxyanions des acides forts se produit à des pH faibles pour les raisons suivantes : i) avec une diminution de pH, les groupements >S–OH de la surface sont de plus en plus protonés et la formation de $>S\text{-}OH_2^+$ entraîne l'attraction électrostatique des oxyanions (Prasad, 1994) et ii) à des pH faibles, la compétition avec OH^- (et d'autres ligands solubles, § 1.4.2.3 et 1.4.2.4) dans la solution du sol pour des sites de fixation est moins forte. L'effet du pH sur la fixation d'As^V et d'As^{III} ainsi que la différence de comportement de ces deux espèces sont illustrés dans la figure 1.6. Le pH optimum est dépendant du minéral étudié. Le fait que le pH où l'adsorption est maximale soit inférieure pour l'hématite par rapport au feldspath serait en partie du à une différence de la valeur de PCN de ces deux minéraux. Sous les conditions opératoires de l'étude de Prasad (1994) la valeur de PCN est égale à 7,1 et 8,5 respectivement.

Par spectroscopie EXAFS et FTIR (Fourrier Transform InfraRed), la formation des complexes de sphère interne d'As avec la surface de différents minéraux a été démontré. Par exemple, As^V forme des complexes de sphère interne avec la goethite (Sun et Doner, 1996 ; Fendorf et al., 1997) et la ferrihydrite (Waychunas et al., 1993 ; Manceau, 1995) et As^{III} avec la goethite (Sun et Doner, 1996 ; Manning et al., 1998).

La comparaison des isothermes d'adsorption des métaux et des oxyanions d'As (fig. 1.5 et 1.6) montre une différence de comportement importante. L'adsorption des cations métalliques augmente avec une augmentation de pH tandis que celle des oxyanions d'As diminue à partir d'un certain pH.

Formation de "solution solide"

Une "solution solide" se forme quand l'élément trace se substitue dans la phase solide à un autre ion. Cette substitution peut avoir lieu pendant la néo-formation d'une phase solide et dans ce cas, le terme "co-précipitation" peut être utilisé. Elle peut aussi avoir lieu quand l'élément se fixe en bordure de surface puis diffuse ensuite dans le réseau cristallin du minéral (fig. 1.4). Grâce à la formation des "solutions solides", l'activité des éléments dans la solution peut être maintenue à un niveau plus bas que celui correspondant à l'équilibre avec la phase pure (McBride, 1994). Elles peuvent être formées avec tous les minéraux secondaires présents dans le sol, comme par exemple les minéraux argileux, les oxydes de Fe et Mn, la calcite et les phosphates (tableau 1.6) (Alloway, 1995). Le rayon ionique (r_i) est un facteur déterminant lesquels des métaux peuvent se substituer aux ions initialement présents dans le minéral. Il doit être suffisamment petit pour entrer dans les sites vacants. Par exemple Cu^{2+} (r_i 0,69 Å) et Zn^{2+} (r_i 0,74 Å) peuvent se substituer aux ions Al^{3+} (r_i 0,45 Å) dans les hydroxydes d'Al tandis que Pb (r_i 1,20 Å) ne peut pas (McBride, 1994). La possibilité de substitution est plus élevée avec les oxydes de Fe et Mn qu'avec ceux d'Al et les aluminosilicates. Une des raisons est que le processus de dissolution et recristallisation de ces derniers minéraux est plus lent (McBride, 1994). De plus, les rayons ioniques de Fe^{2+} (r_i 0,76 Å), Fe^{3+} (r_i 0,64 Å), Mn^{2+} (r_i 0,80 Å), Mn^{3+} (r_i 0,70 Å) et Mn^{4+} (r_i 0,60Å) englobent celui de presque tous les éléments traces tandis que ceci n'est pas le cas pour Al^{3+}.

Tableau 1.6 : Eléments traces souvent co-précipités avec les minéraux secondaires (Sposito, 1983).

Minéral	éléments traces co-précipités
Oxydes de Fe	V, Mn, Ni, Cu, Zn, Mo
Oxydes de Mn	Fe, Co, Ni, Zn, Pb
Carbonates de Ca	V, Mn, Fe, Co, Cd
Minéraux argileux	V, Ni, Co, Cr, Zn, Cu, Pb, Ti, Mn, Fe

Un autre phénomène peut se produire quand les éléments traces se fixent sur des sites réactifs d'un minéral pendant la formation de celui-ci. Par exemple Waychunas et al. (1993) ont montré que le rapport As/Fe pour lequel la ferrihydrite est saturée avec As^V est plus élevé quand As^V est présent pendant la précipitation de la ferrihydrite que s'il est ajouté après précipitation de celle-ci. L'adsorption bidentée de l'As "empoisonne" la surface de la ferrihydrite précipitée. La cristallisation normale est limitée et la polymérisation de Fe-O-Fe est empêchée. Moins un oxyde de fer est cristallisé, plus sa surface réactive est importante et plus l'As est fixé.

1.3.4.4 Fixation par la matière organique

La matière organique contient beaucoup de groupements réactifs qui sont des bases de Lewis. De ce fait, la matière organique est réactive vis-à-vis des ions métalliques (acides de Lewis). La formation des complexes de sphère interne des métaux avec la matière organique est considérée comme une réaction d'échange entre le H^+ du groupe fonctionnel et les ions métalliques en solution (équation 1.8 et 1.9) (McBride, 1994) :

$$LH_y \leftrightarrow L^{y-} + yH^+ \quad [1.8]$$

$$L^{y-} + Me^{2+} \leftrightarrow L\text{-}Me^{(2-y)+} \quad [1.9]$$

Etant donné que la plupart des groupements réactifs sont des acides faibles et que la réaction 1.8 est nécessaire afin de former des complexes, la réactivité augmente quand le pH augmente. Manceau et al. (1996) ont étudié la spéciation du Pb dans l'horizon de surface d'un sol de jardin situé à proximité d'une usine de production de plomb alkylé. Par spectroscopie EXAFS, ils ont pu démontrer que le Pb était complexé par des groupements réactifs de la matière organique.

La complexion de l'As par la matière organique a peu été étudiée. L'As serait complexé par les groupes amine de la matière organique (Thanabalisngham et Pickering, 1986b).

1.4 TRANSFERT SOL-PLANTE DES ELEMENTS TRACES

Après une description des processus intervenant dans le transfert sol-plante (§ 1.4.1), on discutera des différents facteurs qui jouent un rôle dans ce transfert (§ 1.4.2) et des méthodes pour évaluer la disponibilité des éléments traces (§ 1.4.3).

1.4.1 Processus impliqués dans le transfert sol-plante

Le transfert sol-plante des éléments traces est le résultat des interactions des phénomènes complexes suivants (fig. 1.7) : la dissolution et la désorption des éléments (1), le transfert vers les racines (2), l'absorption racinaire (3), l'interception racinaire (4) et le transport vers les parties aériennes (5).

L'exposition des racines aux éléments traces est une nécessité pour l'absorption. Dans notre contexte, l'exposition désigne le "contact avec des éléments traces" (Rivière, 1998). L'exposition se fait par la croissance des racines aux endroits où les éléments sont présents et par le transport des éléments dans le sol vers les racines de la plante. Le premier processus est nommé **'interception racinaire'** (4). Le transport des éléments du sol vers la racine est le résultat de deux mécanismes : le **flux de masse** et **la diffusion** ((2), Barber, 1995). Le flux de masse est le transport par convection des éléments dissous dans la solution du sol vers les racines ; il est lié à l'évapotranspiration de la plante. La diffusion résulte du prélèvement des éléments par les racines, ce qui crée un gradient de

concentration qui induit le mouvement des ions vers la surface. Le flux total des éléments du sol vers la racine est la résultante de l'interception racinaire, du flux de masse et de la diffusion. En ce qui concerne l'importance de l'interception racinaire, normalement moins de 1% de la quantité disponible est prélevé directement par ce mécanisme. Quant au flux de masse et à la diffusion, leur signification relative dans le transfert sol-plante est dépendante de la concentration initiale de l'élément en solution. La diffusion joue seulement un rôle si la quantité prélevée par la plante est supérieure à la quantité apportée au système racinaire par le flux de masse.

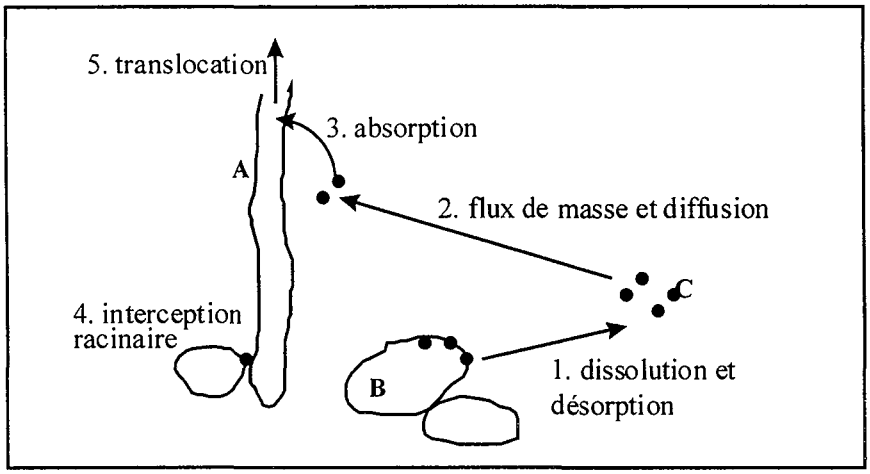


Figure 1.7 : Processus impliqués dans le transfert sol-plante (A racine, B particule de sol, C éléments trace).

Un facteur important dans le transfert sol-plante est le **pouvoir tampon** du sol, c'est à dire l'aptitude de la phase solide du sol à s'opposer aux variations de concentration des éléments dans la solution du sol. Quand la concentration des ions dans la solution du sol diminue du fait du prélèvement racinaire, des éléments disponibles présents dans la phase solide sont relâchés dans la solution du sol (par des processus de dissolution et de désorption) afin de rétablir l'équilibre. Plus le pouvoir tampon est élevé, plus le sol est capable de conserver cet équilibre et de réapprovisionner la solution. La concentration dans la solution du sol (C), la quantité d'élément disponible (Q) et le pouvoir tampon du sol (PT) jouent alors un rôle important dans le devenir des éléments traces dans le sol et donc dans leur transfert sol-plante.

1.4.2 Facteurs ayant un rôle important dans le transfert sol-plante

Quelques-uns des nombreux facteurs qui ont une influence sur le transfert sol-plante (élément étudié, caractéristiques de la plante et du sol, micro-organismes, climat,...) sont discutés par la suite. Bien que les micro-organismes aient un effet important sur la stabilité des minéraux dans le sol et sur la spéciation des éléments traces, leur rôle dans le transfert sol-plante n'est pas pris en considération dans ce travail.

1.4.2.1 Nature et spéciation de l'élément

Par rapport à la concentration totale dans le sol, les concentrations dans les parties aériennes des plantes sont les plus importantes dans le cas de Cd et Zn, suivis par Ni et Cu et enfin Pb et Cr (Sauerbeck, 1991). Pour expliquer ceci, il est nécessaire d'intégrer toutes les connaissances concernant la solubilité des éléments en solution, les forces de rétention par les différentes phases solides du sol et l'affinité des plantes pour les éléments. A titre d'exemple, Pb est moins soluble que Cd, notamment parce que Pb peut former des complexes insolubles avec le phosphate. De plus, les phases minérales (fig. 1.5) et organiques fixent plus fortement Pb que Cd. Ces données peuvent expliquer en partie la différence de concentration de Cd et Pb dans les parties aériennes des plantes.

La spéciation du métal dans la solution du sol (§ 1.3.2, tableau 1.4) a une influence sur son prélèvement. Il est souvent supposé que seuls les ions libres dans la solution du sol sont assimilables (Sauvé et al., 1996, 1998). Cependant, cette hypothèse ne semble pas toujours valide. Par exemple, le prélèvement de Cd par *Beta vulgaris* n'est pas seulement corrélé à l'activité de Cd^{2+} en solution mais également à l'activité des complexes $CdCl_n^{2-n}$ (Smolders et McLaughlin, 1996a+b). Les auteurs en concluent que soit le complexe peut être prélevé par la plante, soit Cl augmente le prélèvement de Cd^{2+} par une augmentation de la diffusion de Cd^{2+}.

En ce qui concerne l'As, son prélèvement d'une solution nutritive par les racines de haricot se fait selon l'ordre suivant : arséniate (As^V)>arsénite (As^{III})> monométhylarséniate (MMA)> diméthylarséniate (DMA) (O'Neill, 1995). L'orge prélève aussi plus d'As^V que d'As^{III} (Ascher et Reay, 1979). Par contre, l'ordre pour un riz inondé est : As^{III} > MMA > As^V > DMA (Marin et al., 1992). Cette dernière espèce végétale est adaptée à des conditions anoxiques dans sa rhizosphère (As présent sous forme réduite As^{III}), ce qui expliquerait le plus grand prélèvement d'As^{III}.

1.4.2.2 Plante

L'absorption racinaire et la translocation dépendent des facteurs physiologiques de la plante tels que : la grandeur du système racinaire (Mullins et al., 1986), la capacité des racines à stocker des éléments à l'extérieur des cellules (Morel et al., 1986; Rauser, 1987), l'existence de transporteurs dans la membrane plasmique des racines (Rengel et Hawkesford, 1997), le transfert des éléments traces vers les parties aériennes (Florijn, 1993) et la capacité d'éliminer les effets négatifs des éléments traces en modifiant leur spéciation et/ou leur compartimentation subcellulaire (par exemple par la production des phytochélatines ce qui résulte en un stockage dans la vacuole) (Rauser, 1990).

Les plantes peuvent aussi changer la disponibilité des éléments traces par une modification des conditions physico-chimiques de la rhizosphère (McLaughlin et al., 1998). Quelques exemples sont :

(i) La plante change les équilibres chimiques de la solution du sol. Le pH de la rhizosphère,

par exemple, diffère en général de celui du sol distal à cause d'une excrétion nette de H^+ ou HCO_3^- par les racines ou d'un déséquilibre de l'absorption cations/anions (Marschner et al., 1986).

(ii) La plante peut sécréter des ligands organiques (Mench et Martin, 1991; Ernst, 1996). Mench et Martin (1991) ont montré que les exsudats de *Nicotiana* spp. augmentent la disponibilité du Cd;

(iii) Le matériel mort ou vivant de la plante dans la rhizosphère peut servir comme une surface de fixation pour les éléments présents;

(iv) L'activité microbienne, stimulée par des plantes, peut avoir un effet sur le transfert sol-plante. Des études au laboratoire ont montré qu'à des niveaux élevés de Cd, la colonisation fongique des mycorhizes arbusculaires (MA) a diminué le prélèvement du Cd (Schüepp et al., 1987; El-Kerbawy et al., 1989). Par contre, des études en plein champ ne montrent aucune relation entre le taux de mycorhization des racines et l'accumulation du Cd dans la plante (Weissenhorn et al., 1995a,b).

1.4.2.3 Sol

Composition minérale et organique de la phase solide

Depuis longtemps, le rôle clé des (hydr)oxydes de Fe et de Mn au sens large dans la géochimie des métaux traces a été démontré (Jenne, 1968 ; Johnson, 1986 ; Erel et al., 1991). Certains métaux traces (ex. Cu, Ni, Pb et Zn) possèdent aussi une affinité élevée pour la matière organique.

Les oxydes de Fe, Mn et Al ont également un rôle important dans la fixation de l'As (Woolson et al., 1971b ; Sandberg et Allen, 1975 ; Walsh et Keeney, 1975 ; Pierce et Moore, 1982 ; Fordham et Norrish, 1983 ; McGeehan, 1996 ; Manning et Goldberg, 1997). Par contre, il a été montré que le taux de la matière organique dans le sol a peu d'influence sur la fixation de l'As par la phase solide (Jacobs et al., 1970b ; Sandberg et Allen, 1975 ; Livesey et Huang, 1981).

La fixation des éléments traces sur la phase solide du sol a été décrite dans le § 1.3.4. Il est important de mentionner ici que des oxydes de Mn peuvent fixer l'As mais ils peuvent également oxyder l'As^{III} en As^V. L'oxydation de As^{III} par δ-MnO_2 est un processus rapide (Oscarson et al., 1981, 1983 ; Thanabalasingham et Pickering, 1986a ; Driehaus et al., 1995 ; Scott et Morgan, 1995).

Composition de la solution du sol

Dans le cas des métaux, la composition de la solution du sol a une influence sur leur spéciation car ils peuvent former des complexes solubles avec des ligands inorganiques et organiques (§ 1.3.2, tableau 1.4). Par exemple, la présence de Cl^- ou d'acides organiques solubles peut augmenter la concentration totale de l'élément dans la solution du sol. L'augmentation du transfert sol-plante suite à la formation de ces complexes dépend de la capacité de la plante à prélever les métaux complexés. Même si les formes complexées ne sont pas prélevées par la plante, les risques liés à un

transfert des éléments vers les horizons plus profonds du sol (contamination de la nappe phréatique, dispersion de la contamination) ils augmentent.

Un effet plus direct est la compétition des éléments présents dans la solution du sol pour à la fois l'absorption racinaire et la fixation sur la phase solide. Dans le cas des métaux, ce sont des cations qui entrent en compétition. Un exemple est l'inhibition de la fixation de Cd par la phase solide du sol en présence de Ca^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+} et Zn^{2+} (Christensen, 1987).

En ce qui concerne l'As, les anions et les ligands organiques présents dans la solution du sol sont plus ou moins en compétition avec les oxyanions d'As pour les sites de fixation de la phase solide. L'affinité des anions pour la surface des minéraux décroît selon : $PO_4^{3-} > AsO_4^{3-} > SeO_3^{2-} > CO_3^{2-} > CrO_4^{2-} > SO_4^{2-} > SeO_4^{2-} > NO_3^- > Cl^-$ (McBride, 1994). L'ion compétitif principal pour l'As^V est donc le phosphate (Hingston et al., 1971 ; Woolson, 1972 ; Barrow, 1974 ; Livesey et Huang, 1981 ; Roy et al., 1986 ; Davenport et Peryea, 1991 ; Peryea, 1991 ; Melamed et al., 1995 ; Peryea et Kammereck, 1997). Ceci est le résultat de leur similitude chimique ; le phosphate est comme l'As^V présent sous forme d'oxyanion ($H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-}) dans la solution du sol avec des valeurs de pK_a (2,3, 7,2 et 12,3) proches de celles d'As^V (2,20, 6,97, 11,53). Il est cependant difficile de conclure quant à l'influence du phosphate sur le transfert sol-plante d'As^V . Il existe une compétition entre le phosphate et l'As^V à la fois pour l'adsorption sur la phase solide du sol et pour leur absorption par les racines (Wauchope, 1983 ; Walsh et Keeny, 1975 ; Ernst, 1994 ; Meharg et McNair, 1991). Les travaux sur différentes espèces végétales (*Agrostis delicatula, Holcus lanatus* et *Hordeum vulgare*) conduisent à l'hypothèse que l'arséniate entre en compétition avec le phosphate pour le mécanisme de prélèvement, mais que l'affinité pour l'arséniate est plus faible (Ascher et Reay, 1979 ; Meharg et McNair, 1990 ; De Koe, 1994). Une augmentation de la concentration en phosphates résulte alors en : i) une augmentation de la disponibilité car l'As sur la phase solide est remplacé par le phosphate et ii) une diminution de l'absorption racinaire de l'As. Le résultat net sur le prélèvement de l'As par la plante dépend de la composition du sol et des concentrations en As et P.

pH

Des effets du pH dont l'influence sur le transfert sol-plante est indirecte sont les suivants :

i) Effet sur la composition de la solution du sol : avec une augmentation de pH, la concentration en entre autres OH^-, HCO_3^{2-}, CO_3^{2-} et des ligands organiques solubles dans la solution du sol augmente. Ces ligands peuvent former des complexes solubles ou insolubles avec les éléments métalliques et entrer en compétition avec l'As pour les sites fonctionnels de la surface ;

ii) Effet sur la spéciation des métaux dans la solution du sol (§ 1.3, tableau 1.4);

iii) Effet sur la spéciation de l'As dans la solution du sol (§1.3, fig. 1.2 et 1.3) :

iv) Effet sur la stabilité des constituants minéraux: les minéraux peuvent se dissoudre quand

le pH diminue. La dissolution des minéraux libère les éléments présents dans leur stucture (tableau 1.5) ou à leur surface ;

v) Effet sur la réactivité des surfaces : une augmentation du pH entraîne la déprotonation des sites de charge variable (§ 1.4.2).

L'influence du pH sur la fixation des métaux et de l'As dans des systèmes synthétiques simples a été montré dans les figures 1.5 et 1.6. Dans ces systèmes, ce sont la spéciation de l'As (iii), la réactivité de la surface (v) et la concentration en OH^- (degré d'hydroxylation des métaux, compétition avec l'As) qui sont pris en compte. Cependant, le sol est un système complexe et l'influence du pH sur la spéciation des éléments traces et sur leur distribution entre la phase solide et la solution du sol est la résultante de l'ensemble de tous les effets i-v. La solubilité d'un métal dans le sol montre souvent deux étapes. Avec une augmentation de pH, la solubilité diminue à cause de la plus forte fixation sur des surfaces minérales (fig. 1.5). Par contre, quand le pH dépasse une certaine valeur, l'augmentation de la concentration des ligands solubles peut résulter en une augmentation de la concentration totale de l'élément. Cette tendance, montrée pour le cuivre dans la figure 1.8, est typique pour les cations métalliques qui forment des complexes stables et solubles avec OH^-, CO_3^{2-} ou la matière organique soluble (McBride, 1994).

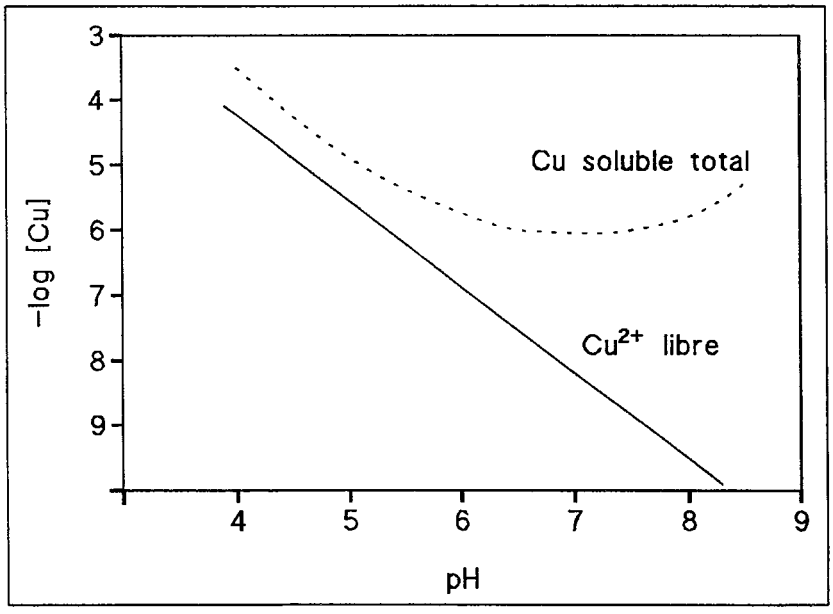


Figure 1.8 : Concentration de Cu total et ionique en fonction du pH (d'après McBride, 1994).

A partir des travaux effectués sur le sol entier, on peut conclure que, pour la plupart des métaux traces, il a été montré que plus le pH est bas, plus le transfert sol-plante est important (Erikson, 1989 ; Halen et Van Bladdel, 1990 ; Sauerbeck, 1991 ; Gupta et Aten, 1993 ; Öborn et al.,

1995 ; Chuan et al., 1996 ; Oliver et al., 1996 ; Krebs et al., 1998).

En ce qui concerne l'As, un augmentation du pH (pH 5,6 à 6,8 et de 5,0 à 7,5) a résulté en une augmentation de la concentration en As dans la solution d'un sol et d'un sédiment pollué (Masscheleyn et al., 1991a,b). Une augmentation du pH du sol n'a cependant pas eu d'effet significatif sur la quantité d'As prélevée par différentes espèces de végétaux (Merry et al., 1986b ; Jiang et Singh, 1994).

Potentiel d'oxydo-réduction

Quelques métaux traces peuvent être affectés par les effets indirects des conditions réductrices. La réduction des ions sulfates peut entraîner la précipitation des sulfures (CdS, CuS, MnS, ZnS). Quand les conditions réductrices causent la dissolution des hydroxydes de Mn, Al et Fe, les métaux qui étaient adsorbés par ces hydroxydes ou co-précipités avec ceux-ci sont relâchés en solution (Alloway, 1995). Ces processus ne se produisent cependant pas dans des sols aérés.

Le potentiel d'oxydo-réduction (Eh) joue un rôle important dans le cas de l'As. Une diminution du Eh, résulte en une réduction de As^{V} en As^{III}. Par exemple, à un pH de 6 et un Eh de 120 mV (pE = 2), l'As est présent sous forme As^{III} (fig. 1.3). A ce pH 6, As^{III} est moins fixé qu'As^{V} (fig. 1.6). Masscheleyn et al. (1991 a,b) ont montré que les conditions réductrices libèrent, en effet, de l'As dans la solution d'un sol et d'un sédiment pollué.

1.4.3 Evaluation de la disponibilité des éléments traces

Les meilleurs tests pour évaluer la disponibilité pour les végétaux sont ceux qui utilisent les plantes (§ 1.4.3.1). Les tests microbiologiques peuvent aussi détecter les éléments disponibles dans des échantillons du sol (§1.4.3.2). Différents tests de laboratoire ont été développés afin de déterminer plus opérationnellement et plus rapidement la disponibilité. On discute sur les principes ainsi que sur les points forts et faibles des extractions sélectives (§ 1.4.3.3), des courbes d'adsorption et de désorption (§ 1.4.3.4) et d'une approche cinétique par des échanges isotopiques (§ 1.4.3.5).

1.4.3.1 Tests avec des plantes

La plante est le meilleur révélateur de la disponibilité pour les végétaux car elle intègre l'effet de tous les facteurs (§ 1.4.2) qui la déterminent (Juste, 1988). Les reproches principaux que l'on peut faire à cette méthode sont la consommation de temps et de moyens ainsi que la spécificité de réponse d'une plante donnée. De plus, en plein champ, les tests ne peuvent pas être standardisés, ce qui rend la comparaison des résultats difficile. Concernant les tests sous conditions contrôlées, il ne semble pas

évident de prédire quantitativement la disponibilité en plein champ par des tests en serre. Page et Chang (1978) ont rapporté que le prélèvement par la plante après un apport de Cd au sol était plus élevé dans la betterave cultivé en serre ($Cd_{plante} = 0.79 + 1.94\ Cd_{sol}$) que celle cultivé au champ ($Cd_{plante} = 0.56 + 0.69\ Cd_{sol}$). Le confinement du système racinaire dans un volume imposé, comme des vases de végétation, interdit toute colonisation des horizons sous-jacents moins riches en métal et une stratégie d'évitement, comme cela se produit en plein champ, est impossible. Enfin, une disponibilité élevée peut endommager le système racinaire de la plante. Le prélèvement de l'élément sera donc perturbé et le transfert sol-plante sera peu élevé même si la disponibilité est élevée.

1.4.3.2 Tests microbiologiques

Beaucoup de tests microbiologiques ont été développés afin d'évaluer rapidement la toxicité d'échantillons d'eau et de sol. Le test MetPLATE (Bitton et al., 1996) a été développé pour l'eau mais s'avère aussi efficace pour évaluer la disponibilité des éléments traces des sols, sédiments et boues pollués. Il utilise une souche de *Escherichia coli* produisant la β-galactosidase qui répond aux concentrations faibles de métaux mais qui est insensible à la présence de composés organiques toxiques. Cependant, ce test n'est pas métal-spécifique. Des bio-indicateurs métal-spécifiques ont été développés à partir d'une transcription de gènes. Certains micro-organismes métaux-résistants comme certains *Alcaligenes eutrophus, Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont reçu un opéron luminescent qui est induit par certains éléments traces. Cette induction résulte d'un couplage entre les gènes lux et les gènes qui régulent la résistance de l'opéron. La spécificité des indicateurs est déterminée par la spécificité du système régulant de l'opéron. Des réponses plus ou moins sélectives ont été montrées pour l'antimoniate, l'arsénite, le cadmium, le cobalt, le chrome, le cuivre, le nickel, le thallium et le zinc (Corbisier et al., 1993, 1996 ; Van Der Lelie et al., 1994 ; Cai et DuBow, 1997 ; Ramanathan et al., 1997). Corbisier et al. (1996) ont montré que ce test intègre l'influence du micro-organisme sur la disponibilité du Cu. Ces tests microbiologiques sont simples et rapides. Cependant, l'effet de la plante sur la disponibilité des éléments traces n'est pas intégré.

1.4.3.3 Extractions sélectives

Les extractifs utilisés sont choisis pour leur aptitude à solubiliser une fraction de l'élément total corrélée avec la quantité d'élément prélevé par une plante test. Dans le cas des métaux, on utilise souvent l'extraction avec un sel neutre afin d'apprécier leur disponibilité (Lebourg et al., 1996a). Des sels neutres reflètent la solution du sol et sont susceptibles d'échanger leurs cations avec les métaux échangeables. Les sels neutres présentent l'avantage qu'ils ont peu d'influence sur le pH du sol.

Il convient de rappeler que toutes les techniques de prédiction de la disponibilité des éléments qui mettent en œuvre un seul réactif d'extraction sont très conventionnelles, car elles substituent à la

notion de **flux** (processus dépendant du temps) celle de **stock,** évalué par ce réactif. On pourrait donc considérer que des extractions sélectives avec des sels neutres donnent pour résultat une estimation de la quantité d'élément disponible (Q). La qualité de l'extractif pour évaluer Q se fonde sur des corrélations entre l'élément extrait et son absorption par la plante (Wu, 1989 ; Jackson et Alloway, 1991 ; Gupta et Aten, 1993 ; Singh et al., 1995).

Les principaux points faibles de l'utilisation des extractions chimiques afin d'évaluer Q sont :
i) la quantité déterminée par des extractions dépend de l'extractif utilisé, de la durée de l'extraction et du rapport sol-solution (Chowdhury et al., 1992; Lebourg et al., 1996a,b) ;
ii) une surestimation de la quantité disponible de certains ions. Par exemple, l'utilisation de $CaCl_2$ surestime la quantité de Cd et de Zn disponible à cause de la formation de chlorocomplexes solubles (Gupta et Atten, 1993; Häni, 1996) ;
iii) les extractifs modifient les équilibres dans le sol ;
iv) il n'y a pas nécessairement identité entre l'élément extrait par le réactif et celui prélevé par la plante (Fardeau, 1981) ;
v) l'influence de la plante sur la disponibilité de l'élément n'est pas intégré.

1.4.3.4 Etudes de sorption et de désorption

Les études de sorption ou de désorption ont pour but la construction des courbes Q/C (quantité sorbée ou désorbée/concentration). La première dérivée de ces courbes permet de calculer le pouvoir tampon ($PT = \delta Q/\delta C$) à une concentration donnée. Le PT est un facteur important pour la disponibilité des éléments (§ 1.4.1). Dans le cas des éléments traces, les courbes Q/C ont souvent été construites afin de comparer différents sols pour leur capacité de fixer les éléments traces, de décrire en général la sorption sur des sols ou des minéraux (Elkhatib et al., 1984; Goldberg et Glaubig, 1988; Manning et Goldberg, 1997), ou d'évaluer l'influence des paramètres physico-chimiques (pH, matière organique) sur la sorption des éléments (Jacobs et al., 1970b; Gerritse et Van Driel, 1984) et sur des mécanismes de sorption (adsorption, précipitation et formation de complexes) (Cavallaro et McBride, 1978). Dans ce but, les courbes Q/C ont été construites après un temps de réaction donné et l'effet du temps sur les processus de sorption et de désorption n'a pas été pris en compte. Le fait que les temps d'équilibre soient différents dans diverses études rend la comparaison des résultats difficile.

Dans des études de sorption classique, la désorption n'est pas toujours l'inverse de l'adsorption. Le phénomène d'hystérésis est souvent observé (Christensen, 1984 ; Filius et al., 1998). Filius et al., (1998) ont montré que le pouvoir tampon obtenu dans ces conditions peut ne pas refléter la disponibilité de l'élément car, dans le système sol-plante, le flux net est une désorption et non pas une sorption. Quant aux des études de désorption, Wu (1989) a étudié la désorption de Cd en fonction du rapport solution/sol et a démontré l'existence d'une corrélation linéaire hautement significative

entre la quantité de Cd désorbable et la quantité exportée par quatre coupes de ray-grass.

Un autre désavantage de la méthode est le fait que la quantité de l'élément préexistent dans le sol n'est pas pris en compte. Par ailleurs, on travaille souvent dans des systèmes fortement en déséquilibre. Le prélèvement des éléments par la plante amènerait à un déséquilibre moins prononcé. Enfin, on n'intègre pas l'influence de la plante sur la disponibilité.

1.4.3.5 Cinétique d'échange isotopique

La méthode de cinétique d'échange permet de suivre, à l'aide de traceurs radioactifs ou stables, le devenir des éléments dans le système sol-plante. La méthode consiste à introduire dans un système sol-solution en état stationnaire un isotope (sans entraîneur) de l'élément étudié puis à suivre la cinétique de son départ de la solution du sol. Dans un tel système, les transferts d'espèces ioniques depuis la solution du sol vers la phase solide sont égaux aux échanges inverses. La disparition de l'isotope de la solution est alors le résultat d'un échange ionique entre l'élément radioactif ajouté à la solution et l'élément stable présent sur la phase solide du sol. Il est donc possible d'apprécier la quantité d'élément présent sur la phase solide, susceptible d'arriver dans la solution après un temps d'échange donné (Fardeau, 1993).

L'identité entre les ions de phosphore, de potassium et de nickel qui participent à l'échange isotopique et ceux qui sont réellement prélevés par la plante a été démontré (Fardeau et al., 1979 ; Fardeau, 1981 ; Morel et Plenchette, 1994 ; Frossard et al., 1994 ; Echevarria et al, 1996). La méthode offre donc la possibilité de mesurer la taille du compartiment des éléments disponible dans le sol (Q) et de déterminer la disponibilité de ces éléments.

Outre Q, c'est le pouvoir tampon (PT) qui détermine en partie la disponibilité (§ 1.4.1). Pour les ions phosphate, Morel et al. (1994, 1995, 1996) ont alors intégré la concentration en plus du temps. Ils ont obtenu une équation d'échange entre la phase solide et la solution du sol qui décrit les variations des quantités des ions phosphate isotopiquement échangées entre les phases liquide et solide du sol en fonction de leur concentration dans la solution du sol et de la durée d'échange. La dynamique de la dilution isotopique ne dépend pas de la concentration initiale car que les ions phosphate marqués ajoutés réagissent avec le sol et avec les ions préexistants.

La dilution isotopique est mesurée sur des temps courts dans des systèmes à l'état stationnaire. Par contre, le prélèvement des ions par des racines rend le système sol-solution en déséquilibre. Schneider et Morel (1999) ont modélisé les quantités d'ions phosphate (Q(Cp, t)), transférées entre le sol et la solution (rapport 1:10), en fonction de la concentration des ions phosphate en solution (Cp) et de la durée du transfert (t), en utilisant le traçage et la dilution isotopique des ions phosphate en solution. Par ailleurs, des résines échangeuses d'ions ont été introduits dans des systèmes sol-solution similaires pendant des durées croissantes. Les valeurs

initiales et finales de Cp ont été mesurées de même que les quantités d'ion phosphate extraites par les résines. Ces dernières ont été comparées aux valeurs calculées de Q(Cp, t). Les valeurs mesurées et calculées sont étroitement corrélées par une relation linéaire de type 1:1. Ce résultat, obtenu dans des échantillons de sol (Alfisol) qui ont reçu des quantités très différentes de phosphate soluble dans l'eau, montre qu'il est possible de prévoir les quantités d'ions phosphate désorbées par les résines à partir de la modélisation du transfert d'ions phosphate établie dans des suspensions de sol enrichies au laboratoire sur des durées courtes.

La méthode de dilution isotopique est une méthode simple. De plus, dans le cas du phosphate, il est possible de faire des expériences sur des temps court (100 min) et d'extrapoler ensuite ces résultats sur des temps longs (3 mois) (Fardeau, 1993). Un point faible est le fait que l'influence de la plante sur la disponibilité n'est pas intégré.

1.5 TOXICITE DES ELEMENTS TRACES

1.5.1 Toxicité chez l'homme

Métaux traces

L'empoisonnement aigu a rarement été observé, à part des empoisonnements résultant de suicides (Geldmacker-Von Mallinckprodt, 1991). Les organes touchés à cause d'un empoisonnement chronique et les symptômes sont très divers et dépendent du métal. Une revue de la toxicité de tous les éléments métalliques étant trop étendue, on limite la discussion par la suite au cadmium.

Le potentiel toxique de métaux tels que Cd dépend de leur disponibilité intracellulaire, qui est conditionnée notamment par des liaisons à des protéines cytosoliques à haute affinité comme les métallothionéines (MTs). Ces structures intracellulaires sont capables de séquestrer des métaux loin des organites ou des sites métaboliques sensibles. La biosynthèse des MTs dans le foie, le rein, le poumon, et l'intestin est inductible par une faible exposition au Cd (Boisset et Narbonne, 1996). Lors d'exposition trop importante, la capacité de synthèse de MTs peut être insuffisante par rapport à la quantité de Cd à neutraliser : du Cd se retrouve alors sous forme libre, toxique, causant des dommages cellulaires.

Beaucoup d'inhibitions métaboliques provoquées par le Cd résultent de la complexation des thiolates d'enzymes ou de cofacteurs (Boisset et Narbonne, 1996). Cette capacité de liaison étendue avec les macromolécules de protéines, d'ADN et d'ARN rend compte de la multiplicité des effets toxiques.

Les ions Cd^{2+} peuvent déplacer les ions Zn^{2+} de leurs sites de fixation induisant ainsi des

modifications conformationnelles et fonctionnelles. Plusieurs dizaines d'enzymes contenant du Zn, impliquées dans les biosynthèses nucléiques et protéiques ou assurant des fonctions dans la régulation du métabolisme cellulaire, constituent des molécules-cibles pour le Cd (Boisset, 1996).

Par ailleurs, même si les ions Cd^{2+} et Ca^{2+} présentent globalement des caractéristiques physico-chimiques très différentes, leur rayons ioniques sont très voisins et le Cd peut exercer une action mimétique du Ca (Boisset, 1996).

Ces différentes actions du Cd résultent en des effets néphrotoxiques et ostéotoxiques chez l'homme. Le cadmium est un cancérogène puissant chez les rongeurs (rat, souris). Les organes cibles de l'effet cancérogène du Cd pour ces espèces sont les poumons, les testicules, la prostate et les organes hématopoïététiques (Waalkens et al., 1992 a, b ; Heinrich, 1992). Concernant la santé humaine, l'extrapolation est difficile. Les données épidémiologiques, concernant les travailleurs exposés à long terme, ont mis en évidence une corrélation entre l'exposition professionnelle à long terme aux poussières et aux fumées d'oxyde de Cd (par voie respiratoire) et l'apparition de certains cancers, dont les cancers du poumon, du naso-pharynx, et, de manière beaucoup plus discutable, de la prostate. Pour ces raisons, le Cd est considéré comme cancérogène pour l'Homme par l'IARC (Boisset, 1996).

En s'appuyant sur les données pharmacocinétiques et sur les notions de concentrations sans répercussions rénales nuisibles, l'OMS (1972) et la CEE (1979) ont proposé que la dose journalière ingérée de cadmium ne dépasse pas 1 µg par kg de poids corporel par jour.

Arsenic

L'As, en raison de quelques applications pharmaceutiques, peut être un composé thérapeutique. D'un autre côté, l'As peut être un poison fatal pour l'homme. La toxicité d'As dépend de sa spéciation. Les formes organiques sont moins toxiques que les formes inorganiques. As^{V} est moins toxique que As^{III}. La médiane des doses fatales chez la souris est 34.5 mg kg^{-1} pour l'arsenic trioxide (As_2O_3) et 1800 mg kg^{-1} pour le monométhylarséniate (Yamauchi et Fowler, 1994). La dose fatale pour les hommes de As_2O_3 ingeré est comprise entre 70 et 180 mg (WHO, 1981).

Les actions toxiques de l'As^{III} et As^{V} sont liées à des mécanismes différents. L'As^{III} se combine avec les groupes SH des protéines, bloquant ainsi l'activité des enzymes à groupe sulfhydrile. L'As^{V}, quant à lui, se substitue à l'ion phosphate, ce qui conduit à des perturbations du métabolisme glucidique (arsénolyse). Le métabolisme du sucre est plus rapide en présence d'As^{V} mais à la fois moins efficace et moins lié à la présence d'oxygène, ce qui entraîne une diminution importante de la formation de liaisons phosphate à haute énergie (ATP) (Webb, 1966; De Wolff et Edelbroek, 1994).

L'empoisonnement aigu par As cause des douleurs abdominales et peut entraîner la mort. En

1901, il y a eu 70 morts sur 6000 intoxications par ingestion d'une bière contenant 2-4 mg l^{-1} d'As (Léonard, 1994). L'intoxication arsenicale chronique peut se traduire par: des lésions cutanées, des atteintes de phanères, des lésions des muqueuses, une neuropathie périphérique sensitivomotrice, des atteintes hépatiques, des anomalies hématologiques, une myocardite, un cancer broncho-pulmonaire (Garnier, 1993; Naqvi et al., 1994).

La dose tolérable par rapport aux effets toxiques est 0,15 mg par kg de poids corporel par semaine (A. Tremel, communication personnelle).

1.5.2 Toxicité chez les végétaux

Les plantes accumulent des métaux (i.e. Zn, Cu, Cd, Ni) et de l'As en fonction de leur exposition. Les fonctions physiologiques générales comme la transpiration, la respiration, et la photosynthèse sont affectées et le développement de la plante peut être inhibé (Vangronsveld et Clijsters, 1992). Les principaux symptômes d'une phytotoxicité aiguë sont: réduction de la croissance, chloroses et nécroses, coloration anthocyanée des feuilles et réduction de la surface foliaire par diminution de la taille des cellules. Si l'exposition est faible, ces symptômes sont peu visibles ou absents alors qu'au niveau cellulaire, plusieurs processus peuvent être affectés. Plusieurs mécanismes d'action des métaux aux niveaux physiologique et biochimique ont été décrits (Foy et al., 1978; Van Assche et Clijsters, 1990b).

Quel que soit le site d'action ultime dans la plante, les métaux et l'As doivent traverser la membrane plasmique des cellules des racines avant d'arriver dans le compartiment intracellulaire (avec l'exception de l'exposition foliaire). Après le passage de cette membrane, les métaux peuvent interagir avec les composés cellulaires et avec divers processus. Dans ce paragraphe, trois aspects physiologiques de la toxicité des métaux et de l'As seront discutés:

- interférence (in)directe avec la perméabilité de la membrane plasmique;
- inhibition d'enzymes et découplage de la phosphorylation;
- mécanismes de défense.

1.5.2.1 Dommages membranaires

Un des effets des métaux au niveau cellulaire est l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique, résultant en une fuite d'ions tel que le potassium (De Vos et al, 1989). Un effet direct sur les groupements sulfhydryles serait un des mécanismes impliqués. Les ATP-ases des plantes sont notamment sensibles aux réactions des métaux avec les groupements sulfhydryles. L'arsénite (As^{III}) est également connu pour sa réactivité envers des groupements -SH (Webb, 1966). Le faible transport d'As^{III} des racines vers les parties aériennes d'haricot a été attribué à un mauvais fonctionnement des racines à cause de la toxicité élevée pour les membranes (Carbonell-Barrachina et

al., 1996). Un deuxième effet est le stress oxydant associé à la peroxydation des lipides membranaires. Le stress oxydant peut être défini comme l'ensemble des effets néfastes liés aux formes intermédiaires réactives de l'oxygène (oxy-radicaux) qui possèdent un ou plusieurs électrons non-appariés. En conditions normales et aérobies, les oxy-radicaux les plus fréquents dans la cellule sont l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$). Dans les conditions naturelles, les oxy-radicaux sont formés en petites quantités. La cellule dispose en plus de systèmes anti-oxydants mais ceux-ci peuvent être insuffisamment efficaces quand le niveau du stress oxydant augmente à cause du prélèvement des métaux. Certains métaux comme le cuivre et le fer peuvent induire la production de radicaux libres dans la cellule. Les ions de plusieurs métaux (ex. Zn, Cd, Pb, Ni et Hg) forment des complexes stables avec le glutathion et perturbent ainsi l'intraconversion des formes oxydées/réduites de glutathion, résultant en une diminution du niveau des antioxydants dans la cellule (Christie et Costa, 1984). L'arsenic peur également provoquer un stress oxydant chez des végétaux (Tamaki et Frankenberger, 1992 ; Mylona et al., 1998 ; Sneller, communication personnelle).

1.5.2.2 Inhibition d'enzymes et découplage de la phosphorylation

Les deux mécanismes principaux pour l'inhibition des enzymes sont: (i) interactions des métaux avec les groupements fonctionnels (par exemple des groupements -SH qui sont impliqués dans l'action catalytique et/ou l'intégrité structurale de la protéine enzymatique) et (ii) induction d'une déficience métallique des métallo-enzymes et substitution du métal essentiel par le métal toxique dans l'enzyme. (Vangronsveld et Clijsters, 1992).

Un exemple du premier mécanisme est l'inhibition *in vivo* de la protochlorophyllide réductase par Cd. L'interaction du Cd avec les groupements -SH a été proposé comme mécanisme responsable de cette inhibition. Le résultat est une inhibition de la synthèse de chlorophylle et l'accumulation de protochlorophylle dans la cellule pour l'orge (Stobart et al., 1985).

Un exemple du deuxième mécanisme est la substitution partielle de Mg^{2+} par Zn^{2+} dans le complexe quaternaire RubisCo *in vivo*, ce qui résulte en l'inhibition de la capacité de carboxylation et ainsi de la fixation du CO_2 dans le cycle de Calvin (Van Assche et Clijsters, 1986). La substitution ou la compétition pour les mêmes sites se produirait probablement quand les cations engagés sont présents à des concentrations similaires dans le compartiment de la cellule concernée.

Le découplage de la phosphorylation est provoqué par l'arséniate ($HAsO_4^{2-}$) qui remplace l'ion phosphate à cause de son analogie avec celui-ci (Ter Welle et Slater, 1967).

1.5.2.3 Mécanismes de défense

Chaque espèce végétale, résistante ou non, possède des mécanismes de défense contre des concentrations de métaux élevées dans la cellule (fig. 1.9).

En général, l'interférence des éléments traces avec des enzymes *in vivo* exige que le métal soit assimilé par la plante et s'accumule à des concentrations inhibitrices dans le compartiment cellulaire où est localisé l'enzyme. Le dépôt à la surface ou le stockage dans l'apoplaste, dans la vacuole ou dans des vésicules (fig. 1.9) exclut l'interaction avec la majorité des enzymes. D'ailleurs, la forme chimique du métal *in vivo* doit permettre l'interaction avec des ligands fonctionnels de l'enzyme. Le complexage avec des phytochélatines et d'autres composés (fig. 1.9) qui fixent des métaux ou la fixation non-spécifique aux ligands s'opposent à ces interactions libres.

Dans la suite du travail, on se concentre surtout sur l'augmentation de l'activité des enzymes. Cette augmentation est interprétée comme un effet indirect de la toxicité des métaux (Van Assche et Clijsters,1990a). L'origine précise de l'augmentation (synthèse *de novo* ou bien activation des enzymes déjà présents) n'est pas toujours connue.

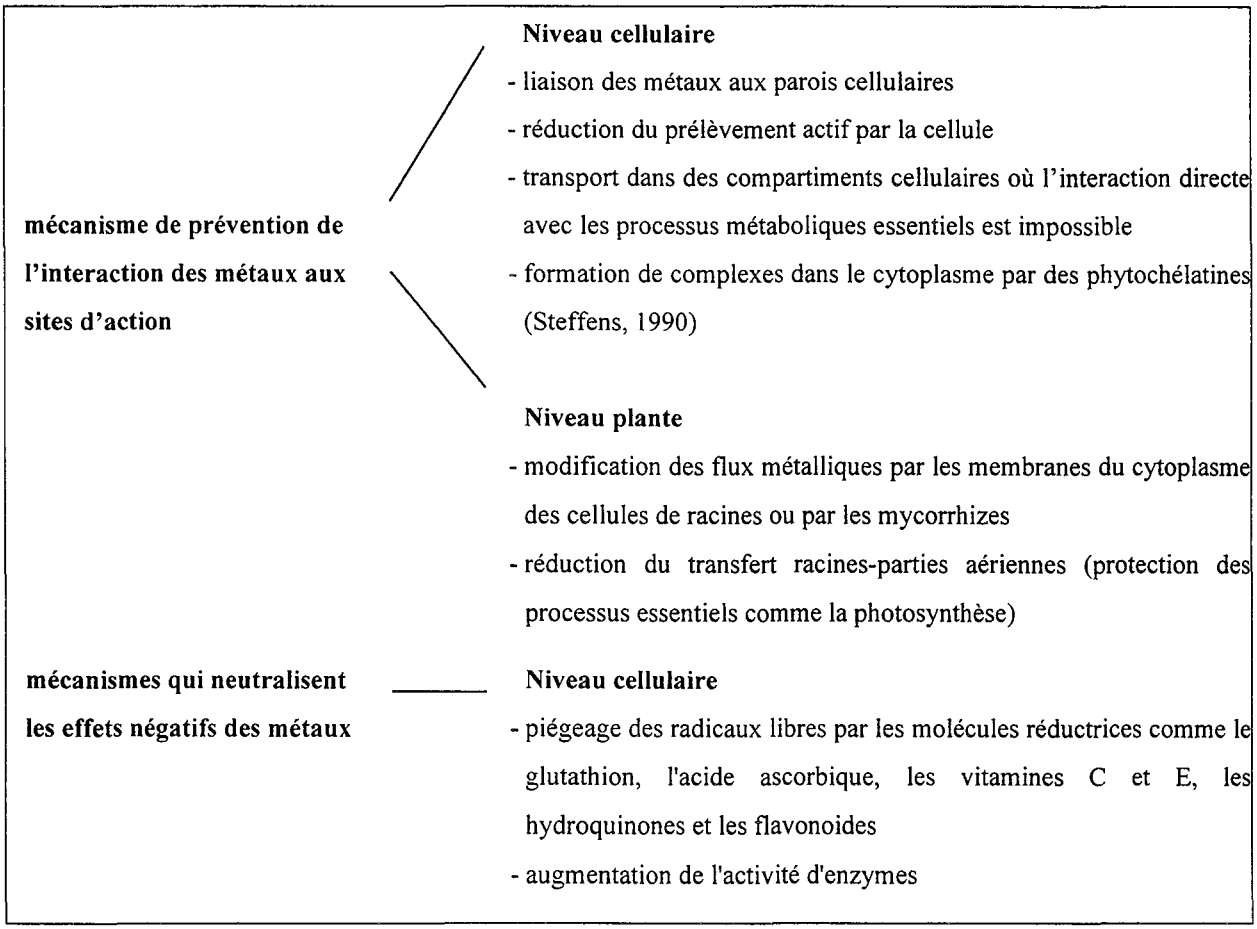


Figure 1.9 : Schéma des mécanismes de défense des plantes contre des concentrations d'éléments traces élevées dans la cellule.

Quelques enzymes ont pour rôle d'éliminer des oxy-radicaux libres et H_2O_2. Les peroxydases (POD) sont un exemple : l'augmentation de leur activité a été observée dans des feuilles et racines de différentes plantes après une application de Cd, Zn, Cu, Ni, Pb et Hg à des concentrations toxiques (Vangronsveld et Clijsters, 1992 ; Mocquot et al., 1996 ; Lagriffoul et al., 1998). Le même rôle a été attribué aux superoxyde-dismutases (SOD) et catalases.

Un rôle un peu plus spéculatif serait la compensation de la fourniture limitée de l'ATP photosynthétique et NADPH par la stimulation des voies de productions alternatives. La capacité de plusieurs enzymes liés au cycle de Krebs peut augmenter après l'assimilation de quantités toxiques de métaux par la plante: l'isocitrate déshydrogénase (ICDH), la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH), la glutamate déshydrogénase (GDH), et l'enzyme malique (ME). La capacité de ces enzymes, qui catalysent les réactions de production de NADPH, pourrait être augmentée afin de compenser une éventuelle diminution du pouvoir réducteur (qui est important pour le fonctionnement des mécanismes de détoxification) dans la cellule. Une éventuelle augmentation de la capacité enzymatique est fonction du métal et de l'espèce du végétal étudiée.

1.5.3 Evaluation de la phytotoxicité des sols pollués en éléments traces

Classiquement, l'analyse chimique est mise en œuvre sur les sols contaminés par les éléments traces pour diagnostiquer les effets potentiellement néfastes que ces derniers peuvent avoir sur une culture de végétaux. En Suisse, par exemple, on utilise une extraction sélective afin d'évaluer des risques d'écotoxicité (Lebourg et al., 1996a). Cependant, les résultats obtenus peuvent conduire à des erreurs de diagnostic, car la disponibilité des éléments dans le substrat et leur prélèvement par les racines sont fonction de la spéciation chimique de l'élément et des propriétés du sol et de la plante (§ 1.4.2). De plus, les sols des sites pollués sont fréquemment contaminés par plusieurs éléments traces. Chacun d'entre eux peut avoir un effet phytotoxique; ils peuvent également interagir entre eux de façon synergique, antagoniste ou cumulative.

Parmi les outils les plus employés afin d'évaluer les effets d'une contamination des sols, figurent les tests de toxicité. Quelques tests ont été normalisés afin d'évaluer les risques, comme par exemple le test de germination AFNOR X 31 201 (1982). Un point faible de ce test est sa courte durée. D'autres tests sont basés sur la production de matière fraîche (Rebedea et Lepp, 1994; Gworek, 1992a+b). Cependant, si on veut protéger la chaîne alimentaire, il est quelquefois désirable de diminuer la concentration des métaux traces tels que le Cd en dessous des valeurs phytotoxiques basées sur la diminution de biomasse. Par exemple, la directive allemande pour le Cd dans les épinards est de 0,5 mg kg^{-1} MF, alors qu'une diminution de 25% de matière sèche est obtenue seulement à une concentration de 7 mg kg^{-1}MF dans les feuilles (Adriano, 1986 ; Ewers, 1991). De plus, même si la biomasse de la plante n'est pas (encore) touchée, la plante peut déjà subir un stress.

Dans ce travail, on envisage notamment les possibilités d'une revégétalisation et dans ce contexte il est utile de connaître le niveau de stress des plantes. Dans cette perspective, des biomarqueurs pourraient être utilisés en tant que signal d'alarme vis-à-vis d'un stress général ou particulier.

Les biomarqueurs spécifiques pour les éléments traces sont les phytochélatines (Rauser, 1990; Steffens, 1990). Ces polypeptides jouent vraisembablement un rôle-clé dans le contrôle homéostatique de la concentration en ions métalliques et As chez les végétaux. En conditions controlées, différents auteurs ont mis en évidence l'existence d'une relation, dépendant du niveau et du temps d'exposition, entre la concentration en phytochélatines et l'intoxication à court terme des éléments suivants: Cu (Schat et Kalf, 1992), Cd (De Knecht et al., 1994 ; Lagriffoul, 1998), Zn (Harmens et al., 1993) et As (Sneller, communication personnelle).

Les biomarqueurs non-spécifiques, qui répondent à un ensemble de stress environnementaux, sont sans aucun doute utiles car ils montrent l'existence d'un risque pour le végétal. En dépit de leur manque de spécificité, ces biomarqueurs permettent d'évaluer la phytotoxicité des métaux contenus dans un sol, en l'absence d'autres facteurs de stress ou bien si ceux-ci sont constants. Par exemple, il existe une corrélation forte entre l'induction d'enzymes (ex. ICDH, POD, ME et GDH) et la concentration en métal dans les feuilles primaires du haricot (*Phaseolus vulgaris* L. Limburgse Vroege) à tel point que l'on peut calculer pour Zn et Cd la valeur critique qui est égale au seuil de toxicité (226 et 5,5 mg kg^{-1}MF respectivement) (Van Assche et al., 1988). Cette relation quantitative en combinaison avec les modifications spécifiques du profil des isoperoxydases (Van Assche et al., 1986) et les données liées aux critères de croissance (ex: hauteur, masse, surface foliaire) permettent de disposer d'un biotest pour l'évaluation de la phytotoxicité des sols (Van Assche et Clijsters, 1990b; Vangronsveld et Clijsters, 1992). Le tableau 1.7 montre le classement des données biologiques dans des classes de phytotoxicité. Afin d'affiner le test biologique, d'autres espèces de plantes, plus ou moins sensibles aux éléments traces que le haricot sont progressivement inclues : le maïs (*Zea Mays* L.) (Mench et al., 1994a ; Mocquot et al., 1996 ; Lagriffoul et al., 1998) et la tomate (Ruttens et al., 1998). La différence de sensibilité entre le maïs et le haricot est illustrée par le fait que la valeur seuil en Cd pour laquelle la croissance des plantes est inhibée est de 123 et 73 mg kg^{-1}MS pour les feuilles F3 et F4 du maïs (Lagriffoul et al., 1998) et seulement de 5,5 mg kg^{-1}MS pour les feuilles primaires des haricots (Van Assche et al., 1988). Le maïs possèderait des mécanismes de détoxication différents et/ou plus efficaces que le haricot, tels que la chélation par des composés organiques, des peptides et des systèmes anti-oxydants.

Les réponses physiologiques et métaboliques des plantes, cultivées sous conditions contrôlées, intègrent tous les effets antagonistes, en synergie ou cumulatifs de différents métaux. Pour cette raison, le test décrit peut être utilisé pour apprécier la phytotoxicité des sols contaminés.

Tableau 1.7 : Classement des données biologiques en fonction de l'intensité de l'effet. Les limites de classes sont des valeurs relatives (en pourcentage) calculées par comparaison avec les valeurs du contrôle. Dans le cas des valeurs des bandes D des iso-peroxydases, leur capacité est exprimée en pourcentage de la capacité totale des iso-peroxydases des échantillons (d'après Van Assche et Clijsters, 1990b ; Vangronsveld et Clijsters, 1992).

		Niveau de phytotoxicité (numéro de classe)			
Paramètres		**Non toxique (1)**	**Faiblement toxique (2)**	**Modérément toxique (3)**	**Fortement Toxique (4)**
Hauteur des parties aériennes		>85	85-70	70-50	<50
Surface foliaire des feuilles primaires		>85	85-70	70-50	<50
Masse des racines		>85	85-70	70-50	<50
Capacité enzymatique					
Feuilles 1e	POD	<150	150-325	325-500	>500
	ME, ICDH	<125	125-175	175-250	>250
Racines	POD, ME, GDH	<125	125-175	175-250	>250
D iso-peroxydases/Iso-peroxydases totales (*100)					
Feuilles 1e		0	0-25	35-50	>50
Racines		0	0-25	15-30	>30

1.6 REHABILITATION DES SOLS CONTAMINES

1.6.1 Résumé des techniques de réhabilitation

Les techniques de réhabilitation proposées pour des sols contaminés par des éléments traces peuvent être classées en 3 catégories (fig 1.10): méthodes physiques, méthodes biologiques et méthodes chimiques. Ces techniques peuvent être pratiquées *in-situ* ou *ex-situ.*

Un autre classement conventionnel est celui en 'méthodes dures' et 'méthodes douces'. Les 'méthodes dures' altèrent souvent l'activité biologique ou détruisent la structure physique du sol. Parmi ces techniques, on trouve les techniques de stabilisation physique (Conner, 1994), de lavage sous haute pression (Heimhardt, 1990), de lixiviation par des acides (Palmer et al., 1995 ; Van Benschoten et al., 1997), de traitements thermiques (Ayen et al., 1994) et d'électro-migration (Jensen et al., 1994 ; Reed et al., 1996 ; Reddy et Parapudi, 1997 ; Hansen et al., 1997). Les méthodes douces sont destinées à éliminer les risques liés à la présence d'éléments traces sans détruire le sol, c'est à dire sans bouleverser l'activité biologique, les propriétés chimiques et la structure physique. Ce sont

les méthodes biologiques et l'immobilisation (fig. 1.10).

La bio-rémédiation est une méthode de dépollution dans laquelle les métaux du sol sont complexés par des sidérophores de micro-organismes. Le sol est ensuite séparé de la masse microbactérienne. Ces processsus se déroulent dans un réacteur (Bio Metal Sludge Reactor) (Diels, 1997).

Dans la technique de phyto-extraction, on utilise des plantes capables d'accumuler des concentrations de métaux élevées (Cunningham et Berti, 1993 ; Cunningham et al., 1995 ; Verkley et Schat, 1996 ; Ernst, 1996 ; Raskin et al., 1997). Leurs parties aériennes contiennent des métaux jusqu'à 4 à 5 % de leur poids sec sans que la plante subisse un effet négatif (Verkley et Schat, 1996). Le prélèvement des métaux peut être stimulé par l'ajout de certains chélates au sol qui rendent les métaux plus solubles et augmentent ainsi la disponibilité (Raskin et al., 1997). Après récolte, les plantes sont traitées par des méthodes thermiques, biologiques ou chimiques. Une limite de la technique est qu'elle n'est pas applicable sur des sites très fortement pollués. Le niveau de pollution

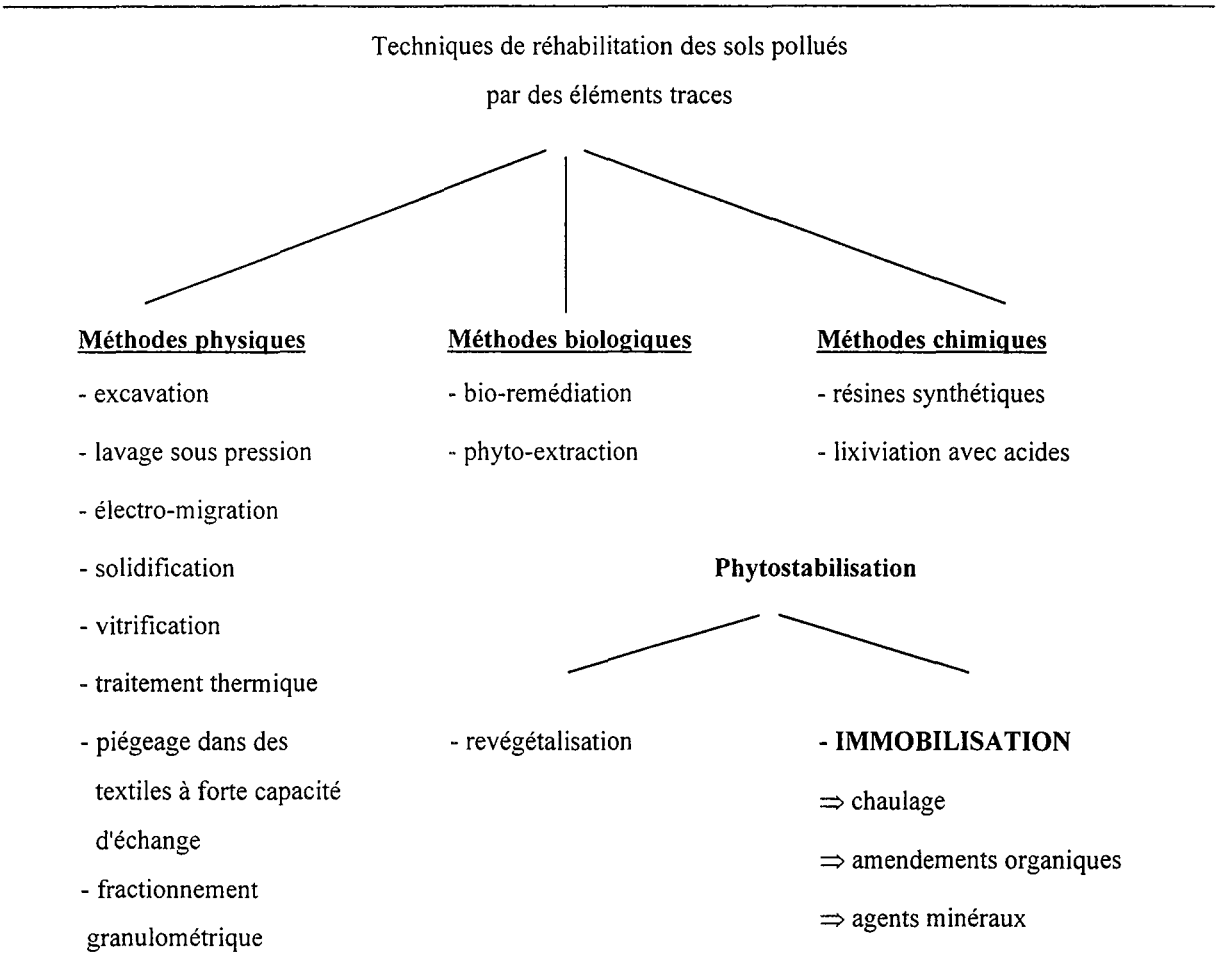


Figure 1.10 : Techniques de réhabilitation des sols pollués par des éléments traces.

doit être dans les limites de la tolérance des plantes hyper-accumulatrices. La phyto-extraction est plus lente que les processus physico-chimiques et doit être considérée comme un processus de réhabilitation de longue durée. Ses avantages sont le respect de l'intégrité du système sol, et le coût qui est plusieurs ordres de magnitude plus bas que les processus physico-chimiques (Cunningham et al., 1995).

La technique d'immobilisation peut être appliquée afin de diminuer le transfert sol-plante et la lixiviation des éléments traces (§ 1.6.2). La phyto-stabilisation consiste en une combinaison de la méthode d'immobilisation avec une méthode biologique (revégétalisation) (§ 1.6.3).

1.6.2 Immobilisation

L'immobilisation n'a pas pour but de décontaminer mais de diminuer l'exposition des organismes vivants aux éléments traces. Elle vise à réduire leur disponibilité et leur mobilité dans le sol afin de limiter le prélèvement par les plantes et la migration vers la nappe (fig. 1.12).

La disponibilité des éléments traces est déterminée par de nombreux facteurs du sol comme la composition organique et minéralogique, le pH et le Eh (§ 1.4.2). En jouant sur ces paramètres, il est possible de modifier cette disponibilité. **Par l'introduction de certains amendements dans le sol, on envisage de changer la composition du sol et ses conditions physico-chimiques de telle manière que les métaux traces se transforment en des formes moins disponibles.**

Le traitement des sols contaminés en métaux traces est classiquement basé sur le chaulage (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). La disponibilité des métaux traces diminue à cause d'une augmentation du pH (§1.4.2.3). Cependant, le chaulage ne donne pas toujours les effets souhaités sur la mobilité des métaux (Benninger-Truaux et Taylor, 1993). L'augmentation du pH du sol a peu d'effet sur la concentration en Cd dans les grains d'orge et de blé (Oliver et al., 1996). Le chaulage d'un sol pollué en Zn diminue dans un premier temps la quantité de Zn échangeable mais après six mois, la quantité de Zn échangeable augmente à nouveau (Chlopecka et Adriano, 1996). De plus, un chaulage excessif peut diminuer la croissance des plantes (Han et Lee, 1996). Dans le cas d'As, le chaulage doit être mené avec prudence car la mobilité d'As pourrait augmenter avec une augmentation du pH.

La capacité de divers autres amendements minéraux à immobiliser les éléments traces a été évaluée (tableau 1.8). Les mécanismes d'immobilisation dépendent de l'amendement. Les zéolites, par exemple, immobilisent les éléments traces grâce à une capacité d'échange d'ion élevée due à la substitution de Si^{4+} par Al^{3+} dans leur tétraèdres (Mench et al., 1998). Quant à l'hydroxyapatite (HA), l'immobilisation du Pb s'effectue par le processus de précipitation de pyromorphites après solubilisation de HA (Ma et al., 1993, 1994a,b ; Laperche et al., 1996). Le mécanisme d'immobilisation peut également dépendre de l'élément immobilisé. L'immobilisation des métaux

autres que le Pb par HA ne serait pas due à la précipitation d'un minéral cristallisé comme la pyromorphite.

La liste donnée dans le tableau 1.8 et les quelques exemples de mécanismes d'immobilisation ne sont pas exhaustifs. Des revues plus complètes concernant l'immobilisation (amendements utilisés, principaux résultats, efficacité, mécanismes d'immobilisation) existent (Chlopecka et al., 1999; Mench et al. 1998, 1999, Vangronsveld et al., 1999). Dans ce mémoire, pendant la discussion des résultats, on revient sur les mécanismes d'immobilisation qui concernent les amendements utilisés dans ce travail.

Tableau 1.8: Amendements utilisés dans des études d'immobilisation des éléments traces dans le sol.

Amendement	**Eléments immobilisés**	**Référence**
Minéraux de phosphate -Hydroxyapatite	Pb, Cd, Cu, Ni, Zn	Suzuki et al., 1981; Takeuchi and Arai, 1990; Middelburg and Comans, 1991; Ma et al., 1993, 1994a+b; Laperche et al., 1996, 1997; Xu et al., 1994; Boisson et al., 1999a, 1999b.
- Scories phosphatées	Cd, Zn	Didier et al., 1993; Mench et al., 1994a+b
Alumino-silicates: - Zéolites synthétiques ou naturelles	Pb, Cd, Cu, Zn	Gworek 1992 a+b; Rebedea and Lepp, 1994; Chlopecka and Adriano, 1996
-Montmorillonite et 'gravel-sludge'	Zn , Cd	Krebs-Hartmann, 1997
- Béringite	Zn, Cd, Pb, Ni, Cu	Vangronsveld et al. 1990, 1995a+b; Mench et al., 1994b; Boisson et al., 1998, 1999a
(hydr)oxydes de Al, Fe et Mn	As, Cd, Cu,	McKenzie, 1980; Artiola et al., 1990; Fu et al., 1991; Mench et al., 1994a, 1998 ; Sappin-Didier, 1995;
Produits contenant du Fe - Grenailles d'acier	Cd, Cu, Ni, As	Mench et al., 1994b; Sappin-Didier, 1995; Boisson et al., 1998, 1999a
- Fe-rich	Zn	Chlopecka et Adriano, 1996

On présente ici un exemple d'un essai d'immobilisation *in situ* en plein champ (Boisson et al. 1998). La béringite et la grenaille d'acier ont été mélangées dans les 20 premiers cm d'un site expérimental agricole pollué par des métaux suite à des épandages de boue d'épuration ou de fumier. Un an après l'apport des amendements, des extractions au nitrate de calcium (0,1 M) et la détermination du transfert sol-maïs pour le Cd et le Ni ont été réalisées. L'addition de la béringite

(5% m/m) et de la grenaille d'acier (1 % m/m) a diminué l'extractibilité du Cd et du Ni dans les parcelles les plus polluées de 54% et 53 % après l'apport de la béringite et de 41% et 40 % après l'apport de la grenaille d'acier. Après la culture, les teneurs en métaux dans les différents organes du maïs (6ème feuille, feuille de l'épi et grains) ont été mesurées. Le transfert sol-plante du Cd a diminué après l'apport de béringite (excepté sur les parcelles les plus polluées), contrairement à l'apport de grenaille d'acier. L'addition de béringite ou de grenaille d'acier a diminué le transfert du Ni du sol aux parties aériennes et aux grains du maïs. Aucun symptôme de phytotoxicité ou de carence n'a été observé suite à l'apport de ces amendements minéraux. L'utilisation de béringite ou de grenaille d'acier dans les sols pollués semble donc intéressante pour diminuer le transfert sol-plante du Ni. La profondeur d'enfouissement et la méthode d'application des amendements dans les sols semblent être des variables importantes à étudier.

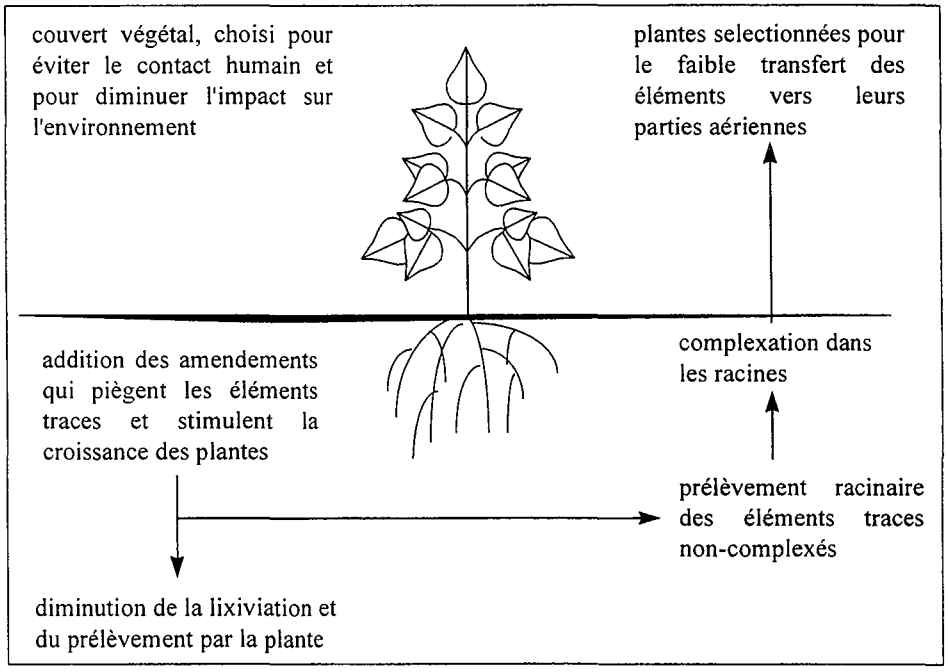


Figure 1.11 : Processus impliqués dans la technique de phyto-stabilisation des sites pollués (d'après Cunningham et al., 1995).

1.6.3 Phytostabilisation

La technique de phyto-stabilisation est la combinaison d'une méthode chimique (immobilisation) et biologique (révégétalisation) (fig. 1.11). **Cette méthode a pour but de diminuer l'extension d'un site pollué et l'exposition des organismes vivants aux éléments traces.**

L'immobilisation des éléments traces vise à réduire leur mobilité et leur disponibilité dans le sol, à limiter leur prélèvement par les plantes, à empêcher leur migration vers la nappe et à diminuer

la phytotoxicité du sol (§ 1.6.2, fig. 1.11). L'immobilisation augmente ainsi les chances d'un succès de révégétalisation. Le couvert végétal empêche l'érosion par le vent et la pluie et diminue la percolation des éléments traces vers des horizons plus profonds et la nappe (fig 1.11) (Vangronsveld et al., 1991, 1995a+b). Le risque d'un contact humain direct avec le sol pollué diminue aussi après l'établissement d'un couvert végétal.

Un exemple réussi de la technique de phytostabilisation en plein champ est le site presque nu d'une ancienne fonderie de Zn en Belgique. Le site est fortement pollué en Cd et surtout en Zn. En 1990, 3 des 135 ha du sol ont été traités avec une combinaison de béringite et de compost. Après l'incorporation des amendements, un mélange de graines de plantes métaux-tolérantes (*Agrostis capillaris* et *Festuca rubra*) a été semé. Immédiatement après le semis, un couvert végétal a commencé à se développer (Vangronsveld et al., 1991,1995b). Cinq ans après, l'inventaire des paramètres physico-chimiques et de la phytotoxicité du sol, de la diversité floristique et fungique et de l'infection des plantes avec des mycorhizes a été réalisé. La fraction des métaux extractible à l'eau est jusqu'à 70 fois plus basse en comparaison avec le sol non-traité. Une faible phytotoxicité (appréciée par le test décrit en §1.5.3) par rapport au sol non-traité est maintenue. La végétation est toujours en bonne santé et se régénère par les graines et la voie végétative. Sur le sol traité, la diversité des plantes supérieures est très élevée en comparaison avec le sol non traité. Plusieurs plantes, non connues pour être métaux-résistantes, ont colonisé le sol. L'ubiquité des mycorhizes dans les racines des plantes montre qu'un écosystème s'est installé et fonctionne.

CHAPITRE 2

CHAPITRE 2

SITES, SOLS ET AMENDEMENTS

2.1 SITES ET SOLS POLLUES

On a étudié cinq échantillons de sol, provenant de l'horizon de surface (0-20/25 cm) de trois sites différents. Ce sont des sols sableux ou sablo-limoneux avec un pH acide à faiblement acide. C'est dans ce type de sol que les éléments traces sont les plus mobiles. Une brève description des sites ainsi que des caractéristiques physico-chimiques des échantillons de sol sont données dans ce chapitre.

2.1.1 Site de Overpelt (Belgique)

En 1885, une fonderie de Zn a été construite à Overpelt. Le processus de la fonderie était pyrométallurgique. Ce processus a été changé en 1974 et la production a continué jusqu'en 1993 selon un processus d'électrolyse. Depuis, il existe seulement une activité de recyclage de métaux non-ferreux, c'est à dire une extraction secondaire de métal (Vangronsveld, communication personnelle). Le minerai de Zn contient beaucoup de 'contaminants' comme Cd, Pb, Cu et As. Par exemple, l'évacuation de Cd de la fonderie par évaporation en 1950, 1970, 1989 et 1992 était de 240, 200, 0,35 et 0,04 kg Cd par jour (Staessen et al., 1995). Le site d'une superficie d'environ 300 ha est fortement pollué. Les environs du site sont également pollués en Zn, Cd et Pb. Sur plus de 280 km^2 autour du site (contribution de trois autres fonderies inclue), la concentration en Cd dans l'horizon A du sol est supérieure à 1 mg kg^{-1} (Vangronsveld, communication personnelle). Une concentration de 1 mg kg^{-1} est égale à la limite supérieure de la concentration des sols non-pollués en Belgique (De Temmerman et al., 1984) et 33 fois supérieure à la concentration médiane des sols sableux en France (tableau 1.1). Le sol d'origine est classé comme un podzol. Sur le site de Overpelt, des prélèvements ont été réalisés à deux endroits différents :

Overpelt 1 (Ov 1) :

L'endroit où l'échantillon Ov 1 a été prélevé est pollué par des retombées atmosphériques. La végétation est absente sur ce site. A quelques dizaines de mètres, *Betula pendula* et un écotype métaux-tolérant d'*Agrostis capillaris* sont présents. Les caractéristiques physico-chimiques du sol sont données dans le tableau 2.1. La teneur en métaux et en As est élevée par rapport aux concentrations médianes des sols sableux en France (tableau 1.1). La teneur en Cd, par exemple, est 207 fois plus élevée.

Tableau 2.1: Caractéristiques physico-chimiques et concentrations totales en éléments des sols pollués.

		Ov 1	Ov 2	Rep 1	Rep 2	Port
Sable	g kg^{-1}	902	873	662	709	836
Limons	g kg^{-1}	81	99	288	213	128
Argiles	g kg^{-1}	17	28	50	78	36
$CaCO_3$	g kg^{-1}	< 2	3	< 1	< 1	< 1
P_2O_5[1]	g kg^{-1}	0.011	0.017	0.218	0.290	0.028
C organique	g kg^{-1}	7.43	45.74	17.68	48.33	1.43
N organique	g kg^{-1}	0.33	0.99	1.14	1.05	0.24
CEC[2]	Cmol+ kg^{-1}	0.76	2.33	3.86	12.66	1.3
pH_{H2O}		5.7	6.2	6.6	6.0	4.1
Concentration totale des éléments (extraction par HF)[3]						
As	Mg kg^{-1}	**36.1**	**311.9**	**112.9**	**34700.0**	**1823.0**
Cd	Mg kg^{-1}	**6.2**	**151.0**	**1.1**	**131.5**	**4.9**
Cu	Mg kg^{-1}	**132.0**	**2302.0**	**27.1**	**4745.0**	**19.4**
Ni	Mg kg^{-1}	**13.6**	**70.5**	11.9	**5590.0**	< 2
Pb	Mg kg^{-1}	**435.0**	**4760.0**	**61.8**	**6630.0**	**271.3**
Zn	Mg kg^{-1}	**972.0**	**18250.0**	**122.0**	**1670.0**	**204.0**

[1] Olsen
[2] cobaltihexamine
[3] Les valeurs en gras sont supérieures aux concentrations médianes en As (17,5) et en métaux traces (tableau 1.1) des sols français.

Tableau 2.2 : Caractéristiques physico-chimiques et concentrations totales en éléments des sols de référence.

		Pierroton (P)	Gouzengrez (G)	Solepur (S)	Jardin LUC (JL)
Sable	g kg^{-1}	920.3	38	225	691
Limon	g kg^{-1}	31.8	768	634	304
Argile	g kg^{-1}	47.9	194	141	5
$CaCO_3$	g kg^{-1}	< 1	< 1	< 1	< 1
P_2O_5	g kg^{-1}	0.19[3]		2.50[2]	0.23[1]
C organique	g kg^{-1}	25.72	11.9	15.53	5.74
N organique	g kg^{-1}	0.95		1.61	
CEC[4]	Cmol+ kg^{-1}	21.3	11.7	12.04	9.3
pH_{H2O}		4.6	6.5	7.1	6.9
Concentration totale des éléments (extraction par HF)					
As	Mg kg^{-1}	1.1	8.0	**73.9**	4.0
Cd	Mg kg^{-1}	0.08	0.29	0.10	0.6
Cu	Mg kg^{-1}	2.9	11.0	**37.2**	12
Ni	Mg kg^{-1}	< 2	23.5	48.4	4.1
Pb	Mg kg^{-1}	9.9	28.0	24.3	26
Zn	Mg kg^{-1}	12.2	52.0	132.9	62

[1] Olsen
[2] Dyer
[3] HF
[4] Cobaltihexamine

Overpelt 2 (Ov 2) :

L'échantillon Ov 2 provient d'un endroit contenant des déchets et de la fonderie. Une partie du site est nu. Sur une autre partie, des écotypes métaux – tolérant d'*Agrostis capillaris* et de *Molinia caerulea* sont présents. La concentration en As, Cd, Cu, Ni, Pb et Zn (tableau 2.1) est 18, 5033, 719, 17, 290 et 1074 fois plus élevée que la concentration médiane des sols sableux en France (tableau 1.1).

2.1.2 Site de Reppel (Belgique)

La raffinerie de Reppel a été construite dans les années 1910. Dans l'usine, on a raffiné les concentrés d'arsenic provenant des fonderies de Zn. L'usine a fonctionné jusqu'en 1965. Le site industriel (8 à 10 ha) est fortement pollué par le stockage des concentrés des fonderies de Zn et l'arsenic raffiné. Les alentours ont été pollués par des retombées atmosphériques, puis par l'entraînement des particules par l'érosion éolienne. Le sédiment d'une rivière à 3 km du site industriel contient 80 mg kg^{-1} d'As (Staes et Swennen, 1993). Des poussières contenant As ont été mises en évidence sur du maïs dans les environs du site (Vangronsveld, communication personnelle). Le sol est classé comme un podzol. Deux échantillons ont été prélevés :

Reppel 1 (Rep 1) :

Rep 1 a été prélevé dans un champ de maïs qui se trouve directement à côté du site industriel. A l'exception de Ni, la concentration des éléments traces (tableau 2.1) est élevée par rapport aux valeurs médianes en France (tableau 1.1). La concentration en As est 6,5 fois plus élevée. Si on compare les concentration avec les limites supérieures des concentrations pédo-géochimique en Belgique (De Temmerman et al., 1984), seules les concentrations en As et Pb sont plus élevées.

Reppel 2 (Rep 2) :

Rep 2 a été prélevé sur le site industriel. Ce site est en grande partie nu. Dans la périphérie du site, *Agrostis capillaris* et *Salix caprea* ainsi que des lichens sont présents. Les concentrations de tous les éléments traces étudiés (tableau 2.1) sont élevées par rapport aux concentrations médianes des sols en France (tableau 1.1). En particulier, la concentration en As est 1982 fois plus élevée. Toutes les concentrations sont également élevées par rapport aux limites supérieures des concentrations pédo-géochimique en Belgique (De Temmerman et al., 1984). Une étude de la distribution verticale des éléments traces sur le site a montré qu'à 50 cm de profondeur, la concentration en métaux traces a diminué jusqu'à des niveaux faibles. Par contre, la concentration en As reste élevée au-delà 50 cm ce qui indique que des quantités élevées d'As pourraient atteindre l'eau de la nappe (Staes et Swennen, 1993).

2.1.3 Site de Jales (Portugal)

Le site de Jales est une ancienne mine d'or qui a été en exploitation entre 1933 et 1993 comme mine souterraine. Sur le site d'une superficie de 14,4 ha (De Koe, 1998), des tas représentant 320.000 m^3 de résidus de la mine sont présents (Santos Oliveira et Freire Ávila, 1995). Les résidus sont constitués principalement de quartz. La présence d'arsénopyrite, de pyrite, de galène, de blende, de chalcopyrite et de sulfate de Ag et Au a été démontrée (Santos Oliveira et Freire Ávila, 1995). Le site est pratiquement nu. Quelques espèces de plantes sont présentes, telles que *Agrostis delicatula, Agrostis castellana, Cytisus striatus, Juncus sp.* et *Holcus lanatus* L. (De Koe, 1998). La nudité du site résulte en une érosion importante. Cinq ans après la fermeture de la mine, 32.000 m^3 (10% de la quantité totale) ont déjà été disséminés (De Koe et al., 1999). Dans les sédiments de la rivière Tinhela, des facteurs d'enrichissement de 40 pour As, 5 pour Cd, 4 pour Zn et 3,5 pour Pb ont été détectés à 5 km du site (Santos Oliveira et Freire Ávilla, 1995). Récemment, une augmentation de la concentration en As et une diminution du pH ont été détectées à 40 km de la mine (De Koe et al., 1999). Des sédiments alluviaux prélevés dans des endroits de la zone d'influence des tas de résidus (utilisés comme pâturage pour le bétail) sont également enrichis avec les mêmes éléments (Santos Oliveira et Freire Ávila, 1995). L'échantillon Port a été prélevé en surface sur le tas de résidus. Il s'agit donc d'un substrat développé sur un stérile de mine. Tous les éléments traces sauf le Ni (tableau 2.1) sont présents à des concentrations supérieures à celle de la médiane des sols sableux en France (tableau 1.1).

2.2 SOLS DE REFERENCE

Dans certaines parties de l'étude, on a inclus un ou plusieurs sols afin d'obtenir des valeurs de référence. Ces sols ont été choisis sur la base de l'absence d'une contamination ou la présence d'une faible contamination (tableau 2.2) et sur le fait que dans des études antérieurs, aucun effet négatif sur des végétaux cultivés n'a été observé.

Pierroton (P)

L'échantillon P a été prélevé sur un site agricole expérimental de l'INRA à Pierroton (Gironde, France). Le sol est un podzol à hydromorphie en profondeur. Seul la concentration en Cd (tableau 2.2) est légèrement plus élevée que la médiane des sols sableux en France (tableau 1.1). L'absence d'une phytotoxicité du sol a été démontré dans des tests biologiques (Mench, communication personelle).

Gouzengrez (G)

L'échantillon G provient d'un site agricole. Le sol s'est développé sur les limons loessiques des plateaux du Vexin (France) et est de type sol brun lessivé. Le sol a fait partie de plusieurs programmes

de recherche (Mench et al., 1996a ; Morel et al., 1998). A partir des activités enzymatiques, l'absence d'un effet phytotoxique a été démontrée, même si la concentration en tous les éléments sauf As (tableau 2.2) est légèrement plus élevée que la médiane des sols limoneux en France (tableau 1.1).

Solepur (S)

L'échantillon S provient d'un dispositif expérimental qui a été mis en place en 1990 par le Cemagref en Bretagne à Plouvorn (Finistère, France). Il s'agit d'un sol brun faiblement lessivé (Fardeau et Martinez, 1996). La concentration en As (tableau 2.2) est 4 fois plus élevée que la médiane en France (§ 1.1). La concentration en Cu, Ni et Zn est d'environ 6, 4 et 3 fois plus élevée que la médiane des sols limoneux en France (tableau 1.1). Les concentration n'ont cependant pas atteint un niveau phytotoxique étant donné que dans un test biologique l'absence d'effet sur les activités enzymatiques a été démontré (Mench et al., 1996b).

Jardin LUC (JL)

L'échantillon JL provient d'un jardin en Belgique. Il s'agit d'un podzol. Toutes les concentrations (tableau 2.2) sont en dessous des limites supérieurs du fond pédo-géochimique en Belgique (De Temmerman et al., 1984). Les concentrations totales de Cu et de Zn sont 2 fois plus élevées que la valeur médiane des sols sableux en France. Ceci n'a pourtant pas d'effet négatif sur le développement des végétaux. Le sol JL a été inclus comme sol de référence dans de nombreuses études d'appréciation de la phytotoxicité des sols pollués en éléments traces (Vangronsveld et al., 1991, 1994, 1995a, 1995b, 1996 ; Vangronsveld et Clijsters, 1992 ; Vangronsveld, 1998).

2.3 AMENDEMENTS MINERAUX

Le choix des amendements a été basé, d'un part, sur les connaissances de l'influence des minéraux sur la spéciation des éléments traces dans le sol, et d'autre part, sur des études antérieures. En effet, la plupart des amendements étudiés ont déjà été testées. Par contre, peu d'études ont inclus plusieurs sols et/ou plusieurs amendements à la fois. A partir de ces études, il est donc difficile de conclure en l'effet général des amendements. De plus, les amendements les plus prometteurs ont été peu évalués dans une même étude sous des conditions opératoires similaires.

La fixation des métaux traces et de l'As sur des (hydr)oxydes de fer est importante dans la distribution de ces éléments dans le sol (§ 1.4). On a alors choisi d'utiliser quelques amendements à base de fer (§ 2.3.1). Afin d'évaluer l'importance de la formation des oxydes de fer *in-situ*, on a inclus parmi les oxydes de fer cristallisés (maghémite et magnétite) un autre matériel contenant du fer métallique (Fe^0, α-Fe, grenaille d'acier). La grenaille d'acier et la magnétite ont fait partie des études

antérieures concernant l'immobilisation des éléments traces (Mench et al. 1994a ; Didier et al., 1993; Sappin-Didier,1995 ; Gomez et al., 1997 ; Boisson et al., 1998 ; Vangronsveld 1998a).

Les phosphates peuvent immobiliser une grande variété de métaux traces. Par exemple dans des sols pollués en plomb, on a identifié de la pyromorphite (minéral de phosphate de plomb). Il est alors intéressant d'étudier l'influence d'un apport d'un minéral phosphaté (hydroxyapatite, § 2.3.3) sur la mobilité et le transfert sol-plante des éléments traces et sur la phytotoxicité du sol. L'hydroxyapatite a été évalué dans plusieurs études (Ma et al., 1993 ; Chlopecka et Adriano, 1996,1997 ; Laperche et al., 1997).

Les métaux traces sont également adsorbés par des minéraux argileux (§ 1.4). La béringite contient notamment le minéral argileux illite. La béringite est un produit alcalin et l'apport de béringite augmente le pH du sol. C'est pour ces raisons que l'on a choisi d'inclure la béringite comme amendement dans cette étude (§ 2.3.2). La béringite a fait partie de plusieurs études antérieures (Mench et al. 1994a ; Wessolek et Fahrenhorst, 1994 ; Vangronsveld et al., 1990, 1991, 1992, 1995a+b ; Boisson et al., 1998).

2.3.1 Composés à base de fer

2.3.1.1 Magnétite

La formule de la magnétite est Fe_3O_4. Les anions sont assemblés selon une structure cubique centrée, 1/3 des interstices étant en coordination tétraédrique avec l'oxygène et 2/3 étant en coordination octaédrique. Toutes les positions sont remplies par Fe ; les positions tétraédriques sont totalement occupées par Fe^{3+} et les positions octaédriques par Fe^{2+} et Fe^{3+} (Schwertmann et Cornell, 1991). Sa surface spécifique est 20,6 $m^2\ g^{-1}$. La valeur de PCN de la magnétite est 6,5 (Stumm, 1992). La magnétite dans les sols est souvent d'origine lithogène. Par contre, la magnétite peut se former également en surface dans les sols par des processus biologiques (Schwertmann et Cornell, 1991). Cet oxyde de fer a été synthétisé par le Dr. A. Manceau au laboratoire Géochimie de l'environnement LGIT-IRIGM, à l'université Joseph Fourier, Grenoble.

2.3.1.2 Maghémite

La formule de cet oxyde de fer est γ-Fe_2O_3. La structure cristalline est similaire à celle de la magnétite. Seulement 5/6 des positions disponibles au total sont remplies par Fe^{3+}, le reste est vacant (Schwertmann et Cornell, 1991). Sa surface spécifique est 17,6 $m^2\ g^{-1}$. La valeur de PCN de la maghémite est 6,7 (Sappin-Didier, 1995). La maghémite est un des oxydes de fer présent sans exception dans les sols (sub)tropicaux mais qu'on peut également trouver dans des sols des régions tempérées (Schwertmann et Cornell, 1991). La maghémite peut être formée durant la pédogénèse par différents processus, dont l'oxydation de la magnétite. Aussi, la formation de maghémite à partir

d'autres oxydes de fer comme la lépidocrocite ou la goethite est possible. La transformation de ce dernier en maghémite est cependant très rare dans la nature (Schwertmann et Cornell, 1991). Cet oxyde de fer a également été synthétisé par le Dr. A. Manceau.

2.3.1.3 Grenaille d'acier

La grenaille d'acier est constituée de petites particules angulaires de granulométrie moyenne de 0,35 mm. L'acier est coulé et obtenu par concassage. La grenaille d'acier est réservée dans l'industrie aux travaux de nettoyage ou de préparation de surface (dessablage de surface métallique, sciage du granite...). La grenaille d'acier est un produit commercialement disponible.

Les particules sont composées à 97% de fer métallique (α-Fe) et 3% d'impuretés (tableau 2.3) (Sappin-Didier, 1995). La grenaille d'acier s'oxyde dans le sol pour former entre autre des (hydr)oxydes de fer comme la goethite, la lépidocrocite et la maghémite (Sappin-Didier, 1995 ; Hargé, 1997) et des oxydes de manganèse (Manceau et al., 1996 ; Hargé, 1997). La grenaille d'acier étant instable dès sa mise en solution (libération de Fe et de Mn dans la solution, oxydation), la caractérisation de sa surface spécifique et de son PCN ne représente pas d'intérêt. Ces deux paramètres sont à rechercher pour les produits formés *in-situ*, la difficulté étant de les isoler.

Tableau 2.3 : Composition chimique moyenne de la grenaille d'acier (Sappin-Didier, 1995).

Elément	Quantité %			Elément	Quantité %		
Fe	Complément à 100 %			**Zn**	0.007	A	0.015
C	0.8	A	1.2	**Sn**	0.006	A	0.012
Si	0.8	A	1.2	**Cu**	0.1	A	0.3
Mn	0.6	A	1	**Pb**	0.001	A	0.002
Al	0.06	A	0.1	**Mo**	< 0.02		
S	0.015	A	0.025	**W**	< 0.001		
P	0.020	A	0.035	**B**	< 0.001		
Cr	0.2	A	0.5	**Cd**	< 0.001		
Ni	0.08	A	0.15	**Sb**	< 0.0008		
As	0.007	A	0.015	**Be**	< 0.0003		

2.3.2 Hydroxyapatite

L'hydroxyapatite est un minéral composé de phosphate et de calcium avec la formule $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Ce produit a été commandé chez Aldrich (Milwaukee, USA). Il s'agit d'un produit pur qui est utilisé dans des études biologiques. Les impuretés ont été considérées comme négligeables. Des études en diffraction X sur notre échantillon ont pu démontrer qu'il s'agit bien du minéral phosphaté hydroxyapatite (Denaix, communication personnelle). L'hydroxyapatite est, comme la grenaille d'acier, instable dès sa mise en solution.

2.3.3 Béringite

Le matériel de l'ancienne mine de charbon de Beringen (Belgique) a été brûlé dans un lit fluidisé afin de générer de l'électricité. Le matériel contient environ 30% de charbon, l'autre fraction est inorganique, principalement des schistes. Les minéraux présents dans les schistes sont : quartz, illite, kaolinite, chlorite, calcite, dolomite, anhydrite, sidérite et pyrite (De Boodt, 1991). L'illite est le minéral argileux le plus abondant. Les schistes ont été brûlés à 800 °C en présence des oxydes de Al. L'échauffement a eu pour résultat que les schistes ont été partiellement cassés, recristallisés et enrobés avec des oxydes de Al. Un spectre de diffraction X du matériel après chauffage montre que les pics de kaolinite, chlorite et pyrite ont disparus. Un nouveau minéral nommé ettringite est formé (De Boodt, 1991). Par succion d'air, la plupart des particules avec un diamètre inférieur à 2 mm ont été séparées dans un cyclone. Les cendres cycloniques qui forment principalement la fraction des argiles modifiées s'appellent la béringite. La structure des argiles modifiées et lamellaire et poreuse.

La composition chimique de la béringite est donnée dans le tableau 2.4. La surface spécifique est d'environ 20 $m^2\ g^{-1}$. La CEC, déterminée dans une solution tamponnée (pH 7) de NH_4OAc, varie de 16 à 22 cmol+ kg^{-1}. Le potentiel redox est environ 190 ± 30 mvolts. Comme pour la grenaille d'acier, la béringite était commercialement disponible. La béringite a été fournie par le Dr. J. Vangronsveld du département Biologie Environnemental du Centre Universitaire de Limburg, Hasselt, Belgique.

Tableau 2.4 : Composition chimique de la béringite (De Boodt, 1991).

Elément	Quantité (%)	Elément	Quantité (mg kg^{-1})
SiO_2	52	Mn	1100
Al_2O_3	30	Cu	120
CaO	3,45	Zn	630
MgO	1,48	Cd	9,1
K_2O	2,65	Co	98
Na_2O	0,58	Ni	123
Fe_2O_3	4,72	Pb	203
		Cr	950

CHAPITRE 3

CHAPITRE 3

IMMOBILISATION DES ELEMENTS TRACES PAR DES AMENDEMENTS MINERAUX : EVALUATION PAR EXTRACTION

3.1 INTRODUCTION

Le premier objectif de ce chapitre est d'évaluer la possibilité de changer, par des amendements minéraux (§ 2.3), les conditions physico-chimiques du sol de telle manière que les métaux traces et l'arsenic deviennent moins mobiles. Cette évaluation permet de faire un premier tri des amendements. Le deuxième objectif est de définir si l'effet des amendements est reproductible sur différents sols. On a alors inclus dans une seule étude cinq sols avec des paramètres (source et niveaux de pollution, structure du sol, pH, etc.) très différents (§ 2.1).

Pour les sols contaminés en métaux traces, il a été démontré qu'un amendement qui donne lieu à la formation de phases solides *in-situ* (grenaille d'acier) est plus efficace dans l'immobilisation des métaux que celui qui est constitué d'une phase cristallisée (magnétite) (Sappin-Didier, 1995). Le troisième objectif de ce chapitre est de tester si ce phénomène se produit également pour l'arsenic. Les sols pollués principalement avec de l'arsenic ont alors reçu soit un apport de grenaille d'acier, soit un apport de maghémite ou de magnétite.

Au début de cette étude, seul l'effet de l'hydroxyapatite sur la mobilité du plomb dans le sol avait été testé (Ma et al., 1993). En ce qui concerne les autres métaux, seules des études en milieu aqueux avaient été conduites (Suzuki et al., 1981 ; Middelburg et Comans, 1991 ; Jeanjean et al., 1994 ; Xu et al., 1994 ; Ma et al., 1994b). Nous émettons l'hypothèse que les processus d'immobilisation dans les milieux aqueux peuvent se produire aussi dans le sol. Nous avons donc inclus l'hydroxyapatite dans notre étude. Des ions phosphate sont libérés dans la solution du sol quand l'hydroxyapatite se solubilise (Ma et al., 1993, 1994a,b). Ceci nous mène à l'hypothèse que le phosphate remplace l'arséniate de la phase solide du sol et que un apport d'hydroxyapatite augmente ainsi la mobilité de l'arsenic. Afin de vérifier cette hypothèse, l'hydroxyapatite a été testée dans deux des trois sols pollués en arsenic.

La quantité d'amendements a été déterminée à partir d'essais antérieurs. Dans ces essais, l'apport a été optimisé du point de vue de l'efficacité d'immobilisation, des propriétés physico-

chimiques du sol (pH, colmatage du sol, taux de Mn, etc.) et du coût (Mench et al., 1994a,b ; Vangronsveld et al., 1995a ; Sappin-Didier, 1995). Comme l'hydroxyapatite a été utilisée pour la première fois, des taux différents ont été employés afin de conclure en son efficacité.

L'effet des amendements sur la mobilité des métaux traces et de l'arsenic a été étudié par une extraction. Malgré ses désavantages (§ 1.4.3.3), cette méthode permet de présumer rapidement des changements de mobilité d'un élément dans le sol en fonction de l'amendement, afin de faire un premier tri parmi les matériaux potentiels. Dans le cas des métaux, on utilise une solution de nitrate de calcium (0,1 M) au lieu du chlorure de calcium (sel le plus utilisé, Sauerbeck et Stypereck, 1985). Sappin-Didier (1995) a montré que le Cd extractible par le $Ca(NO_3)_2$ a permis de hiérarchiser l'effet d'amendements sur la mobilité du Cd dans des sols pollués. Les tests réalisés à l'aide de $Ca(NO_3)_2$ se sont aussi avérés satisfaisants pour Zn et Pb (Mench et al., 1994a+b). De plus, on évite la formation des complexes solubles du Cl avec les métaux (§ 1.4.3.4). Dans le cas de l'arsenic, les extractions ont été effectuées avec de l'eau distillée. Woolson et al. (1971a) et Walsh et Keeney (1975) ont montré que les concentrations en As dans les plantes corrèlent souvent d'une manière consistante avec la quantité extraite à l'eau.

3.2 MATERIELS ET METHODES

3.2.1 Mise à l'équilibre en vase de végétation

Les sols ont été séchés à l'air au préalable et tamisés à 2 mm sur un tamis en nylon afin d'éviter toute contamination supplémentaire. 200 g de chaque sol pollué ont été mélangés avec chacun des amendements (tableau 3.1). Les sols et les amendements ont été mélangés par rotation pendant 2 heures dans des flacons en plastique de 2 L, puis transférés dans un vase de végétation.

Les vases de végétation ont été mis à 25°C dans une étuve bactériologique pendant 3 semaines. L'humidité des sols a été maintenue à 70 % de leur capacité de rétention en eau (CRE) par arrosage avec de l'eau distillée. La CRE a été déterminée en saturant 200 g de sol sec contenu dans un tube vertical en PVC (diamètre 5 cm, hauteur 34 cm), bouché en bas à l'aide d'un tamis fin recouvert de quartz lavé. Après 24 h de drainage, on a considéré que la capacité de rétention en eau était atteinte. La quantité d'eau correspondante a été déterminée par pesée. Les capacités de rétention en eau (en mg g^{-1}) sont égales à : 26 (Ov1), 34 (Ov2), 31 (Rep1), 30 (Rep2) et 34 (Port).

Après la période de réaction de trois semaines, les sols ont été séchés à l'air, puis stockés dans des flacons jusqu'au moment de l'extraction.

Tableau 3.1 : Combinaisons étudiées des sols pollués et des amendements.

Amendement	abréviation	Quantité (% m/m sol)*	Sol Ov1	Ov2	Rep1	Rep2	Port
- non traité	NT		X	X	X	X	X
- maghémite	MH	1			X	X	X
- magnétite	MN	1			X	X	X
- grenaille d'acier	GA	1	X	X	X	X	X
- béringite	B	5	X	X	X	X	X
- grenaille d'acier + béringite	GAB	1 + 5	X	X	X	X	X
- hydroxyapatite	HA 0,5	0,5	X	X			
- hydroxyapatite	HA 1	1	X	X			
- hydroxyapatite	HA 5	5	X	X	X	X	

* Quantité d'amendement ajoutée exprimée en masse d'amendement par masse de sol sec (m/m).

3.2.2 pH du sol

25 ml d'eau distillée (pH_{H_2O}) ou de 0,1 M KCl (pH_{KCl}) ont été ajoutés à 10 g de sol sec. Le tout a été mélangé par agitation manuelle de façon à obtenir une suspension homogène. La suspension a reposé pendant 2 heures, en agitant toutes les 15 minutes. Le pH a été mesuré sous agitation (Mettler Toledo Delta 340).

3.2.3 Extraction sélective

Une prise d'essai de 10 g de terre a été introduite dans un flacon en polyéthylène de 250 ml avec 50 ml d'une solution de $Ca(NO_3)_2$ 0,1M (supra pur, Merck) ou de H_2O distillée. Le tout a été agité par rotation pendant 2 heures à température ambiante. La suspension a été filtrée sur des filtres en papier sans cendre de porosité moyenne (Whatmann 40). 4% HNO_3 14M (Merck) a été ajouté. La solution a été conservée à 4°C en vue d'analyse. Par échantillon, trois répétitions ont été réalisées.

Toute la vaisselle a séjourné dans un bain de 5 % (vol / vol) HNO_3 14 M et 10 % (vol / vol) HCl 36-38 % pendant au moins 12 h, puis a été rincée à l'eau permutée et à l'eau distillée.

3.2.4 Concentration en éléments traces dans la solution

La concentration en métaux traces dans les solutions d'extraction a été déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique en flamme air / acétylène (SAAF, Varian Spectra A20). La concentration en arsenic a été déterminée par spectrophotométrie à plasma couplé induit par émission atomique (inductively coupled plasma emission – atomic emission spectrometry ICP-AES, Varian Liberty 200, λ 188,979 nm). Comme limite de travail, on a pris 3 fois l'écart type des différents blancs d'attaque (un blanc d'attaque a été réalisé tous les 10 échantillons), mis en solution et analysés

à des moments différents. Cette limite de travail reflète la qualité de l'ensemble des étapes (extraction, filtration, limite de détection de l'appareil). Elle est égale à (en $\mu g\ L^{-1}$) : As 96 ; Cd 18 ; Cu 18 ; Ni 99 ; Pb 207 et Zn 81.

3.2.5 Analyses statistiques

Les moyennes et écarts types ont été calculés pour les trois répétitions. Des analyses de variance ont été réalisées avec le logiciel STATITCF (ITCF, Paris). L'écart entre les moyennes a été étudié par le test de Newmann-Keuls et les moyennes affectées à la même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. Dans certains cas, les données ont été transformées au préalable en leur logarithme afin d'obtenir une égalité des variances. Pour les moyennes qui ne sont pas suivies d'une lettre, une égalité de variance n'a pas pu être obtenue.

3.3 RESULTATS

3.3.1 Mobilité dans les sols NT : corrélations entre extractabilité et paramètres du sol

Il existe des écarts importants pour la mobilité des éléments entre les sols non traités de différentes origines (tableau 3.2). Les sols Ov2 et Rep2 contiennent des quantités de Cd total comparables (151 et 132 mg kg^{-1}, tableau 2.1), mais le pourcentage de Cd extrait diffère d'un facteur 100. L'extraction avec $Ca(NO_3)_2$ dans Rep2 et Port résulte en une quantité de Cu extrait presque identique (1,92 et 1,93 mg kg^{-1}), alors que Rep2 contient 245 fois plus de Cu total (tableau 2.1).

Tableau 3.2 : Quantité d'éléments traces extraite dans les sols non-traités (NT), exprimée en % de la quantité totale dans le sol (tableau 2.1).

	Sol				
Elément	**Ov1**	**Ov2**	**Rep1**	**Rep2**	**Port**
Cd	49,8	15,5	*	0,1	26,0
Ni	4,8	1,0	*	1,5	*
Cu	3,7	0,05	*	0,04	9,9
Zn	20,7	2,0	*	0,4	26,0
Pb	4,2	0,1	*	*	*
As	*	*	5,0	0,7	0,1

* concentration en dessous de la limite de travail (§ 3.2.4).

Les coefficients de corrélation entre la quantité d'élément extraite dans les sols NT et les paramètres du sol sont présentés dans le tableau 3.3. Les paramètres inclus dans l'analyse sont connus pour avoir une influence sur la mobilité des éléments traces dans le sol (§ 1.4.2.3). Le Pb n'a pas été

considéré car il n'était détectable que dans la solution d'extraction de deux sols. L'extractabilité des métaux est corrélée avec le pH du sol, à l'exception de celle de Cd. Parce que la quantité de données est limitée, cette corrélation n'est significative ($p < 0,05$) que pour Zn et Cu. L'extractabilité des métaux est corrélée aussi avec la quantité de carbone organique (C_{org}) et la capacité d'échange cationique (CEC) du sol, même si la corrélation n'est pas toujours significative. L'extractabilité de l'As est aussi corrélée avec le pH (tableau 3.3). Une différence importante avec les métaux est que l'As est corrélé positivement avec le pH tandis que cette corrélation est négative dans le cas des métaux. Il n'existe pas de corrélation entre l'extractabilité de l'As, la CEC et le C_{org}.

Tableau 3.3 : Coefficients de corrélation entre l'extractabilité des métaux et de l'arsenic dans les sols non traités (NT) et quelques paramètres du sol.

	Cd	Cu	Ni	Zn	As
pH_{H2O}	-0,26	-0,98*	-0,91	-0,82*	0,77
pH_{KCl}	-0,42	-0,92*	-0,87	-0,86*	0,73
C org	-0,79	-0,89*	-0,99*	-0,59	-0,06
CEC	-0,79	-0,53	-0,51	-0,49	-0,19

* significatif à 5%

3.3.2 Influence des amendements sur le pH du sol

MH et MN ont peu ou pas d'influence sur le pH_{H_2O} du sol tandis que le pH augmente avec l'apport de GA, B, GAB et HA (tableau 3.4).

Tableau 3.4 : pH_{H_2O} et ΔH^+ (en ions $H^+ L^{-1} \times 10^{-7}$) des sols non traités (NT) en comparaison avec les mêmes sols traités.

	Ov1		Ov2		Rep1		Rep2		Port	
	pH	ΔH^+	pH	ΔH^+	pH	ΔH^+	pH	ΔH^+	pH	ΔH^+
NT	5,7	105,9	6,2	1,6	6,6	7,5	6,0	15,1	4,1	464,6
MH					6,4	1,0	6,0	10,0	4,2	163,4
MN					6,4	11,9	6,0	15,1	4,1	790,6
GA	6,1	42,2	6,4	1,0	7,2	15,2	6,1	12,0	4,8	1426,4
B	7,9	0,03	7,9	0,3	7,4	0,1	6,5	3,2	8,1	0,02
GAB	7,9	25,0	7,9	0,4	7,6	0,07	6,6	5,4	8,0	0,03
HA 0,5	6,7	2,0	6,9	0,3						
HA 1	7,0	24,1	6,9	0,3						
HA 5	7,8	3,8	8,0	0,7	7,2	7,3	6,6	17,4		

Le ΔpH ($pH_{KCl} - pH_{H_2O}$) est exprimé en $\Delta H^+ L^{-1}$ (calculé en faisant l'hypothèse que le coefficient d'activité γ est égal à 1). Ce choix a été basé sur le fait que des sols peu acides ($pH_{H_2O} \geq$ 5,5) peuvent présenter un ΔpH = 1 sans que l'acidité d'échange au pH du sol soit élevée, tandis que pour des sols plus acides (pH_{H_2O} = 4 ou 4,5), l'acidité d'échange est beaucoup plus forte (pour pH_{H_2O} = 6, ΔpH = 1 correspond à une acidité d'échange infime = 9×10^{-6} ions $H^+ L^{-1}$, cent fois plus faible que celle d'un sol dont le pH_{H_2O} = 4) (Baize, 1993). Le ΔH^+ diminue dans tous les sols avec l'ajout de MH, B, GAB ou HA. L'effet de MN et GA dépend du sol.

3.3.3 Effet des amendements sur la mobilité des métaux et de l'arsenic

L'effet des amendements sur la mobilité des métaux et de l'arsenic est présenté pour chaque élément et chaque sol sous forme d'histogrammes. Dans ceux-ci, la quantité extraite de l'élément est exprimée en pourcentage de sa teneur totale dans le sol (tableau 2.1) et en mg d'élément par kg de sol sec. Seules les données des sols ayant une quantité d'élément extractible au dessus de la limite de travail sont présentées.

Cadmium

Les traitements B, GAB et HA 5 résultent, indépendamment du sol, en une forte diminution de l'extractabilité du Cd (fig. 3.1). L'extractabilité de Cd après l'apport de B, GAB et HA 5 diminue de 93 %, 97 % et 99 % dans le sol Ov1 et de 68 %, 77 % et 85 % dans le sol Ov2. L'apport de MH et MN ne résulte pas en une immobilisation du Cd. Concernant HA, plus on apporte de HA, plus la mobilité de Cd diminue. L'extractabilité de Cd dans le sol Ov 1 diminue de 65, 79 et 99 % avec un apport de HA à 0,5 , 1 et 5 %.

Nickel

L'apport de B et GAB résulte dans tous les sols en une forte diminution du Ni extrait (fig. 3.2). Dans le sol Rep2, l'apport de B et GAB diminue la quantité de Ni extraite de 47 et 45%. L'apport de MH et MN ne diminue pas la mobilité de Ni dans le sol Rep2. L'effet de l'apport de GA est dépendant du sol. GA n'a pas d'effet dans le sol Rep2 mais dans les sols Ov1 et Ov2, la quantité de Ni extraite augmente 2,7 et 1,3 fois. Dans le sol Port aussi (résultats non montrés), l'apport de GA augmente la mobilité de Ni : la quantité de Ni dépasse la limite de travail après l'addition de GA (1 mg kg^{-1} extrait, Ni total < 2 mg kg^{-1}). L'effet de HA dépend aussi du sol étudié. HA immobilise Ni dans les sols Ov1 et Rep2 mais non pas dans Ov2. Contrairement au Cd, l'extractabilité du Ni dans le sol Ov2 a tendance à augmenter avec l'apport croissant de HA.

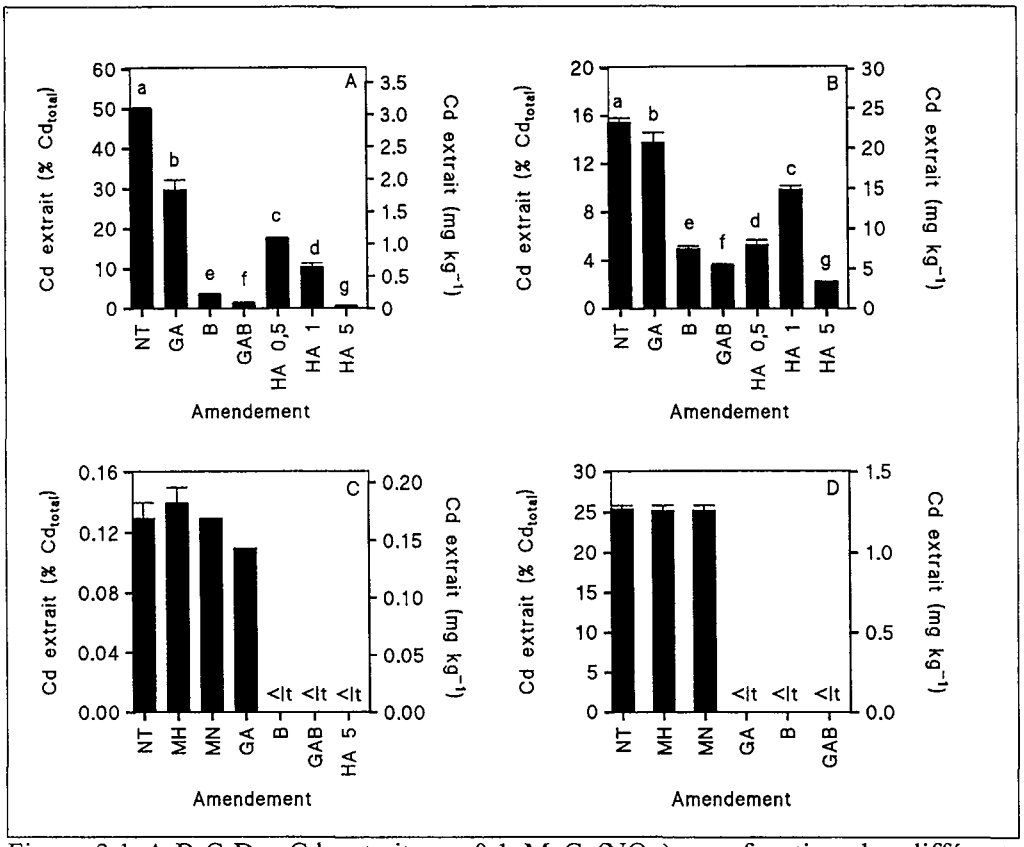


Figure 3.1 A-B-C-D : Cd extrait par 0,1 M $Ca(NO_3)_2$ en fonction des différents amendements dans les sols suivants : A) Ov1, B) Ov2, C) Rep2, D) Port.

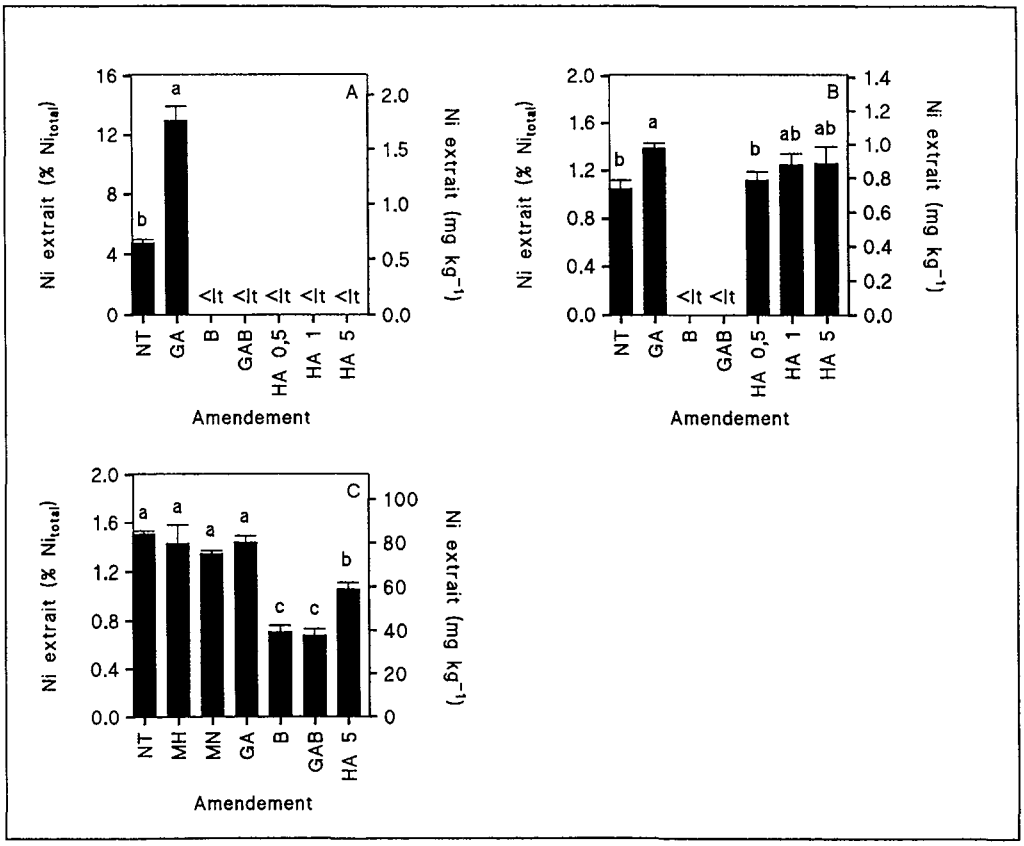


Figure 3.2 A-B-C : Ni extrait par 0,1 M $Ca(NO_3)_2$ en fonction des différents amendements dans les sols suivants : A) Ov1, B) Ov2, C) Rep2.

Cuivre

Les amendements B, GAB et HA 5 diminuent le plus l'extractabilité du Cu, indépendamment du sol (fig. 3.3). L'addition de B diminue 16, 2 et 3 fois l'extractabilité de Cu dans les sols Ov1, Ov2 et Rep2. Dans ces mêmes sols, l'addition de GAB diminue 31, 3 et 2 fois l'extractabilité et l'apport de 5% HA 29, 2 et 2 fois. GA immobilise aussi Cu (sauf dans le sol Rep 2) mais à un moindre degré. L'apport de GA a le plus d'effet dans le sol Port (quantité extraite 14% par rapport au NT). MH et MN augmentent la mobilité du Cu. La quantité de Cu extractible diminue avec une augmentation de l'apport de HA.

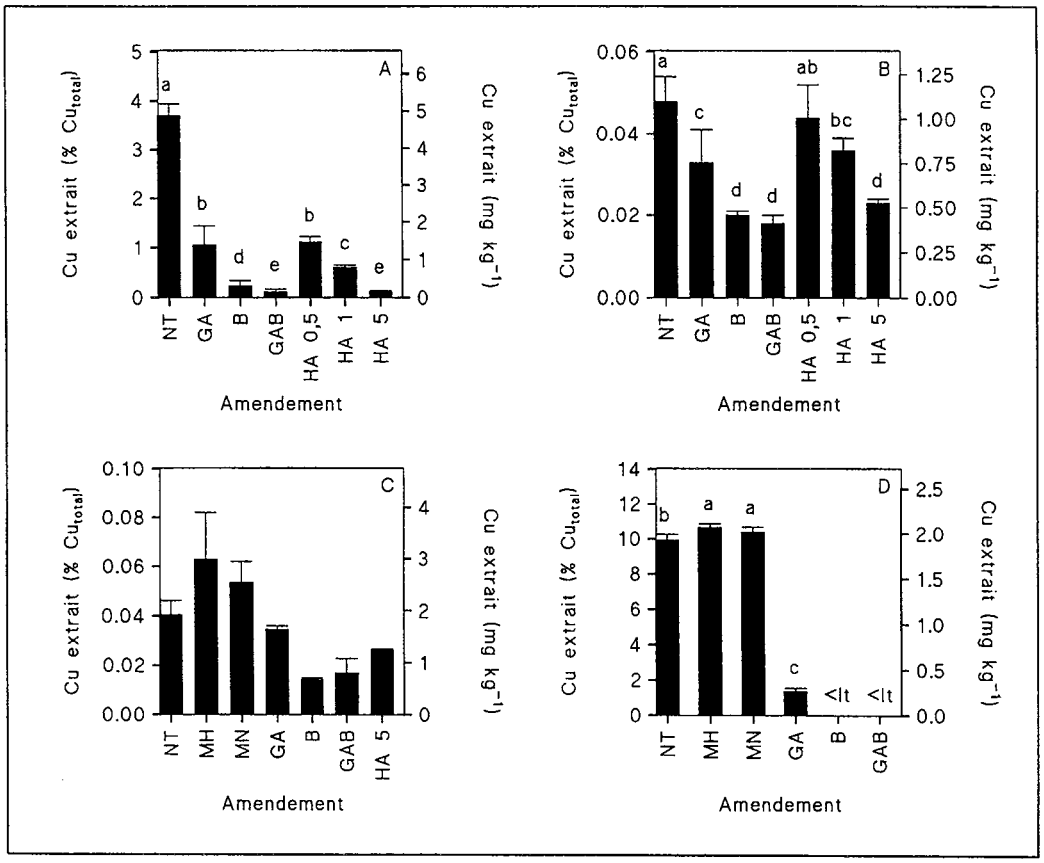


Figure 3.3 A-B-C-D : Cu extrait par 0,1 M $Ca(NO_3)_2$ en fonction des différents amendements dans les sols suivants : A) Ov1, B) Ov2, C) Rep2, D) Port.

Zinc

Ce sont encore B, GAB et HA 5 qui diminuent le plus l'extractabilité (fig. 3.4). Leur apport au sol Ov1 diminue la quantité de En extraite de 80 (B), 160 (GAB) et 15 (HA 5) fois. L'addition de GA diminue aussi la mobilité de Zn (à l'exception du sol Rep 2) mais dans une moindre mesure : 2,8 (Ov1), 1,3 (Ov2) et 11,0 (Port) fois. L'addition de MH et MN a peu d'influence sur l'extractabilité de Zn. Quant à HA, il existe une corrélation négative entre le Zn extrait et les taux de HA apporté.

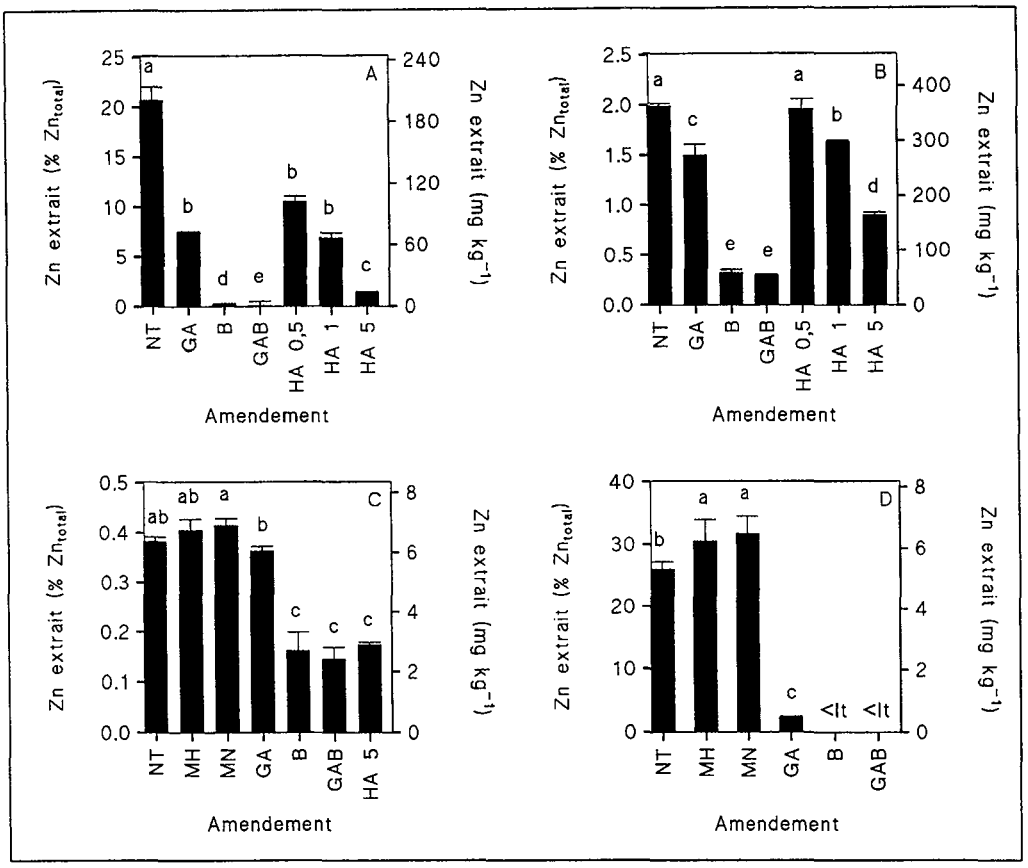


Figure 3.4 A-B-C-D : Zn extrait par 0,1 M $Ca(NO_3)_2$ en fonction des différents amendements dans les sols suivants : A)Ov1, B)Ov2, C)Rep2, D)Port.

Plomb

Tous les amendements permettent de diminuer l'extractabilité du Pb (fig. 3.5). La plus forte diminution est encore obtenue avec B, GAB et HA 5. Dans le sol Ov2, l'apport des différents amendements diminue la quantité de Pb extraite de 50% (GA), 72% (B), 83% (GAB), 39% (HA 0.5), 58 % (HA 1) et > 85 % (HA 5). Comme pour Cd, Cu et Zn, une augmentation de la quantité de HA apportée résulte en une extractabilité de Pb plus faible.

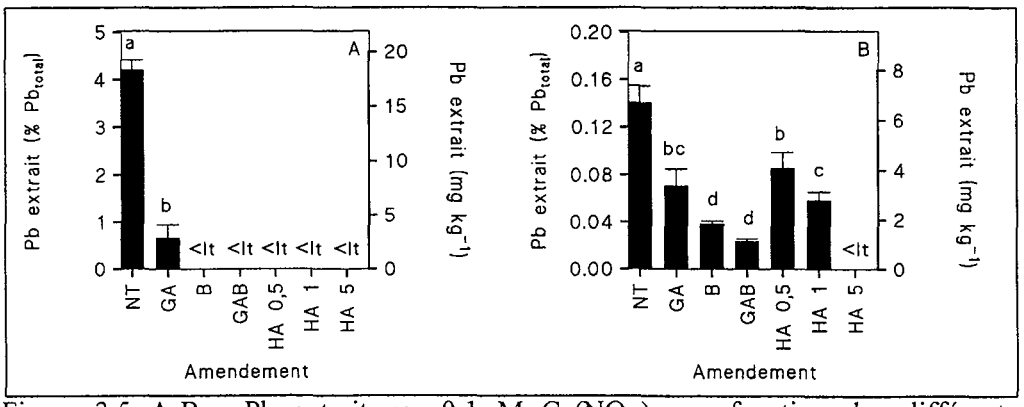


Figure 3.5 A-B : Pb extrait par 0,1 M $Ca(NO_3)_2$ en fonction des différents amendements dans les sols : A) Ov1 et B) Ov2.

Arsenic

L'effet des amendements sur la mobilité de l'As est fortement dépendant du sol (fig. 3.6). Dans les sols Rep1 et Rep2, la plus forte immobilisation de l'As est obtenue avec l'apport de GAB (diminution de > 98% et 87% dans Rep1 et Rep2), suivi par B (diminution de 65% et 72% dans Rep1 et Rep2) et GA (diminution de 79% et 65% dans Rep1 et Rep2). MH et MN diminuent l'extractabilité de l'As dans le sol Rep1 mais pas dans le sol Rep2. L'extractabilité de l'As augmente après un apport de HA aux sols Rep1 (2,5 fois) et Rep2 (1,5 fois). Dans le sol Port, ce sont MH et MN qui immobilisent le plus As. Leur apport diminue l'extractabilité de l'As de 56%. L'apport de GA et GAB n'a pas d'effet dans ce sol et B augmente 3 fois l'extractabilité de l'As.

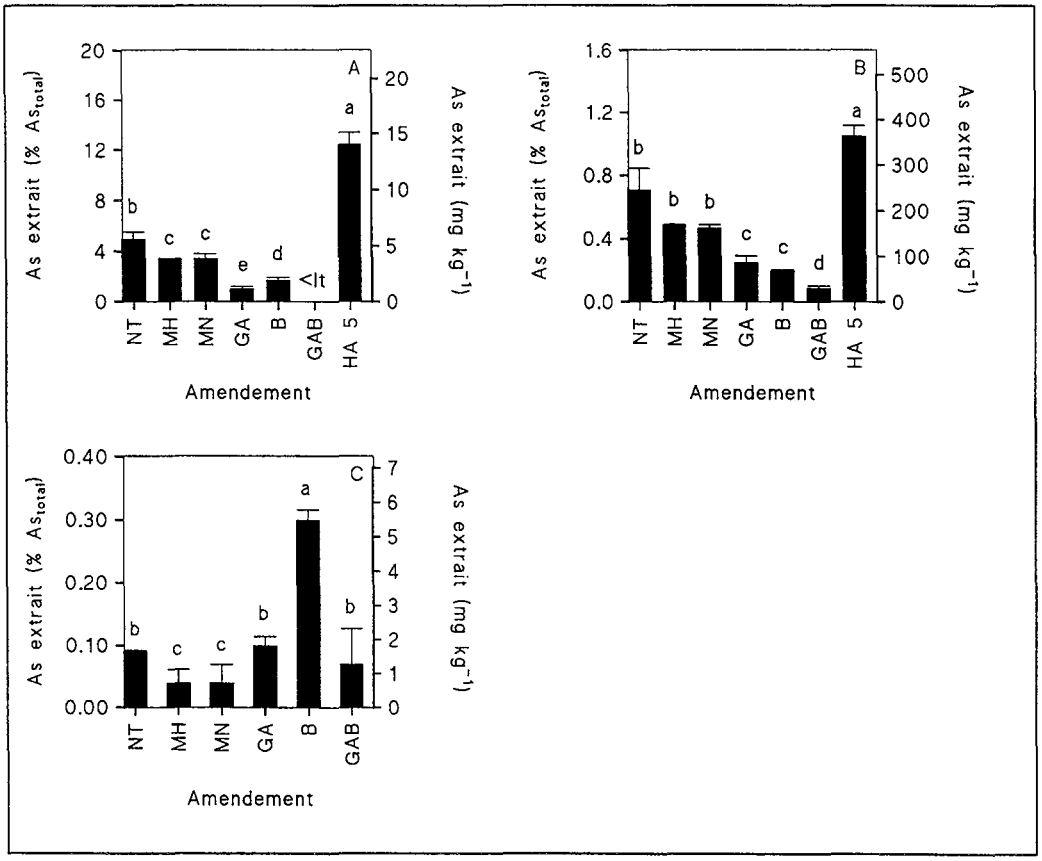


Figure 3.6 A-B-C : As extrait par H_2O distillée en fonction des différents amendements dans les sols : A) Rep1, B) Rep2 et C) Port.

3.3.4 Effet reproductible pour les sols et les éléments traces

Afin d'illustrer l'effet reproductible dans les différents sols et pour les métaux traces et l'As, on a regroupé toutes les données obtenues avec l'apport de GAB dans la figure 3.7. On montre la diminution de la quantité d'éléments extraite (en %) par rapport à la quantité extraite dans le sol NT. Dans certains cas, la concentration dans la solution d'extraction est en dessous de la limite de travail

et on a pris cette valeur pour la concentration. Ces données (affectées d'une étoile) peuvent alors sous-estimer la diminution de la quantité extraite.

En ce qui concerne les concentrations qui sont au-dessus de la limite de travail, l'apport combiné de grenaille d'acier et béringite diminue la quantité de métaux traces extraite au minimum de 50%. Dans le cas de l'As, la diminution est de > 98%, 87% et 28% dans des sols Rep1, Rep2 et Port.

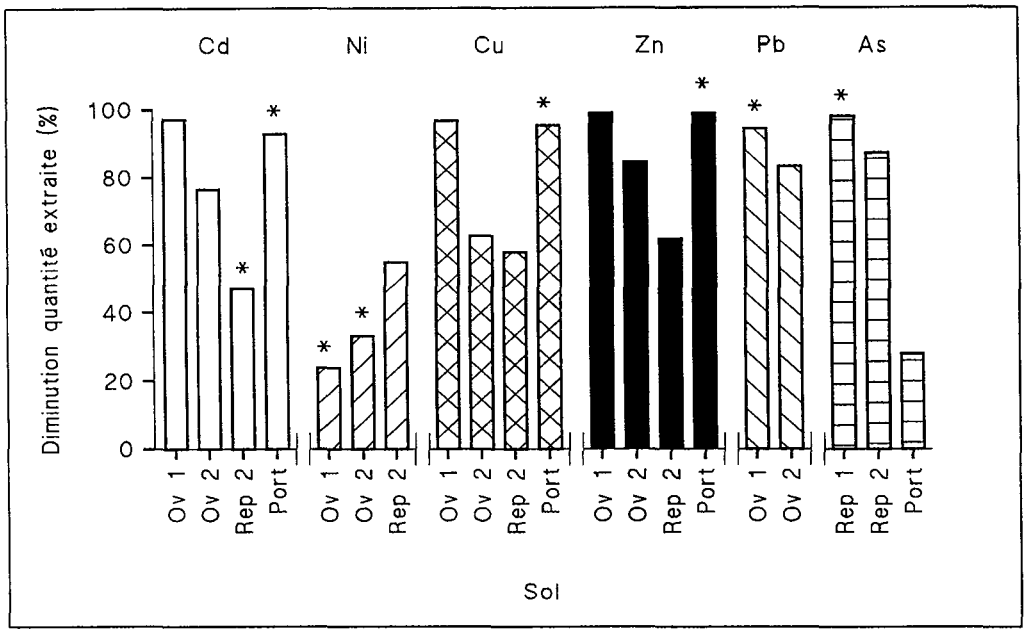


Figure 3.7 Diminution de la quantité extraite (en %) par rapport aux sols non traités dans les différents sols amendés par la combinaison grenaille d'acier + béringite (GAB).

3.4 DISCUSSION

La discussion porte tout d'abord sur la mobilité des éléments traces dans les sols non-traités et sur la corrélation de la mobilité avec des paramètres physico-chimiques du sol. Il est ensuite question de l'effet des amendements sur le pH du sol. Enfin, on discutera les effets des amendements ainsi que des éventuels mécanismes d'immobilisation pour chaque amendement.

Mobilité dans les sols non-traités

La mobilité des éléments traces dépend du sol. La spéciation de l'élément dans le sol est alors un facteur important pour l'extractabilité. Ceci pourrait s'expliquer par la diversité des sources de pollution des différents sites. Le site Ov1, par exemple, est principalement contaminé par des retombées atmosphériques alors que des déchets solides d'usine sont présents sur le site Ov2. Les propriétés physico-chimiques des sols (tableau 3.3) ont une influence sur la spéciation et donc sur l'extractabilité des éléments traces. La corrélation positive de l'extractabilité des métaux cationiques

et le taux de C_{org} et la CEC est le résultat des processus de sorption (§ 1.3.4.3 et 1.3.4.4). L'As est présent sous forme anionique, ce qui explique l'absence d'une corrélation entre son extractabilité et la CEC. L'absence d'une corrélation avec C_{org} confirme les travaux antérieurs qui montrent que le taux de la matière organique dans le sol a peu d'influence sur la fixation de l'As par la phase solide (Jacobs et al., 1970b ; Sandberg et Allen, 1975 ; Livesey et Huang, 1981). Ceci s'explique par le fait que la plupart des groupements réactifs de la matière organique sont, tout comme les ions d'arsenic, des bases de Lewis. Le pH a une influence sur la spéciation des éléments dans la solution du sol, sur la stabilité des constituants minéraux et sur la réactivité des surfaces et ainsi, sur la mobilité des éléments traces (§ 1.3.4 et 1.4.2.3). Les résultats obtenus dans ce chapitre confirment que la mobilité des métaux diminue (Erikson, 1989 ; Halen et Van Bladdel, 1990 ; Sauerbeck, 1991 ; Gupta et Aten, 1993 ; Öborn et al., 1995 ; Chuan et al., 1996 ; Oliver et al., 1996 ; Krebs et al., 1998) et que celle de l'As augmente (Masscheleyn et al., 1991a,b) quand le pH augmente.

Influence des amendements sur le pH du sol

Sappin-Didier (1995) a formulé l'hypothèse que l'augmentation du pH du sol après un apport de grenaille d'acier est due à la formation de micro-piles pendant l'oxydation de la grenaille d'acier. Une pile électrique permet le transfert d'électrons entre deux couples redox. Les régions cathodiques sont le siège de réduction : l'eau est hydrolysée et H_2 est dégagé. Cette réaction produit des ions OH^- dans la solution, d'où une augmentation du pH. La réaction fortement alcaline de la béringite s'expliquerait par la présence de Mg et Ca dans la béringite (tableau 2.4) étant donné que $Ca(OH)_2$ et $Mg(OH)_2$ peuvent être formés quand la béringite est en contact avec de l'eau (De Boodt, 1991). L'augmentation du pH des sols après un apport d'hydroxyapatite peut s'expliquer par la dissolution de ce minéral (équation 3.1, Lindsay, 1979). Cette réaction a été proposée comme la première étape dans le processus d'immobilisation des métaux traces par l'hydroxyapatite (Ma et al,. 1993, 1994a,b).

$$Ca_5(PO_4)_3(OH) + 7H^+ \quad \Leftrightarrow \quad 5\,Ca^{2+} + 3H_2PO_4^- + H_2O \qquad pK_S = -14.46 \qquad [3.1]$$

L'équilibre dans l'eau (pH_{H_2O}) ne rend pas compte de la totalité des ions acides (protons et ions alumineux) fixés sur le complexe d'échange du sol. Ces ions acides fixés constituent une acidité potentielle, ou acidité d'échange, au pH du sol. Ils peuvent être déplacés par échange avec un ion tel que K^+ dans une solution non tamponnée de KCl normal. Afin d'estimer la saturation du complexe d'échange par des cations, on a calculé la différence de la quantité d'ions H^+ entre le pH_{KCl} et le pH_{H_2O} (tableau 3.4), en faisant l'hypothèse que $\gamma = 1$. La plus faible acidité d'échange après l'apport de béringite, de grenaille d'acier + béringite et d'hydroxyapatite serait dû au remplacement des ions acides sur le complexe d'échange du sol par le Ca. Le Ca est libéré quand la béringite ou

l'hydroxyapatite se solubilise (solubilisation partielle dans le cas de la béringite). La plus faible acidité d'échange implique que le sol est plus tamponné vis-à-vis d'un changement de pH.

Grenaille d'acier

La diminution de la mobilité de Cd, Cu, Zn et Pb après l'apport de grenaille d'acier confirme les résultats obtenus dans des études antérieurs (Mench et al. 1994a ; Didier et al., 1993; Sappin-Didier,1995 ; Gomez et al., 1997). Sappin-Didier (1995) a démontré l'importance de l'oxydation de la grenaille d'acier et la formation d'(hydr)oxydes *in-situ* dans le processus d'immobilisation. Dans cette étude, ceci semble confirmé pour d'autres sols car la grenaille d'acier est plus efficace à immobiliser les métaux que les oxydes de fer cristallins (maghémite et magnétite). Quelques hypothèses pour expliquer l'immobilisation des métaux par la grenaille d'acier sont proposées :

i) La co-précipitation de métaux avec les oxydes de fer formés *in-situ* est un processus plausible. En effet, Cu^{2+}, Zn^{2+} et Ni^{2+} peuvent co-précipiter avec les oxydes de Fe (tableau 1.6). Afin de vérifier cette hypothèse, il faudrait démontrer (par exemple par spectroscopie EXAFS) la présence de métaux dans les oxydes formés à partir de la grenaille d'acier.

ii) L'immobilisation des métaux par la grenaille d'acier pourrait être le résultat d'une attraction électro-chimique. Sappin-Didier (1995) a formulé l'hypothèse que, pendant l'oxydation de la grenaille d'acier il y a formation de micro-piles. Il en résulterait des phénomènes d'attraction des cations métalliques vers les cathodes (= grains de grenaille d'acier).

iii) Manceau et al. (1996) et Hargé (1997) ont formulé l'hypothèse que le composé actif principal de la grenaille d'acier serait Mn (présent à des taux de 0,6 à 1 % dans la grenaille d'acier, tableau 2.3). Par spectroscopie EXAFS, ils ont montré que le manganèse métal, présent initialement dans la grenaille d'acier, s'oxyde principalement en manganate(s) après enfouissement dans le sol. Le pouvoir de sorption des manganates est très grand du fait de leur non-stœchiométrie et de leur possibilités de réactions d'oxydo-réduction ($Mn^{4+}/Mn^{3+}/Mn^{2+}$). Des métaux comme Zn, Pb et Cd se fixent facilement sur les oxydes de manganèse (McKenzie, 1980 ; Manceau et al., 1992 ; Marschner et al., 1995 ; Hargé, 1997). Afin de vérifier cette hypothèse, on peut envisager d'évaluer la mobilité des métaux après un apport de la grenaille d'acier contenant différents taux de Mn.

La plus grande extractabilité de Ni après l'apport de la grenaille d'acier peut s'expliquer par sa composition (0,08 à 0,15 % de Ni, tableau 2.3). Un apport de 1% m/m de grenaille d'acier dans le sol correspond donc à 8 à 15 mg Ni par kg de sol. Par exemple, dans le sol Ov1 ces quantités représentent 59 à 110 % de la quantité totale de Ni dans ce sol. L'augmentation de la mobilité du Ni n'est pas en accord avec les résultats obtenus dans une étude en plein champ. Un an après l'ajout de la grenaille d'acier aux parcelles polluées en Ni par l'épandage de boues de station d'épuration, l'extractabilité de

Ni a diminué significativement (Boisson et al., 1998). La différence pourrait s'expliquer par le temps de réaction de la grenaille d'acier (trois semaines dans l'expérience rapportée ici contre 1 an dans l'expérience en plein champ). Trois semaines de réaction ne suffisent peut être pas pour que toute la grenaille d'acier soit oxydée et pour que les processus d'immobilisation (co-précipitation, formation d'oxydes suivie par la fixation des éléments traces) soient optimaux. Le Ni, libéré pendant la solubilisation de la grenaille d'acier, serait immobilisé après un temps de réaction supérieur à trois semaines.

L'extractabilité de l'As est en général fortement corrélée avec le taux de fer dans le sol (Woolson et al., 1971b ; Sandberg et Allen, 1975). Le fait que l'As dans le sol est principalement retenu par des oxydes de fer a aussi été montré en utilisant un isotope radioactif de l'As (Fordham et Norrish, 1983). En ce qui concerne des systèmes plus simples que le sol, la fixation de l'As par des oxydes de fer préparés en laboratoire a souvent été décrite (Pierce et Moore, 1982 ; Belzile et Tessier, 1990 ; Mench et al., 1998). Par spectroscopie EXAFS, il a été démontré que cette fixation est le résultat (en partie) de la formation des complexes de sphère interne avec les oxydes de fer (Waychunas et al., 1993 ; Manceau, 1995 ; Sun et Doner, 1996 ; Fendorf et al., 1997 ; Manning et al., 1998). L'immobilisation de l'As dans les sols Rep1 et Rep2 pourrait alors s'expliquer par la formation de complexes avec des oxydes de fer, formés à partir de la grenaille d'acier. Par contre, dans ces deux sols, l'arsenic est plus fortement immobilisé par un apport de grenaille d'acier que par un apport de maghémite ou magnétite. Le processus d'oxydation de la grenaille d'acier semble alors jouer un rôle. Artiola et al. (1990) ont obtenu des résultats similaires. L'ajout d'un oxyde de fer cristallisé n'a pas eu d'influence sur la solubilité de l'As dans deux sols pollués. Par contre, l'ajout de sulfate de fer ($FeSO_4.7H_2O$) a diminué celle-ci.

Si on reprend les trois hypothèses pour expliquer l'immobilisation des métaux par la grenaille d'acier, les deux premières ne peuvent pas s'appliquer à l'As. Les oxyanions de l'As ne co-précipitent pas avec les oxydes de fer et ils ne sont pas non plus attirés par les cathodes. Par contre, la formation des oxydes de Mn à partir de la grenaille d'acier pourrait jouer un rôle. Deux réactions possibles entre les oxydes de Mn et l'As sont : i) fixation de l'As sur des sites réactifs des oxydes de Mn et ii) oxydation de As^{III} en As^{V} (Oscarson et al., 1981, 1983 ; Thanabalasingham et Pickering, 1986a ; Driehaus et al., 1995 ; Scott et Morgan, 1995). As^{V} est plus fortement fixé au pH des sols que As^{III} par les sites réactifs (§ 1.3.4.3) et l'oxydation de As^{III} diminue ainsi la mobilité de l'As. De plus, la formation d'un complexe peu soluble de l'As^{V} avec le Mn^{2+} libéré en solution pendant le processus d'oxydation ($Mn_3(AsO_4)_2$) est un processus plausible (Oscarson et al., 1981). Par contre, l'As est présent principalement sous forme d'As^{V} dans des sols aérés et ce deuxième processus jouerait donc un rôle mineur dans le processus d'immobilisation.

Une hypothèse supplémentaire est basée sur le fait que la cristallisation normale de la ferrihydrite précipitée en présence de l'As est limitée, ce qui résulte en une surface spécifique plus élevée. Ceci résulte en un rapport As/Fe plus élevé que quand l'As est ajouté après précipitation de la ferrihydrite (Waychunas et al., 1993 ; § 1.3.4.3). On pourrait penser que des processus similaires se produisent pendant la formation des oxydes de fer à partir de la grenaille d'acier, ce qui expliquerait l'importance de l'oxydation de la grenaille d'acier dans le processus d'immobilisation.

L'apport de la grenaille d'acier dans le sol Port ne diminue pas l'extractabilité de l'As. Une des différences entre le sol Port et les sols Rep1 et Rep2 est le pH (pH 4,1, 6,6 et 6,0 respectivement, tableau 2.1). Les types d'oxydes de fer formés dans le sol sont dépendants du pH (Schwertmann et Cornell, 1991). Il est possible que l'As ait moins d'affinité pour les oxydes de fer formés dans le sol Port. Un exemple de différence d'affinité pour différents constituants minéraux est donné dans la figure 1.6. Il serait donc intéressant de déterminer les types d'oxydes formés dans les différents sols.

Maghémite et magnétite

La mobilité de Cd et Ni ne change pas tandis que la mobilité de Cu et Zn a tendance à augmenter avec un apport de maghémite ou de magnétite. En ce qui concerne le Cd, ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Sappin-Didier (1995). Par contre, Sappin-Didier (1995) a montré qu'un apport de magnétite permettait de diminuer l'extractabilité de Zn et Ni. Les résultats contradictoires entre les deux études pourraient s'expliquer par une différence de pH du sol. Les sols Rep2 et Port ont un pH de 6,0 et 4,1 respectivement, alors que le sol Louis Fargue (Sappin-Didier, 1995) a un pH de 7,4. Dans la figure 1.6, il a été montré que la formation de complexes avec la surface a lieu qu'à partir d'une certaine valeur de pH. Il est possible que dans les sols Rep2 et Port, le pH soit trop bas pour former des complexes de sphère interne.

La diminution de la mobilité de l'As après l'apport de magnétite et de maghémite est probablement due à l'adsorption sur des oxydes de fer.

Béringite

L'immobilisation de Cd, Ni, Pb et Zn par la béringite, dans des sols avec des caractéristiques physico-chimiques et sources de pollution très diverses, a été rapportée auparavant (Mench et al. 1994a ; Wessolek et Fahrenhorst, 1994 ; Vangronsveld et al., 1990, 1991, 1995a+b ; Boisson et al., 1998). On pourrait penser que la diminution de la mobilité après un apport de béringite est l'effet de la forte augmentation du pH (tableau 3.4). Ceci a été étudié dans une expérimentation antérieure sur un sol pollué en Zn, Cd et Pb. 5% de béringite ont été ajoutés à une série de ces échantillons de sol. Une autre série a reçu de la chaux en quantité suffisante pour obtenir le même pH que dans les sols ayant

reçu la béringite. L'immobilisation est moins efficace dans les sols traités avec la chaux que dans les sols traités avec la béringite. Par exemple, le prélèvement du Zn par la plante est de 74 à 126 % plus élevé quand les plantes sont cultivées sur des sols chaulés que sur les mêmes sols traités avec la béringite (Mench, communication personnelle). De plus, pour des temps longs, l'efficacité de la chaux diminue (Chlopecka et Adriano, 1996) alors que celle de la béringite augmente (Vangronsveld, 1998b). L'immobilisation par la béringite n'est alors pas due simplement à une augmentation du pH. A partir de l'évolution du pH, des résultats d'extractions sélectives et séquentielles et du transfert sol-plante des métaux en plein champ, un processus en trois étapes a été proposé afin d'expliquer l'immobilisation des métaux traces par la béringite (Vangronsveld et al., 1998) :

i) une étape initiale rapide (heures) qui représente l'adsorption des métaux sur des sites fortement accessibles sur la surface des constituants de la béringite et sur certains sites du sol à cause de l'augmentation du pH;

ii) une sorption plus lente (jours), *i.e.* co-précipitation avec les oxydes de Al, Fe et Mn;

iii) à long terme (années) les métaux deviennent moins accessibles, étant donné qu'ils peuvent être piégés à cause de leur diffusion dans les cristaux minéraux (processus actif) ou à cause de la croissance des cristaux (processus passif, les métaux ont été enfouis dans le substrat après avoir été adsorbés). Ces derniers processus devraient être responsables de la diminution permanente de l'extractabilité et du transfert sol-plante qui a été observée pour le Zn et le Cd dans un études sur 5 ans en plein champ (Vangronsveld et al., 1996).

L'immobilisation de l'As par la béringite dans le sol Rep1 et Rep2 pourrait s'expliquer par l'adsorption de l'As sur les oxydes de fer et d'aluminium présents dans la béringite. Le minéral ettringite (présent dans la béringite, tableau 2.4) peut adsorber l'arséniate dans des systèmes alcalins mais ne peut pas jouer un rôle dans les sols étudiés étant donné que l'ettringite n'est pas stable à des pH < 10,7 (Myneni et al., 1997). L'adsorption d'arséniate sur le minéral illite (présent dans la béringite, tableau 2.4) est maximale à pH 6,5 et diminue vite avec une augmentation du pH ; à un pH 7,5 l'arséniate adsorbé représente seulement 50% de la quantité adsorbée à pH 6,5 (Manning et Goldberg, 1996). L'adsorption de l'As dans des sols Rep1 et Rep2 sur l'illite présente dans la béringite est un processus plausible qui aurait plus d'importance dans le sol Rep2 (pH 6,6) que dans le sol Rep1 (pH 7,6).

Dans le sol Port, l'addition de la béringite augmente l'extractabilité de l'As. Le pH du sol augmente de 4,1 à 8,1 avec l'apport de la béringite. L'extractabilité de l'As est corrélée positivement avec le pH du sol (tableau 3.4). De plus, si on suppose que la plupart de l'arsenic est présent sous forme oxydée (acide arséniate) dans ce sol aéré, l'adsorption maximale se produit à des valeurs de pH faibles (§ 1.3.4.3, figure 1.7). Il est possible que le pH plus élevé après l'apport de la béringite résulte

en une désorption de l'As présent sur la phase solide du sol.

Combinaison grenaille d'acier + béringite

La combinaison de grenaille d'acier + béringite immobilise Cd, Ni, Cu, Zn et Pb. La mobilité reste similaire ou augmente légèrement quand on combine la grenaille d'acier avec la béringite. En ce qui concerne le Ni, l'ajout de la béringite à la grenaille d'acier permet d'immobiliser (en partie) le Ni qui a été apporté par la grenaille d'acier. La béringite et la grenaille d'acier sont des amendements complémentaires pour le Ni. Dans une étude antérieure, il a été démontré pour un autre sol que l'apport de cette combinaison d'amendements permet de diminuer la quantité de Cd extractible (Berti et al., 1998). La combinaison est également plus efficace pour l'immobilisation de l'As que l'ajout de la grenaille d'acier ou de la béringite séparément. Dans le sol Port, une partie de l'As libéré après l'ajout de la béringite est immobilisée à nouveau par la grenaille d'acier. Comme pour le Ni, la béringite et la grenaille d'acier sont des amendements complémentaires pour l'As.

Si on suppose que l'immobilisation s'effectue par les mêmes mécanismes que pour les deux traitements séparément, alors l'effet des deux amendements serait additionnel. L'apport de la combinaison pourrait cependant changer l'évolution de la grenaille d'acier dans le sol. Dans des sols amendés par la grenaille d'acier, l'existence des petites concrétions de fer a été démontré (Boisson et al., 1998). Vangronsveld (communication personnelle) fait l'hypothèse que si on combine la grenaille d'acier avec la béringite, les oxydes de fer pourraient se former sur des fines particules de béringite. Dans ce cas, on aurait moins de concrétions de fer et une surface d'oxydes de fer plus importante. Cette hypothèse reste à vérifier à l'aide d'études microscopiques. Une autre hypothèse est liée à la composition en silicates de la béringite. Quand la ferrihydrite est formée à partir de Fe^{II} en présence de silicates, la ferrihydrite est très peu cristalline et forme des petites particules. Les silicates stabilisent la ferrihydrite et retardent sa transformation en des minéraux plus stables (Schwertmann et Cornell, 1991). Dans les sols qui ont reçu la combinaison, la béringite a pu modifier la cristallinité des oxydes de fer formés à partir de la grenaille d'acier. Afin de vérifier cette hypothèse, on pourrait identifier les oxydes de fer formés dans des sols ayant reçus de la grenaille d'acier seule ou bien la grenaille d'acier en combinaison avec de la béringite.

Hydroxyapatite

La diminution de la mobilité des métaux par un apport d'hydroxyapatite est en accord avec des études antérieures. En plein champ, un apport d'hydroxyapatite (0,4 % m/m) a permis de diminuer la quantité de Cd, Pb et Zn extraite (1,0 M $CaCl_2$, pH 7) (Chlopecka et Adriano, 1996, 1997). Ma et al. (1993, 1994a,b) ont montré par des études de diffraction X, que le Pb dans des systèmes aqueux est éliminé par la dissolution de l'hydroxyapatite (équation 3.1), suivie par la précipitation

d'hydroxypyromorphite (pK_S = 4.14, équation 3.2, Lindsay, 1979), un minéral moins soluble que l'hydroxyapatite (pK_S = -14.46) :

$$Pb_5(PO_4)_3(OH)\,(c) + 7H^+ \quad \Leftrightarrow \quad 5\,Pb^{2+} + 3H_2PO_4^- + H_2O \qquad pK_S = 4.14 \qquad [3.2]$$

Lower et al. (1998) ont démontré que la transformation de l'hydroxyapatite en pyromorphite en présence de Pb est, en effet, un processus favorable du point de vue thermodynamique. Laperche et al. (1996) ont montré (par Diffraction X et Microscopie Electronique à Balayage) que des particules de pyromorphites se forment aussi dans des sols contaminés, suite à l'apport d'hydroxyapatite. Par contre, un des pics de pyromorphites étant asymétrique, la co-précipitation avec d'autres métaux ne peut pas être exclue. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'immobilisation des métaux autre que Pb : (1) des processus d'échange d'ions à la surface de l'hydroxyapatite (Middelburg et Comans, 1991 ; Xu et al., 1994) ; (2) formation de complexes à la surface (Xu et al., 1994) ; (3) précipitation des phosphates de métaux amorphes / peu cristallins (Ma et al., 1994b) et (4) substitution du Ca dans l'hydroxyapatite par d'autres métaux pendant la recristallisation (co-précipitation) (Suzuki et al., 1981 ; Jeanjean et al., 1994 ; Xu et al., 1994). Le dernier mécanisme (co-précipitation) semble plus significatif pour la fixation de Cd^{2+} que la fixation de Zn^{2+} (Xu et al., 1994). Ceci pourrait être le résultat du fait que le rayon ionique de Cd^{2+} (0,97 Å) est plus proche de celui du Ca^{2+} (0,94 Å) que de celui du Zn^{2+} (0,74 Å), la substitution isomorphique de Ca^{2+} par Cd^{2+} est alors plus favorable. La substitution du Ca^{2+} par le Cd^{2+} dans les sites cristallographiques de l'apatite a été démontrée par spectroscopie EXAFS (Sery et al., 1996). Il est difficile d'estimer quantitativement la proportion fixée par chacun des mécanismes spécifiques et il semble que les différents mécanismes collaborent tous plus ou moins (Xu et al., 1994).

La quantité d'As extraite augmente significativement avec l'apport de l'hydroxyapatite. Ceci s'expliquerait par une augmentation de la concentration en phosphates dans la solution du sol après l'addition de l'hydroxyapatite, due à sa dissolution (équation 3.1). L'ion phosphate, par ses similarités chimiques et physiques avec l'ion arséniate, peut remplacer l'arséniate sur des sites d'adsorption dans le sol (Hingston et al., 1971 ; Woolson, 1972 ; Barrow, 1974 ; Livesey et Huang, 1981 ; Roy et al., 1986 ; Davenport et Peryea, 1991 ; Peryea, 1991 ; Melamed et al., 1995 ; Peryea et Kammereck, 1997). L'augmentation du pH après un apport de HA peut aussi contribuer à l'augmentation de l'extractabilité de l'As. Cependant, les valeurs de pH après un apport de HA 5 et de GAB sont identiques (tableau 3.4). L'augmentation de la quantité d'As extraite après un apport de HA 5 n'est donc pas uniquement le résultat d'une augmentation de pH.

3.5 CONCLUSION

A partir des extractions, on peut conclure qu'il est possible de diminuer la mobilité des métaux traces et de l'arsenic par des amendements minéraux aux sols pollués.

Parmi les amendements testés, la béringite, la combinaison grenaille d'acier + béringite et l'hydroxyapatite à 5% sont les plus efficaces pour l'immobilisation de tous les métaux traces étudiés. Leur effet est reproductible sur des sols avec des sources de pollution et des caractéristiques physico-chimiques très différentes. Seule la mobilité du Ni dans un des sols avec l'apport de l'hydroxyapatite à 5% diverge (augmentation de la mobilité).

L'hydroxyapatite à 5% se trouve parmi les amendements les plus efficaces pour tous les éléments étudiés. D'autres métaux du sol que Pb sont donc immobilisés par cet amendement. Son efficacité augmente en général avec un apport plus important.

La grenaille d'acier diminue aussi la mobilité de Cd, Cu, Zn, et Pb dans trois des quatre sols pollués en métaux traces (Ov1, Ov2 et Port) mais à un moindre degré. Le fait que la grenaille d'acier n'immobilise pas ces métaux dans le quatrième sol (Rep2) montre que son efficacité dépend du sol. Elle n'est donc pas généralisable. L'extractabilité de Ni augmente dans les sols Ov1 et Ov2 avec l'apport de la grenaille d'acier. Un temps de réaction insuffisant de la grenaille d'acier dans le sol serait la raison de l'augmentation de l'extractabilité du Ni, la grenaille d'acier n'aurait pas assez évolué pour re-immobiliser le Ni libéré.

Un amendement qui donne lieu à la formation de phases secondaires *in-situ* (tel que la grenaille d'acier) ou qui se solubilise et re-précipite (tel que l'hydroxyapatite) serait plus efficace que les oxydes de fer cristallisés (maghémite et magnétite). L'efficacité de la béringite est peut-être à relier également à la formation de phases secondaires. Il reste à vérifier que les oxydes de fer cristallisés (maghémite et magnétite) ne se transforment pas ou peu *in-situ*.

L'effet des amendements sur la mobilité de l'arsenic est fortement dépendant du sol étudié et il n'est donc pas généralisable. Dans deux des trois sols pollués (Rep1 et Rep2) avec de l'arsenic, la combinaison grenaille d'acier + béringite résulte en la plus forte diminution, suivi par la grenaille d'acier (formation oxydes de fer *in-situ*) et la béringite. Dans le troisième sol (Port), ce sont la maghémite et la magnétite (phases cristallines) qui sont le plus efficace à diminuer la mobilité de l'arsenic. On ne peut donc pas non plus conclure de façon générale sur l'importance de la formation des oxydes de fer *in-situ*.

La mobilité de l'arsenic augmente avec un apport d'hydroxyapatite au sol. Ceci serait du au fait que les ions phosphate, libérés par l'hydroxyapatite, remplacent les ions d'arsenic sur la phase

solide du sol. Aussi une forte augmentation de pH après l'apport de la béringite ou de l'hydroxyapatite peut résulter en une augmentation de l'extractabilité de l'arsenic.

Dans le cas des sols pollués avec des métaux traces et de l'arsenic, une étude de cas pour chaque sol est nécessaire. Dans le sol de Rep1 et Rep2, l'ajout de la combinaison grenaille d'acier + béringite immobilise les métaux ainsi que l'arsenic. Dans le sol Port, il est recommandé de tester l'effet d'une combinaison de grenaille d'acier + béringite (immobilisation des métaux) avec des oxydes de fer comme la maghémite et la magnétite (immobilisation de l'arsenic).

Il reste encore beaucoup de questions autour des mécanismes d'immobilisation mis en jeu par les différents amendements. Les réponses à ces questions sont importantes car elles pourraient donner des indications sur la durabilité de l'immobilisation.

Si cette partie de l'étude illustre les capacités d'immobilisation sur le court terme des différents amendements, on ne peut néanmoins pas conclure définitivement en l'utilisation des amendements et la technique de l'immobilisation des sols pollués en éléments traces. Premièrement, l'extraction ne prend pas en compte l'effet de la plante et des micro-organismes dans la rhizosphère sur la spéciation et la mobilité des éléments traces. L'extraction ne permettrait donc pas de prédire l'accumulation des éléments par la plante. La connaissance de cette accumulation est pourtant importante afin d'évaluer l'influence des amendements sur l'exposition de l'homme. Deuxièmement, une diminution de la quantité d'éléments traces extraite après un apport d'amendements ne résulterait pas systématiquement en un meilleur fonctionnement de la plante. Les amendements pourraient posséder des caractéristiques phytotoxiques eux-mêmes. Ils pourraient aussi immobiliser des éléments nutritifs et provoquer ainsi des symptômes de déficience. Il est alors nécessaire d'évaluer l'effet des amendements sur le fonctionnement de la plante afin de pouvoir conclure en la phytotoxicité du sol. Ceci permet ensuite d'évaluer l'effet des amendements sur le fonctionnement de l'écosystème sol et sur les possibilités d'une revégétalisation des sites fortement pollués. L'accumulation des éléments traces par la plante ainsi que la phytotoxicité du sol sont les sujets du chapitre 4.

CHAPITRE 4

CHAPITRE 4

IMMOBILISATION DES ELEMENTS TRACES PAR DES AMENDEMENTS MINERAUX : EVALUATION PAR BIO-ESSAI

4.1 INTRODUCTION

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer l'effet des amendements sur l'accumulation des métaux traces et de l'arsenic par la plante et sur la phytotoxicité des sols pollués. Ceci est important afin de déterminer l'effet des amendements sur : i) la qualité des produits végétaux, en terme de sûreté alimentaire, ii) le rendement d'une culture sur des sites agricoles et iii) la possibilité de réussir une revégétalisation des sites industriels.

Etant donné que tous les amendements étudiés dans le chapitre 3 se sont avérés plus ou moins efficaces à immobiliser les métaux traces et/ou l'arsenic, ils ont tous été inclus dans cette partie de l'étude. Cependant, l'hydroxyapatite n'a pas été apportée aux sols principalement pollués en arsenic car cet amendement augmente la mobilité de l'arsenic (chapitre 3).

On utilise un test avec le maïs pour déterminer le transfert sol-plante des éléments traces afin d'évaluer l'effet des amendements sur l'exposition de l'écosystème par la chaîne alimentaire. Avec ce test on peut également vérifier si les analyses chimiques, comme des extractions sélectives, permettent de prédire l'accumulation des éléments traces par le maïs.

Dans le chapitre 3, on a évoqué le fait que les amendements pouvaient provoquer des carences dues à une immobilisation d'éléments nutritifs. La concentration en Ca, P, Fe, K et Mn dans le maïs a été déterminé afin de conclure en cette éventualité.

La phytotoxicité du sol est ensuite évaluée à partir du fonctionnement de la plante. Un test avec le maïs est depuis quelques années en développement. Des relations ont été déterminées entre la teneur en Cu (Mocquot et al., 1996), Cd (Lagriffoul et al., 1998), Zn (Mench, communication personnelle) et As (Ruttens et Mench, communication personnelle) dans la plante et des paramètres morphologiques (hauteur de la plante et biomasse), la densité de chlorophylle et des activités enzymatiques (ex. POD, ICDH, ME et GDH) dans les feuilles et racines de maïs. Ces relations obtenues en hydroponie ne sont pas parfaitement reproductibles dans des cultures sur sol (Lagriffoul, 1995). Une raison probable est que les paramètres analysés ne sont pas uniquement des biomarqueurs

pour les métaux et que d'autres variables comme la concentration en éléments majeurs (ex. Ca) jouent un rôle important. Dans une culture en hydroponie, on peut maîtriser ces paramètres tandis que ceci est plus difficile dans des cultures sur sol. Néanmoins, ces biomarqueurs métaboliques pourraient permettre d'évaluer la phytotoxicité globale des sols, en l'absence d'autres facteurs de stress ou bien si ceux-ci sont constants. Les relations entre la concentration en éléments dans les racines et les processus métaboliques doivent alors être étudiés en conditions contrôlées (ex. chambre climatisée).

Dans un premier instant, on a déterminé la réponse de plusieurs paramètres morphologiques et métaboliques du maïs sur des sols pollués non-traités par rapport à celle dans des sols de référence. Ceci nous permet de choisir des paramètres qui sont utilisables comme biomarqueurs dans les sols étudiés. Ensuite, on a évalué l'effet des amendements sur ces paramètres afin de conclure en l'effet des amendements sur le fonctionnement de la plante et donc sur la phytotoxicité du sol.

Les réponses de la plante peuvent être considérées comme un indicateur biologique de la phytotoxicité totale, résultat des interactions mutuelles entre les éléments présents dans le sol, les paramètres physico-chimiques du sol et la plante. Ces réponses globales sont d'une grande importance car la plupart des sols étudiés sont pollués par plusieurs métaux et/ou par l'arsenic. Chacun d'entre eux peut avoir un effet phytotoxique et ils peuvent également interagir entre eux de façon synergique, antagoniste ou cumulative.

4.2 MATERIELS ET METHODES

4.2.1 Culture des plantes

Pour chaque sol pollué, 1 kg a été mélangé avec l'un des amendements (tableau 4.1). Deux répétitions ont été réalisées. Les quatre sols de référence (§ 2.2) ont été inclus dans l'expérimentation.

Tableau 4.1 : Combinaisons des sols pollués et des amendements.

Amendement	Quantité (% m/m sol)	Sol Ov1	Ov2	Rep1	Rep2	Port
Non traité (NT)		X	X	X	X	X
Maghémite (MH)	1			X	X	X
Magnétite (MN)	1			X	X	X
Grenailles d'acier (GA)	1	X	X	X	X	X
Béringite (B)	5	X	X	X	X	X
Grenailles d'acier + Béringite (GAB)	1 + 5	X	X	X	X	X
Hydroxyapatite (HA 0,5)	0,5	X				
Hydroxyapatite (HA 1)	1	X				
Hydroxyapatite (HA 5)	5	X				

Les mélanges ont été agités par rotation pendant 2 heures, puis transférés dans des vases de végétation. Ils ont été réhydratés jusqu'à 70% de la CRE (§ 3.2.1) par une solution contenant 250 mg N (NH_4NO_3), 207 mg K (K_2SO_4), 60 mg Mg ($MgSO_4$) et 109 mg P ($Ca(H_2PO_4)_2$) par kg de sol. Pendant une période de réaction de 3 semaines, les vases de végétation ont été placés à 25°C dans une chambre climatisée. L'humidité des sols a été maintenue à 70% de leur CRE par arrosage avec de l'eau distillée.

Des graines de maïs (*Zea mays* L., cv. Volga) ont été rincées dans l'eau distillée. Après, une nuit de germination, à l'obscurité et à 25°C, sur papier imbibé d'une solution de $Ca(SO_4)_2$ (2 mM), 5 graines ont été semées dans chaque vase de végétation à la fin de la période de réaction. Les plantes ont été cultivées en chambre climatisée (photopériode 16 h d'éclairement [340 µmoles m^{-2} s^{-1}] et 8 h d'obscurité, température 25°C jour/20°C nuit, 75% d'humidité). 14 jours après le semis, les plantes ont été récoltées. Juste avant la récolte, la hauteur des plantes a été déterminée. Chaque plante a été divisée en trois parties : racines (R), troisième feuille (F3) et le reste des parties aériennes (PA). Les différentes parties ont été pesées puis rincées à l'eau distillée. Les 5 plantes de chaque vase de végétation ont été regroupées et coupées avec des ciseaux en céramique. Deux aliquotes de 1g de matière fraîche des parties R et F3 ont été immédiatement congelées dans l'azote liquide et stockées à -80°C en vue de la détermination des activités enzymatiques. Les restes de R, F3 et PA ont été mis dans une étuve ventilée à 80°C jusqu'à obtention d'un poids constant.

4.2.2 Détermination des paramètres indicateurs du développement

Sur les 5 plantes de chaque pot, les paramètres suivants ont été mesurés :

- hauteur : distance entre le collet et la pointe des feuilles ;
- masses de matières fraîches (MF) et de matières sèches (MS) des parties R, F3 et PA ;
- densité de chlorophylle : deux disques (diamètre 0,8 cm) ont été prélevés à la moitié de la feuille F3 d'une plante par pot, tirée au hasard. Les disques ont été immergés dans 3 ml de diméthylformamide refroidis à 4°C. Après 48 h de réaction à 4°C, la chlorophylle a (Chla) et la chlorophylle b (Chlb) ont été déterminées au spectrophotomètre UV-Visible (lecture de la densité optique DO à 470, 647 et 664,5 nm ; Varian Cary 1E). Les formules et coefficients d'extinction utilisés pour la détermination de la chlorophylle ont été publiés par Lichtenhaler et Wellburn (1983) et Blanke (1990).

4.2.3 Détermination des activités enzymatiques dans les troisièmes feuilles et les racines

Chaque aliquote congelée (deux par pot afin d'inclure la variance opératoire) a été broyée au pilon dans un mortier, à 4°C, en présence de 5 ml de tampon pour l'extraction des protéines (Tris HCl 0,1 M, DDT 1 mM, EDTA 1 mM et pH 7.8), de sable blanc et de polyvinylpyrrolidone (Vangronsveld et Clijsters, 1992). Ce broyat a été filtré sur une toile à bluter Nytrel, puis centrifugé à 4°C, 12000 g

pendant 10 min. Pour chaque enzyme à analyser, 100 µl d'extrait (surnageant de la centrifugation) ont été ajoutés à une cuve de 3 ml contenant le substrat et le coenzyme correspondant en quantité non-limitante. Puis, l'activité des enzymes suivants a été analysée au spectrophotomètre UV-Visible (Varian, Cary 1E) : guaiacol-péroxydase (POD ; E.C. 1.11.1.7), isocitrate déshydrogénase (ICDH ; EC 1.1.1.42), glutamate déshydrogénase (GDH ; EC 1.4.1.2) et enzyme malic (ME ; EC 1.1.1.40) (Van Assche et al., 1988 ; Van Assche et Clijsters, 1990b). L'activité enzymatique a été exprimée en mU par g MF. D'après la nomenclature internationale, une unité (U) correspond au nombre de µmoles de substrat transformées par minute à 30°C.

Les iso-péroxidases anioniques (iso-POD) ont été séparées par électrophorèse sur un gel avec un gradient de 7,5 à 20% (gel de polyacrylamide) et colorés enzymatiquement avec 0,04% benzidine et 0,006% H_2O_2 pendant 1,5 h à 37 °C (Van Assche et Clijsters, 1990b). Les gels ont été scannés densitométriquement à 632 nm.

4.2.4 Dosage des protéines totales

Les protéines ont été dosées dans l'extrait sur une aliquote stockée à -80°C. Le dosage a été effectué par colorimétrie en présence du réactif de Bradford (Biorad Protein Assay Kit II, Bio-Rad Laboratories GmbH). Les protéines ont été phosphorylées par transfert des groupements P à partir de l'acide phosphorique du réactif, puis leur absorption a été mesurée à 595 nm au spectrophotomètre UV-Visible (Varian, Cary 1E). Une gamme de protéines allant de 0 à 75 µg / 100 ml a été préparée à partir d'une solution standard d'albumine de sérum bovin.

4.2.5 Détermination de la composition minérale du maïs

La faible quantité de matière sèche récoltée des parties R et F3 ne permettait pas de broyer les échantillons sans avoir une perte trop importante. Les parties aériennes ont été broyées au broyeur planétaire (Retch PM4) pendant 40 min, puis au broyeur vibro-oscillant (Retch MM2000) pendant 1 min dans des bols et cylindres en oxyde de zirconium. Les échantillons ont été séchés pendant une nuit à 105°C. Ensuite, 1 g de matière sèche a été mis en solution dans un tube de verre borosilicaté avec 5 ml d'HNO_3 14 M à température ambiante pendant 5 h (dans le cas où moins de 1 g était récolté, tout l'échantillon a été mis en solution). Puis 10 ml d'H_2O_2 (30 % vol/vol) ont été ajoutés. Après 12 h à température ambiante, les tubes ont été chauffés progressivement (50 min à 60°C, 35 min à 90°C, 35 min à 150°C, 2h30 à 250°C) dans un bloc de minéralisation 'Gerhardt' équipé d'un programmateur de température et muni d'un réfrigérant à serpentin. Après refroidissement, les solutions ont été filtrées sur des filtres sans cendres de porosité moyenne (Whatmann 40). Le filtrat a été récupéré dans une fiole de 100 ml, dont le volume a été complété avec de l'eau distillée. Toute la

vaisselle a séjourné dans un bain de 5 % HNO_3 14M et 10 % HCl 36 – 38 % pendant au moins 12 h, puis a été rincée à l'eau permutée et à l'eau distillée. Tous les réactifs étaient de qualité pour analyse.

Selon la concentration de l'élément analysé, les déterminations ont été réalisées par ICP-AES (Varian Liberty 200) ou ICP-AES (Varian Liberty Séries II) couplé avec un nébuliseur ultrasonique (CETAC 4-6000 AT^{II}). Trois mesures ont été réalisées par minéralisat et le résultat n'a été accepté que si le pourcentage de variation était inférieur à 5%.

Le contrôle de la qualité de l'analyse a été réalisé par l'utilisation d'un matériel de référence certifié (Rye grass BCR 281, Bureau Communautaire de Reference, Commission des Communautés Européennes) analysé avec les mêmes méthodes. Nous avons réalisé un blanc d'attaque tous les 10 échantillons. Les limites de travail dans les solutions sont définies comme 3 fois l'écart type des blancs d'attaque (As 27 - Cd 1,2 - Cu 2,1 - Ni 6 - Pb 18 - Zn 18 $\mu g\ L^{-1}$).

4.2.6 Analyses statistiques

Pour les paramètres hauteur et biomasse, cinq valeurs pour chacune des deux répétitions (deux blocs) ont été obtenues. Une analyse de variance (logiciel STATITCF, ITCF, Paris) a montré que l'effet 'bloc' n'était pas significatif. On a alors considéré 10 répétitions par traitement. L'écart entre les moyennes a été défini par le test de Newmann-Keuls et les moyennes affectées de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%.

Concernant la densité de chlorophylle et les activités enzymatiques, deux répétitions ont été obtenues. Le nombre de données étant trop faible pour effectuer une analyse de variance, on a calculé les moyennes avec leur intervalle de confiance (95%). On considère deux valeurs comme étant différentes si les intervalles de confiance respectifs ne se chevauchent pas.

4.3 RESULTATS ET DISCUSSION

4.3.1 Concentration en éléments traces dans le maïs

La concentration en éléments traces (valeurs moyennes ± 95% intervalle de confiance) dans les parties aériennes du maïs est donnée dans les figures 4.1 à 4.6. Les valeurs moyennes ± leur intervalle de confiance (95%) dans les parties aériennes des plantes cultivées sur les 4 sols de référence sont représentées par des lignes horizontales. Les valeurs de la concentration en éléments traces dans F3 et R sont rassemblées dans les tableaux de l'annexe 1. Les résultats des racines doivent être considérés avec prudence car il est difficile d'enlever parfaitement toutes les particules du sol et les éléments précipités sur la surface de la racine avec un lavage dans l'eau. Les résultats de l'annexe 1

sont seulement utilisés quand ils apportent des informations complémentaires facilitant la compréhension des résultats. La biomasse des plantes de maïs cultivées sur le sol Rep2 était trop faible pour pouvoir déterminer leur composition élémentaire.

Dans la discussion des résultats, on ne prend en compte que les sols pour lesquels les teneurs en éléments du maïs sont au-delà des valeurs du maïs cultivé sur les sols de référence.

Dans le chapitre 3 on a conclu que la mobilité des éléments traces est dépendante de leur spéciation dans le sol. Les résultats de cette partie renforcent cette conclusion. Par exemple, la concentration totale des éléments traces dans le sol Ov2 est beaucoup plus élevée que dans le sol Ov1 (rapport Ov2/Ov1 des sols NT : As 8,6 - Cd 24,4 - Cu 17,4 - Ni 5,2 - Pb 10,9 - Zn 18,8, tableau 2.1). Cette différence de concentration totale n'est pas reflétée par la concentration dans les parties aériennes du maïs (ratio Ov2/Ov1 dans les parties aériennes : As 1,2 - Cd 1,8 - Cu 0,6 - Ni 0,3- Pb 1,1 - Zn 0,6). La concentration en Cu, Ni et Zn dans les parties aériennes est même plus faible pour le sol Ov2 que pour le sol Ov1. On ne peut donc pas juger la qualité d'un sol pollué par des éléments traces et ses effets sur l'écosystème en se basant sur les teneurs totales dans le sol.

4.3.1.1 Concentration en métaux traces

Dans la plupart des sols, l'apport de B, GAB et HA 0,5, 1 et 5 permet, indépendamment du sol, de diminuer l'accumulation dans les parties aériennes du maïs de tous les métaux étudiés (fig. 4.1 à 4.5). Ceci est en accord avec des résultats obtenus par des extractions (chapitre 3).

En ce qui concerne la béringite, les résultats avec le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivé sur ces mêmes échantillons de sol sont similaires à ceux obtenus pour le maïs (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Des expériences en vases de végétation sur d'autres sols ont aussi montré une diminution de la concentration en Cd, Zn, Cu et Pb dans le ray-grass, le haricot et le maïs après un apport de B au sol (Vangronsveld et Clijsters, 1992 ; Mench et al., 1994a,b ; Vangronsveld et al., 1995a,b ; Gomez et al., 1997). L'effet de B est donc reproductible pour différentes espèces végétales et différents sols. Une exception à cette généralité est rencontrée dans le sol Ov2. L'ajout de B augmente la concentration en Cu et Pb dans les parties aériennes (fig. 4.3 et 4.5) et les racines (annexe 1) du maïs. Dans le chapitre 3 on avait pourtant conclu que l'ajout de B diminue la mobilité de ces éléments. Une hypothèse est que l'ajout de B diminue la phytotoxicité du sol et stimule ainsi l'activité racinaire ce qui résulte, dans ce sol, en une augmentation du prélèvement du Cu et Pb. Le fonctionnement de la plante jouerait donc un rôle important dans le transfert sol-plante de ces éléments. Cette hypothèse est renforcée par le fait que la matière fraîche des racines du maïs a

augmentée de 3,8 fois après un apport de B (annexe 2). De plus, l'apport de B améliore le fonctionnement du maïs (§ 4.3.3.2).

Vangronsveld et al. (1996) ont déterminé la concentration en Zn et Cd dans les feuilles primaires du haricot cultivé sur des terres provenant d'un site en Belgique (Maatheide) qui avait reçu, il y a cinq ans, un apport de B. Dans un des échantillons du sol traité, dont la quantité totale de Zn et Cd (13250 et 54,5 mg kg^{-1}) est plus élevée que dans le sol non traité (11425 et 39,0 mg kg^{-1}), l'apport de B a diminué la concentration en Zn et Cd de 89 et 85 %. Sur ce site, l'effet de B sur l'accumulation des métaux traces par la plante est donc durable sur une période d'au moins cinq ans.

L'apport de GAB a un effet similaire pour le haricot cultivé sur les mêmes échantillons du sol (Ruttens et Vangronsveld, 1998). L'effet de GAB n'est donc pas spécifique à une seule plante.

Avec les extractions a observé que la combinaison de B avec GA immobilise le Ni libéré par GA (chapitre 3). Dans cette partie de l'étude on aboutit à la même conclusion étant donné que l'accumulation de Ni par le maïs augmente avec un apport de GA (fig. 4.2) et qu'elle diminue avec un apport de GAB.

L'ajout de GAB au sol Ov2 augmente la concentration en Cu dans les parties aériennes (fig. 4.3). L'apport de B au sol Ov2 a augmenté la matière fraîche des racines 3,3 fois (annexe 2) et améliore le fonctionnement de la plante (§ 4.3.3.2). Ceci nous mène à la même hypothèse que celle émise pour expliquer l'augmentation de l'accumulation du Cu après un apport de B à ce sol.

L'effet de HA sur la concentration en métaux dans le maïs augmente avec une quantité croissante apportée. Les réponses du haricot cultivé sur les mêmes échantillons sont différentes ; après une diminution graduelle avec l'ajout de 0,5 à 1 % d'HA, la concentration en Cu, Zn et Ni augmente à nouveau (Ruttens et Vangronsveld, 1998 ; Boisson et al., 1999b). L'augmentation de la concentration de ces métaux serait corrélée avec la très faible concentration en Ca quand 5% d'HA est apporté au sol. Ca joue un rôle important dans la stabilisation des membranes, et une carence en CA pourrait résulter en une augmentation de leur perméabilité (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Pour Pb, Cd et Zn, leur immobilisation par HA est en accord avec les résultats obtenus sur d'autres sols. L'apport de HA (0,6 à 2,3 % m/m) à un sol pollué en Pb a permis de diminuer la concentration en Pb dans les parties aériennes de millet (*Sorghum bicolor* L.) de 92 à 98 % (Laperche et al., 1997). Chlopecka et Adriano (1996, 1997) ont montré que la concentration en Cd, Pb et Zn dans différents tissus du maïs et de l'orge (*Hordeum vulgare*) diminue quand HA (0,4 % w/w) est apporté à un sol pollué par des cendres volantes. L'effet diminutif de l'hydroxyapatite sur la concentration en métaux traces dans la plante est donc reproductible pour différentes espèces végétales et différents sols. Par contre, la quantité de d'hydroxyapatite à apporter au sol est spécifique à la plante.

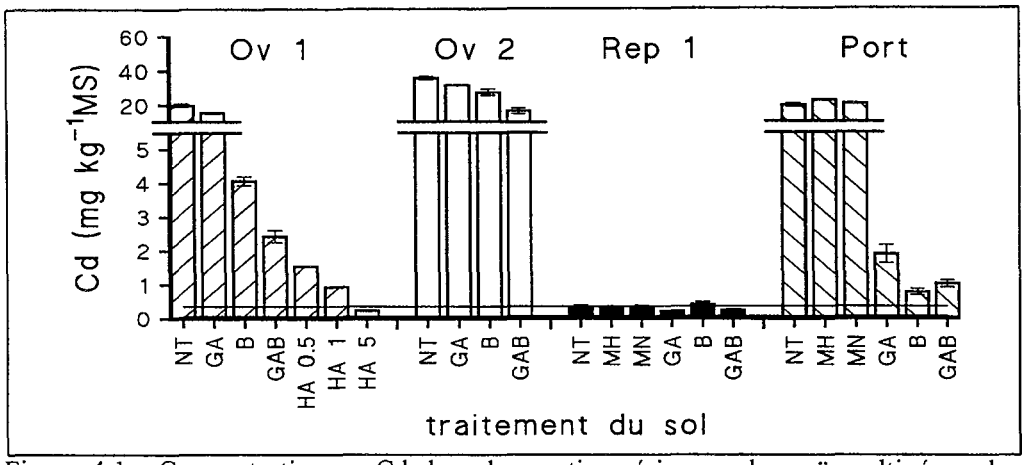


Figure 4.1 : Concentration en Cd dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

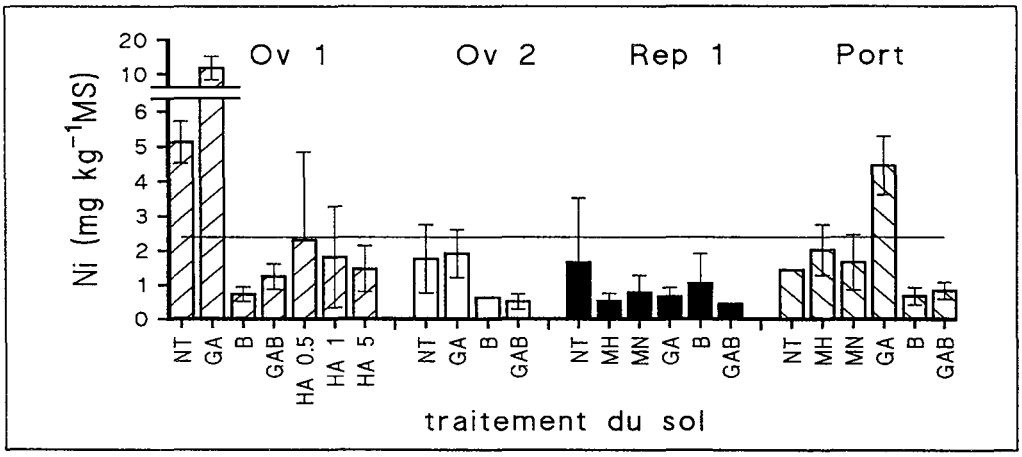


Figure 4.2 : Concentration en Ni dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

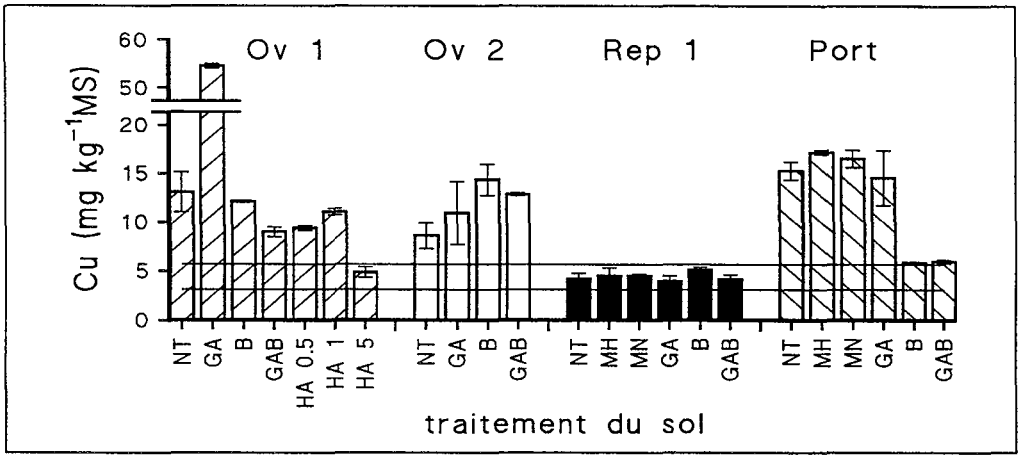


Figure 4.3 : Concentration en Cu dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

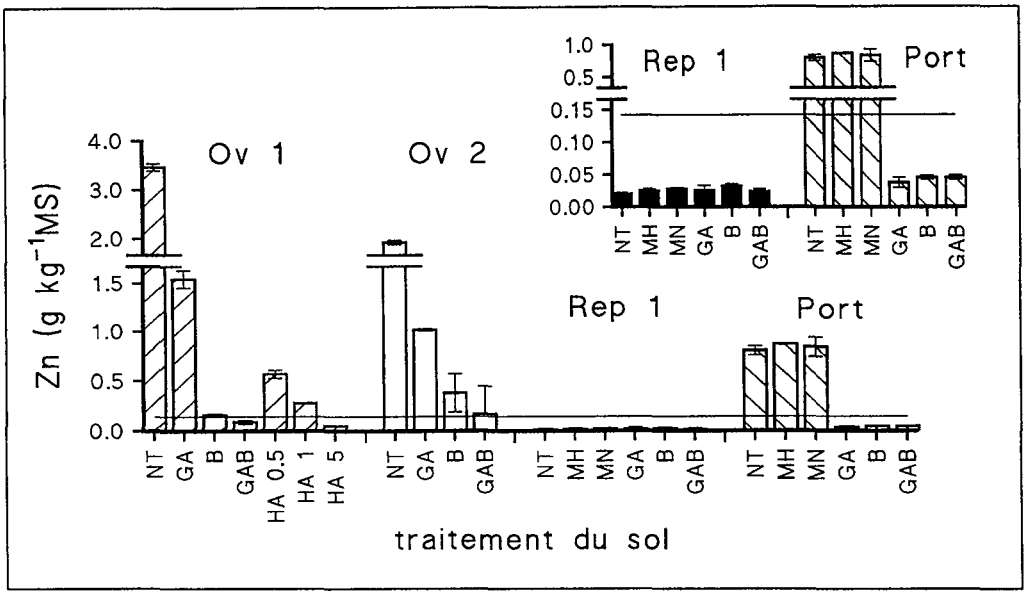


Figure 4.4 : Concentration en Zn dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

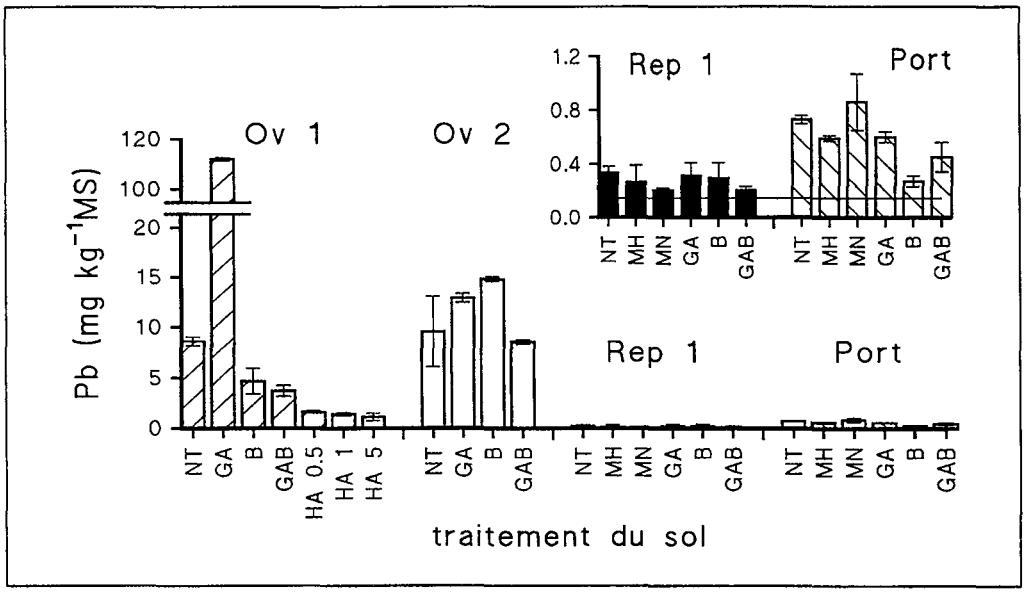


Figure 4.5 : Concentration en Pb dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

L'ajout de GA diminue la concentration en Cd et Zn dans le maïs cultivé sur tous les sols étudiés (fig. 4.1 et 4.4). Les résultats obtenus avec le haricot exposé aux même échantillons de sol sont similaires (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Une diminution de la concentration en Cd et Zn dans le ray-grass (*Lolium perenne*), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le maïs (*Zea mays* L.) et le tabac (*Nicotiana tabacum* L.), après l'apport de GA à d'autres sols, a aussi été rapportée (Mench et al.,

1994a ; Sappin-Didier, 1995 ; Gomez et al., 1997). La diminution de la concentration en Cd et Zn est donc reproductible pour différents sols et différentes espèces végétales.

Après un apport de GA, la concentration en Cd dans les racines du maïs cultivé sur les sols Ov1 et Ov2 (annexe 1) s'abaisse de 69 et 77 % alors que celle dans les parties aériennes diminue seulement de 22 % et 12 %. Ces résultats montrent que ce n'est pas seulement l'exposition qui détermine les teneurs dans les parties aériennes, mais que le transfert à l'intérieur de la plante joue aussi un rôle. Afin d'évaluer les risques de l'exposition de l'écosystème par la chaîne alimentaire, il ne suffit donc pas de déterminer le niveau d'exposition de la plante.

L'apport de GA augmente la concentration en Ni dans les parties aériennes (fig. 4.2) et les racines (annexe 1). On peut en conclure que l'exposition de la plante à ce métal a augmenté. Ce résultat n'est pas confirmé par d'autres études. En effet, dans une étude en plein champ, la concentration en Ni dans les parties aériennes du maïs, un an après l'apport de GA, a diminué (Boisson et al., 1998). De plus, dans les tests avec le haricot sur les mêmes échantillons du sol après un temps de réaction de 5 mois, l'ajout de GA résulte en une diminution de la concentration en Ni dans la première feuille du haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Ces résultats renforcent l'hypothèse, émise dans le chapitre 3, qu'un temps de réaction de trois semaines de la grenaille d'acier est insuffisant pour diminuer la mobilité de Ni libéré par GA. En effet, dans une étude en plein champ, il a été démontré que l'efficacité de GA à diminuer l'accumulation du Ni par le maïs augmente sur une période d'au moins trois ans (Vangronsveld et al., 1999).

Dans le sol Ov1, l'ajout de GA augmente la concentration en Cu et Pb alors que cet amendement n'a pas d'influence sur la concentration de ces éléments dans le maïs cultivé sur les autres sols (fig. 4.3 et 4.5). L'ajout de GA n'a pas d'effet sur la concentration en Cu et Pb dans les feuilles primaires des haricots cultivés sur le sol Ov1 (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Une fois encore, le temps de réaction de GA serait un facteur explicatif.

MH et MN n'ont pas d'effet significatif sur la concentration en métaux (fig. 4.1-4.5). Ce résultat confirme ceux des extractions sélectives, et on peut conclure que GA (formation des (hydr)oxydes *in-situ*) est plus efficace pour immobiliser les métaux que MH et MN (phases cristallines). Ceci est surtout vrai pour le Cd et le Zn (fig. 4.1 et 4.4).

4.3.1.2 Concentration en arsenic

Aucun amendement ne diminue la concentration en As dans les parties aériennes du maïs (fig. 4.6) cultivé sur le sol Port. Si on considère les racines (annexe 1), c'est l'apport de MH et MN qui diminue l'exposition de la plante. Ce résultat et en accord avec celui obtenu par les extractions

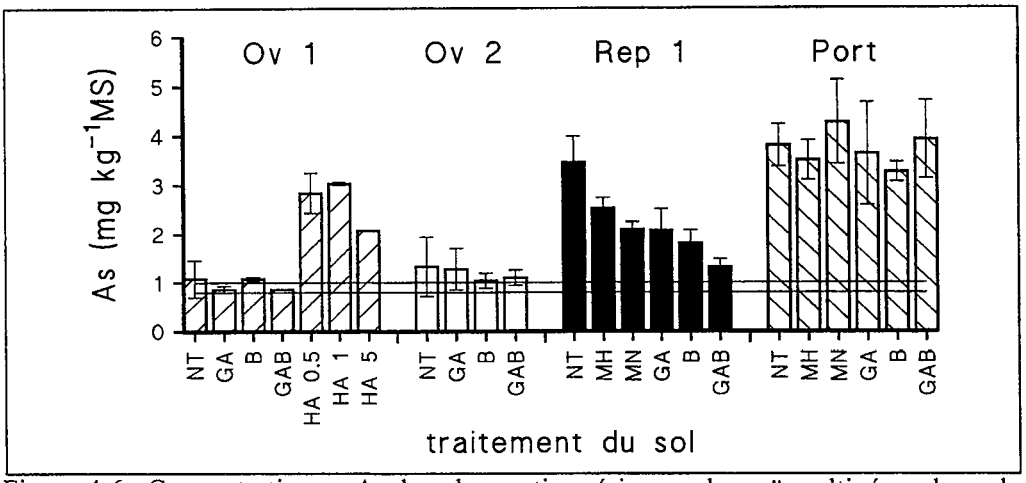


Figure 4.6 : Concentration en As dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

(chapitre 3). La plus faible concentration dans R après l'ajout de ces amendements ne se traduit pas en une diminution de la concentration dans les parties aériennes. En ce qui concerne l'exposition à l'As de l'écosystème par la chaîne alimentaire, dans le sol Port, elle est déterminée par le transfert des racines vers les parties aériennes.

Dans le sol Repl, tous les amendements diminuent la concentration en As dans les parties aériennes (fig. 4.6). L'ajout de GA, B, et GAB diminue aussi la concentration en As dans le haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998). GA a été également apporté à des échantillons de sols provenant de jardins potagers dans les environs du site industriel de Reppel. En vases de végétation, l'apport de GA a diminué la concentration en As dans la laitue de 66 à 88 % et dans le radis de 42 à 66 %. En plein champ, l'apport de GA a diminué la concentration en As en moyenne de 76 % dans la laitue, de 85 % dans le radis, de 75 % dans la carotte et de 74% dans la pomme de terre (Vangronsveld, 1998a). L'effet de GA, B et GAB sur l'accumulation de l'As n'est donc spécifique à la plante.

L'apport de HA au sol Ovl augmente la concentration en As dans les parties aériennes (fig. 4.6) et les racines (annexe 1) du maïs et dans les feuilles primaires des haricots (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Par rapport au sol NT, la concentration en As dans les racines est de 7, 10 et 17 fois plus élevée après un apport de HA à 0,5, 1 et 5 %. Ces résultats renforcent la conclusion que le phosphate, libéré pendant la solubilisation de HA, entre en compétition avec l'As pour des sites d'adsorption de la phase solide du sol, et augmente ainsi l'exposition des racines (chapitre 3).

L'ajout de HA 5% diminue la concentration en As dans les parties aériennes par rapport aux HA 0,5 et 1%. Par contre, dans les racines, la concentration en As augmente avec l'apport de HA. La diminution dans les parties aériennes est alors liée aux mécanismes de transport des racines vers les parties aériennes. Ceci pourrait s'expliquer par un effet antagoniste entre As et P dans la plante qui

serait en faveur de P car sa concentration dans les racines est de 50 à 60 fois plus élevée que celle d'As. Cette hypothèse est renforcée par le fait que la teneur en phosphore dans les parties aériennes augmente avec l'apport croissant de HA (fig. 4.8), alors que celle en As diminue (fig. 4.6).

4.3.1.3 Conclusions

On ne peut pas juger la qualité d'un sol pollué par des éléments traces et ses effets sur l'écosystème en se basant sur les teneurs totales dans le sol. Il n'est pas possible non plus d'évaluer l'exposition de l'écosystème par la chaîne alimentaire par une simple extraction. Le fonctionnement de la plante a même résulté en des résultats contradictoires à ceux obtenus dans l'étude de l'extractabilité (chapitre 3). On a émis l'hypothèse que l'apport des amendements peut diminuer la phytotoxicité du sol et améliorer ainsi le fonctionnement du système racinaire. Ceci peut résulter en une augmentation du prélèvement des éléments traces par le maïs. De plus, on a démontré que ce n'est pas seulement l'exposition des racines mais aussi le transport des racines vers les parties aériennes qui détermine la concentration en éléments traces de la chaîne alimentaire. Afin d'évaluer l'effet des amendements sur la sûreté alimentaire, il est donc indispensable de déterminer la concentration en éléments traces dans les plantes.

D'après la concentration dans les parties aériennes, l'ajout de la béringite, de la grenaille d'acier + béringite et de l'hydroxyapatite est l'action la plus efficace pour immobiliser les métaux étudiés. A quelques exceptions près, l'effet de ces amendements est reproductible dans différents sols et pour différentes espèces végétales. De plus, l'effet de la béringite a été montré durable sur une période d'au moins cinq ans (Vangronsveld et al., 1996). L'apport de ces amendements peut alors diminuer l'exposition des végétaux et celle des organismes vivants qui les consomment.

L'effet de l'hydroxyapatite augmente avec son apport.

En ce qui concerne la grenaille d'acier, la diminution de la concentration en Cd et de Zn est reproductible sur différents sols et pour différentes espèces végétales. Les résultats obtenus confirment que l'apport de la grenaille d'acier (formation des (hydr)oxydes *in-situ*) est plus efficace pour immobiliser Cd et Zn que l'apport de maghémite ou magnétite (phases cristallines).

Un temps de réaction de trois semaines serait insuffisamment long pour immobiliser Ni et Pb. Des études antérieures ont confirmé l'hypothèse que l'immobilisation par la grenaille d'acier est un processus dynamique qui augmente avec le temps.

L'effet des amendements sur la concentration en As dans le maïs dépend du sol. Dans le sol Port, aucun des amendements ne diminue la concentration en As dans les parties aériennes du maïs.

Dans le sol Repl, l'apport de tous les amendements diminue l'accumulation de l'As par le maïs, l'apport de grenaille d'acier + béringite étant le plus efficace.

L'apport de l'hydroxyapatite augmente la concentration en As dans la plante et doit être considéré avec prudence dans des sols qui contiennent cet élément.

La revégétalisation des sites nus pourrait être favorisée par l'apport d'amendements au sol bien qu'une évaluation de la concentration en éléments traces dans la plante ne suffise pas. Il faudrait connaître aussi l'influence des amendements sur le fonctionnement et la reproduction de la plante afin d'évaluer si la revégétalisation a une chance de succès. Dans l'introduction, on a évoqué la possibilité que les amendements aient un effet négatif sur la plante, soit directement par une libération d'éléments en concentrations toxiques, soit indirectement par l'immobilisation d'éléments nutritifs. Ce dernier aspect est le sujet du paragraphe suivant.

4.3.2 Concentration en éléments nutritifs dans le maïs

La concentration en Ca, P, Fe, K et Mn dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols pollués et les sols de référence est donnée dans les figures 4.7 à 4.11. Les concentrations dans la troisième feuille (F3) et les racines (R) sont présentées dans l'annexe 1. Dans F3 et R, Mg a également été déterminé.

L'ajout de la solution nutritive n'a pas toujours été suffisant pour augmenter la concentration en éléments jusqu'au niveau des valeurs de référence (fig. 4.7 - 4.11). Par exemple, la concentration en Ca reste en dessous des valeurs de référence dans les sols NT de Ov1, Rep1 et Port (fig. 4.7). Ceci pourrait être le résultat d'une compétition entre les différents éléments pour l'absorption par les racines ou d'un mauvais fonctionnement du système racinaire à cause d'effets toxiques.

4.3.2.1 Concentration en Ca, P, Fe, K, Mg et Mn

L'ajout de GA augmente la concentration en Fe dans les plantes cultivées sur Ov1et Port (fig. 4.9). Par contre, l'ajout de MN et MH n'augmente pas la concentration en Fe dans le maïs cultivé sur le sol Port. Ce serait alors le fer libéré pendant l'oxydation de GA qui est prélevé par la plante.

L'ajout de GA accroît la teneur en Mn dans les plantes cultivées sur Ov1 et Ov2 (figure 4.11). Le Mn proviendrait de GA (tableau 2.3). Ce résultat n'est pas en accord avec des résultats obtenu avec le haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998) et dans une étude en plein champ avec le maïs (Boisson et al., 1998). Une différence avec notre étude est un temps de réaction dans le sol plus long (5 mois et 1 an respectivement). La formation des oxydes de Mn *in-situ* à partir de GA (Manceau et al., 1996 ; Hargé, 1997) ne semble pas terminée après les trois semaines d'incubation. Par contre, trois mois

après son apport au sol, GA a augmenté de 9 fois la teneur en Mn dans les feuilles primaires de la tomate (Berti et al., 1998). Une influence de l'espèce végétale peut donc pas être exclue.

Quand GA est combiné avec B, le Mn libéré par GA est re-immobilisé par B et atteint le niveau de référence. Ce résultat est identique à celui obtenu dans une étude antérieure avec la tomate (Berti et al., 1998). B est donc un traitement complémentaire pour GA. L'immobilisation du Mn libéré est due à l'augmentation du pH avec l'apport de B et/ou à une fixation de Mn par B.

Les traitements B et GAB augmentent la concentration en Ca dans les PA du maïs cultivé sur les sols Ov1 et Rep1 jusqu'au niveau des valeurs de référence (fig. 4.7). Des résultats identiques ont été obtenus avec le haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998) et la tomate (Berti et al., 1998). La

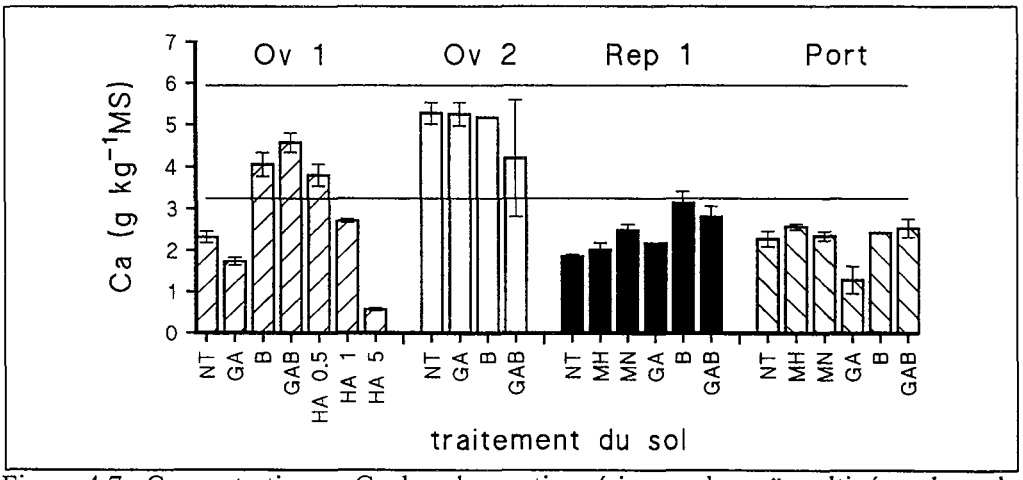


Figure 4.7 : Concentration en Ca dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

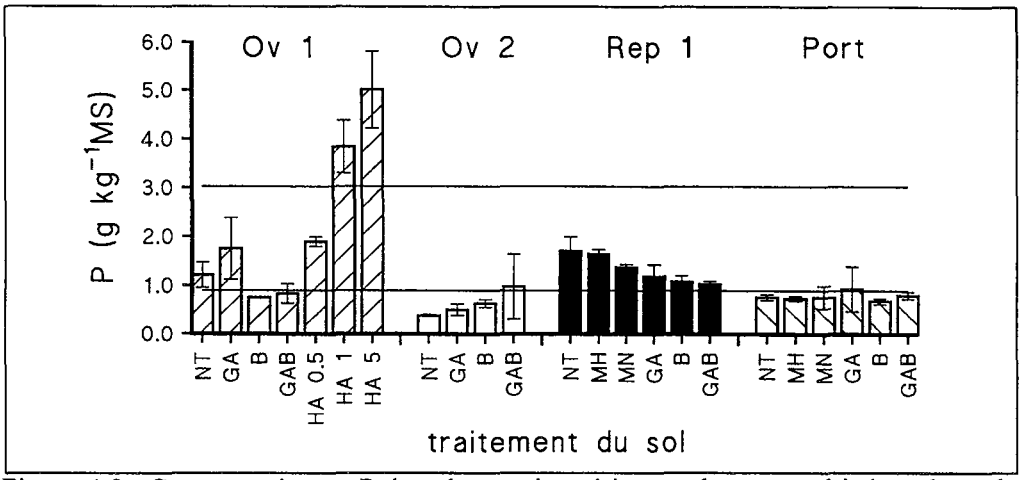


Figure 4.8 : Concentration en P dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

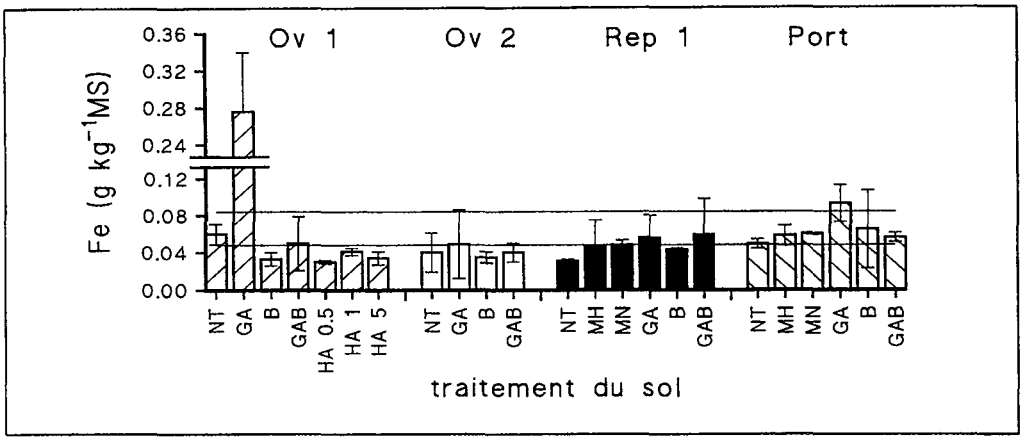


Figure 4.9 : Concentration en Fe dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

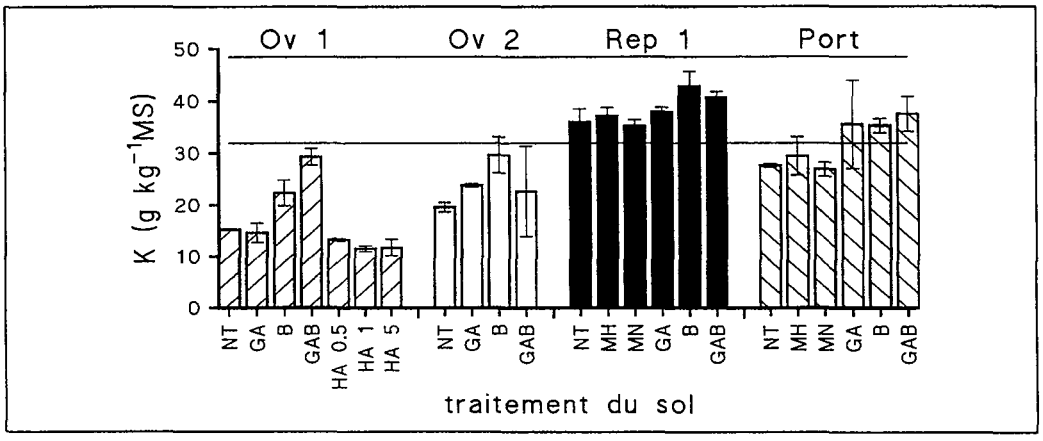


Figure 4.10 : Concentration en K dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

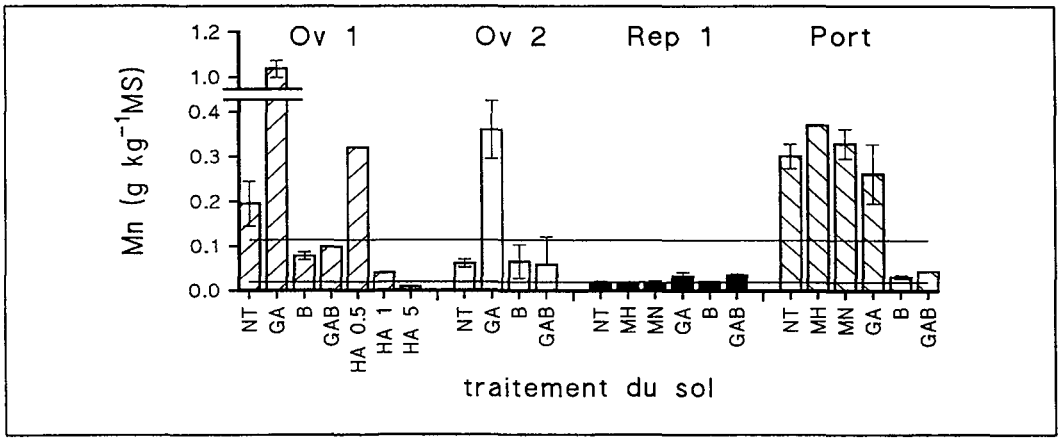


Figure 4.11 : Concentration en Mn dans les parties aériennes du maïs cultivé sur les sols NT et traités (lignes horizontales = valeur de référence moyenne ± intervalle de confiance à 95 %).

concentration en K augmente aussi avec ces deux traitements (fig. 4.10). Ces résultats s'expliqueraient par la composition de B (tableau 2.4). Celle-ci libère du Ca et du K pendant sa solubilisation. Quant 1 volume de B est mis dans 5 volumes d'eau, la solubilité de Ca et de K est de 406 et 173 mg kg^{-1} B (De Boodt, 1991). Dans les sols Ov2 et Port, l'ajout de GA et GAB n'a pas d'effet sur la concentration en Ca dans les parties aériennes, même si la concentration dans les racines augmente (annexe 1). Le transfert de Ca et K des racines vers les parties aériennes est en partie bloqué dans le maïs cultivé sur ces deux sols. Les résultats obtenus ne permettent pas de proposer d'hypothèse.

L'ajout de B et GAB diminue la concentration en Mn dans des plantes cultivées sur Ov1 et Port pour la ramener au niveau de celle de référence (fig. 4.11). Leur apport augmente la concentration en Mg dans la troisième feuille du maïs (annexe 1). Quand B se solubilise, le Mg contenu dans sa structure (tableau 2.4) est libéré en solution.

L'effet de HA sur la concentration en Ca dans les parties aériennes dépend de la quantité ajoutée (fig. 4.7). La concentration en Ca dans les parties aériennes diminue avec un apport croissant de HA tandis que celle dans les racines augmente (annexe 1). La faible concentration en Ca dans les parties aériennes avec l'ajout de HA 5 % provient alors d'un plus faible transport de Ca des racines vers les parties aériennes et non pas d'une diminution de l'exposition de la plante au Ca. Une explication possible est basée sur le fait que l'analyse chimique des particules adhérentes à la surface des racines dans des sols pollués en Pb a montré une co-association de Pb, P, et Ca (Laperche et al., 1997). Ces auteurs font l'hypothèse qu'à l'intérieur des racines, des précipitations similaires peuvent se former. L'augmentation de la concentration en P sur/dans les racines avec l'ajout de HA (annexe 1) mènerait à une précipitation de Ca, ce qui diminuerait le transport vers les parties aériennes.

L'apport de HA diminue la concentration en Fe dans les parties aériennes en dessous des valeurs de référence. Par contre, la concentration en Fe dans les racines n'a pas diminué par rapport au sol NT (annexe 1). Là encore, le transport des racines vers les parties aériennes serait le facteur limitant. Quant au Mn, sa concentration dans les parties aériennes et les racines diminue par rapport au sol NT en fonction de l'apport de HA (annexe 1). Ceci pourrait être dû à un niveau d'exposition plus faible à cause d'une immobilisation de Mn par l'HA. L'augmentation du pH du sol après l'ajout de HA (tableau 3.3) pourrait aussi être responsable de l'immobilisation de Mn. Les sols avec un pH > 6,5 sont favorables à l'oxydation de Mn^{2+} en Mn^{4+} (Mengel et Kirkby, 1982), ce qui limite la solubilité de Mn et, par conséquent, son prélèvement par la plante (Adriano, 1986). D'un autre côté, selon Graham et al. (1988), le prélèvement de Mn serait essentiellement indépendant du pH entre pH 5.5 – 8.0. Cette dernière hypothèse est renforcée par le fait que l'ajout de B a autant augmenté le pH du sol

que l'ajout de HA 5% (tableau 3.3) sans que la concentration en Mn dans les parties aériennes soit en dessous des valeurs de référence. Le pH semble donc ne pas jouer un rôle crucial dans le sol Ov1.

La dissolution de HA résulte en une concentration en P plus élevée dans la solution du sol, ce qui est reflété par la concentration en P dans les parties aériennes (tableau 4.4).

4.3.2.2 Conclusions

L'apport de béringite et de grenaille d'acier + béringite améliore la nutrition de la plante en augmentant la concentration en Ca et K. L'ajout de l'hydroxyapatite à faible quantité (0,5 et 1 %) augmente également la concentration en Ca, mais à 5 %, celle-ci est plus faible que dans le sol NT. L'effet de l'hydroxyapatite sur la concentration en Mn est similaire, et un apport de 5 % diminue la concentration en Mn même en dessous de la valeur de référence. L'ajout de GA augmente fortement la concentration en Fe et en Mn.

A l'évidence, il est impossible d'évaluer l'effet des amendements sur le fonctionnement de la plante en se basant sur les seuls résultats de la concentration en éléments traces et en éléments nutritifs dans les différentes parties du maïs. Par exemple, l'ajout de HA 5 % immobilise des métaux mais également des éléments comme le Ca et Mn. La connaissance du fonctionnement de la plante est pourtant important afin de pouvoir évaluer si l'apport des amendements favorise un revégétalisation des sites pollués. L'effet global des amendements sur ce fonctionnement est évalué dans le paragraphe suivant.

4.3.3 Paramètres morphologiques, densité de chlorophylle et activités enzymatiques

Les valeurs moyennes avec leur intervalle de confiance (à 95 %) de différents paramètres liés au fonctionnement du maïs sont données en annexe 3. Celles des sols de référence sont indiquées par des lignes horizontales. Les paramètres concernés sont les suivants :

- paramètres morphologiques (hauteur et biomasse des parties aériennes) ;
- densité de chlorophylle dans la troisième feuille ;
- capacité de l'ICDH dans la troisième feuille ;
- capacité de l'ICDH, ME, GDH et POD dans les racines ;
- concentration en protéines solubles dans les racines.

Le sol Rep2 n'est pas inclus, car celui-ci est si phytotoxique que la croissance du maïs a été presque impossible. Seul l'ajout de B et GAB augmente la biomasse totale des 5 plantes de 0,49 à 1,81 et 3,40 g (annexe 2). La quantité de matière fraîche récoltée était trop faible pour analyser l'activité enzymatique.

4.3.3.1 Phytotoxicité des sols non-traités (NT)

La hauteur, la masse et la densité de chlorophylle sont affectées dans tous les sols NT (annexe 3) et peuvent alors servir comme marqueurs biologiques du fonctionnement de la plante. A partir de ces paramètres, le sol Rep1 s'avère le moins phytotoxique, suivi du sol Port. Les sols Ov1 et Ov2 sont les plus phytotoxiques. L'influence de l'apport de GA, B et GAB sur la morphologie du maïs cultivé sur le sol Ov1 est illustré dans la figure 4.12.

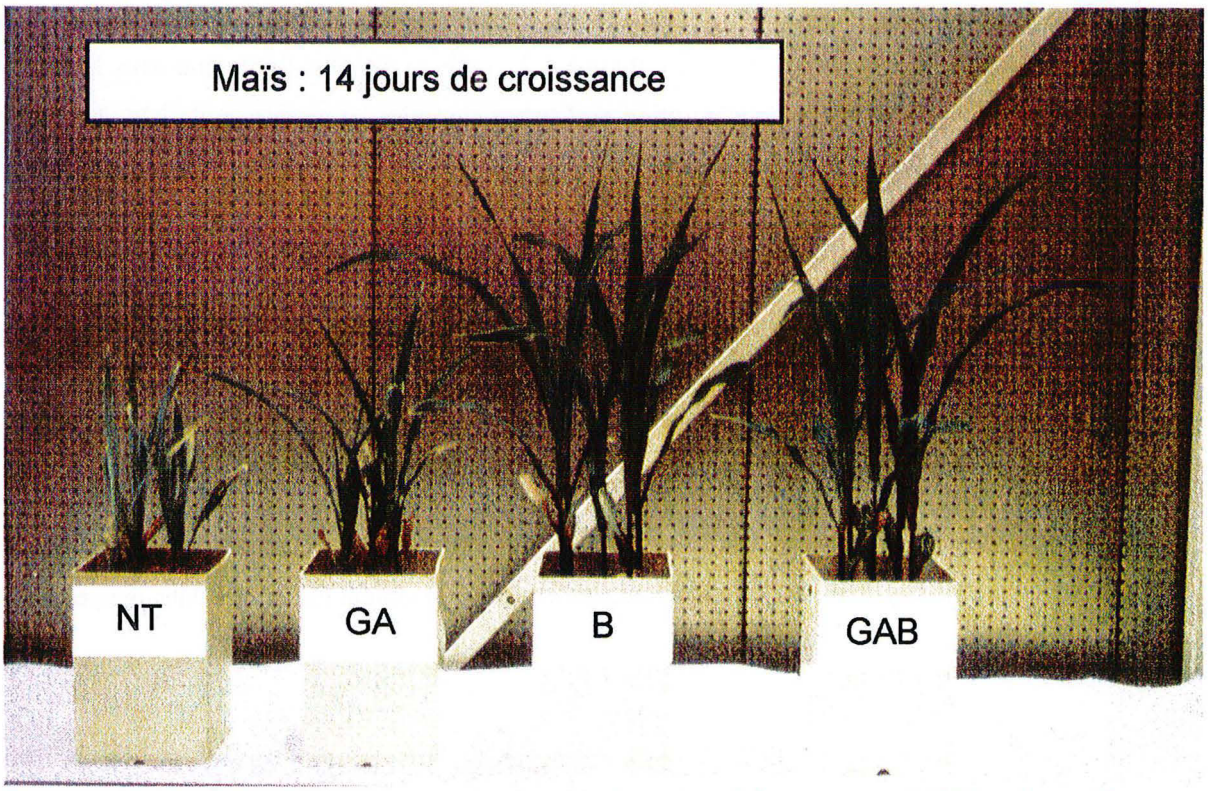


Figure 4.12 : Plantules de maïs (2 semaines) cultivés sur le sol Ov1 non traité (NT) et le sol Ov1 avec un apport de grenaille d'acier (GA), béringite (B) et leur combinaison (GAB).

Parmi les quatre enzymes évalués dans les feuilles F3, seule l'activité de ICDH est affectée significativement dans les sols pollués par rapport aux sols de référence. La phytotoxicité des sols étudiés se traduit en une diminution de l'activité de l'ICDH dans les F3 du maïs (annexe 3). L'activité de l'ICDH dans F3 est par la suite utilisée comme marqueur biologique du fonctionnement du maïs.

L'inhibition de l'activité de ICDH dans les feuilles de maïs est en accord avec les résultats obtenus en hydroponie pour Cu et Cd (Mocquot et al., 1996 ; Lagriffoul et al., 1998). Pour le Cu, la valeur seuil n'a pas pu être obtenue. La valeur seuil pour le Cd est de 22 mg kg^{-1} MS. Si l'on compare cette valeur avec la concentration en Cd dans les F3 (annexe 1), on peut conclure que pour les sols Ov1, Ov2 et Port, l'inhibition de l'ICDH dans F3 pourrait être (en partie) le résultat d'une toxicité de Cd. Mench (communication personnelle) a déterminé chez le maïs un seuil de phytotoxicité de Zn

moyen (1750 mg kg^{-1}MS) basé sur plusieurs paramètres dans les F3. Dans le sol Ov1, la concentration en Zn dans la troisième feuille (annexe 1) se rapproche de ce seuil. L'inhibition de l'ICDH pourrait être (en partie) le résultat d'une toxicité du Zn.

En principe, deux mécanismes majeurs peuvent être responsables pour l'inhibition d'enzymes: i) la formation d'une liaison entre des métaux ou l'arsenic et les groupements sulfhydriques qui sont impliqués dans l'action catalytique ou l'intégrité structurale de l'enzyme, et ii) la déficience d'un métal essentiel dans les complexes de métalloprotéines en combinaison avec la substitution de l'élément déficient par un élément non-essentiel (Lagriffoul et al., 1998).

La phytotoxicité des sols étudiés se traduit en une augmentation de l'activité des enzymes ICDH, ME, GDH et POD dans les racines du maïs (annexe 3). L'activité de ces enzymes dans les racines est utilisée par la suite comme marqueur biologique du fonctionnement du maïs.

En hydroponie, une augmentation de l'activité de ces enzymes avec une augmentation de la concentration en Cu dans les racines du maïs a été montrée (Mocquot et al., 1996). Les seuils de phytotoxicité (en mg Cu kg^{-1}MS de racines) sont les suivants : ICDH 26,0 - ME 25,0 - GDH 25,6 - POD 26,0. Si l'on compare ces valeurs avec les teneurs en Cu dans les racines (annexe 1), on peut en conclure que dans les sols Ov1, Ov2 et Port, le Cu serait (en partie) responsable des effets phytotoxiques observés. La forte induction de ME dans les racines des plantes cultivées sur le sol Rep1 NT ne pourrait pas s'expliquer par une toxicité du Cu. En ce qui concerne l'As, la valeur seuil pour ME (déterminée en hydroponie) dans les racines de maïs est de 934 mg kg^{-1} MS (Ruttens, communication personnelle), soit 2,3 fois plus élevée que la concentration en As dans les racines du maïs cultivé sur le sol Rep1 (annexe 1). Si le comportement du maïs cultivé sur sol est identique à celui cultivé en hydroponie, l'augmentation de l'activité de ME ne serait pas due à l'accumulation de l'As.

La capacité de ICDH, ME et GDH augmenterait afin de compenser une éventuelle diminution du pouvoir réducteur qui est important pour le fonctionnement des mécanismes de détoxication (Ernst, 1980). L'induction de l'activité GDH serait aussi liée à l'augmentation de la quantité de protéines dans les racines, car cet enzyme a un rôle clé dans le métabolisme des acides aminés (Van Assche et Clijsters, 1990). L'activité POD serait induite afin de piéger des oxy-radicaux dans la cellule dont la formation peut être induite directement ou indirectement par les métaux et l'As (Christie et Costa, 1984 ; Tamaki et Frankenberger, 1992 ; Mylona et al., 1998).

Le profil des iso-péroxydases (iso-POD) dans les feuilles F3 du maïs cultivé sur le sol de référence JL (chapitre 2) et le sol Port est donné dans la figure 4.13. Celui des racines du maïs cultivé sur le sol JL et le sol Ov2 est représenté dans la figure 4.14. Dans le sol Port NT, deux bandes

apparaissent dans la feuille F3 du maïs qui ne sont pas présentes dans le profil du maïs cultivé sur le sol JL. Ces bandes apparaissent également dans la feuille F3 du maïs cultivé sur le sol Ov1 NT. Le profil des iso-POD dans les racines montre une tendance inverse, c'est-à-dire qu'une bande présente dans le maïs cultivé sur le sol JL disparaît quand le maïs est cultivé sur le sol Ov2 NT (figure 4.13). La bande disparaît également dans les racines du maïs cultivé sur les sols NT de Ov1, Rep1 et Port.

Lagriffoul (1998) a montré que le Cd n'a pas d'influence sur le profil des iso-POD du maïs cultivé en hydroponie. L'exposition au Cu en hydroponie induit une nouvelle bande seulement dans les racines du maïs (Mocquot et al., 1996). L'induction de certaines nouvelles bandes, ainsi que la disparition d'autres a été rapporté pour l'*Oryza sativa* exposé au Zn, Cu et Hg (Nag et al., 1981) et pour le haricot exposé au Zn, Cd et Cu (Van Assche et Clijsters, 1987,1990b ; Van Assche et al., 1990).

Il est difficile de comparer nos résultats avec ces résultats obtenus en hydroponie ou avec d'autres espèces végétales. On peut cependant conclure que la phytotoxicité des sols étudiés change le profil des iso-POD par rapport aux sols de référence. Le profil des iso-POD est par la suite alors considéré comme marqueur biologique du fonctionnement du maïs.

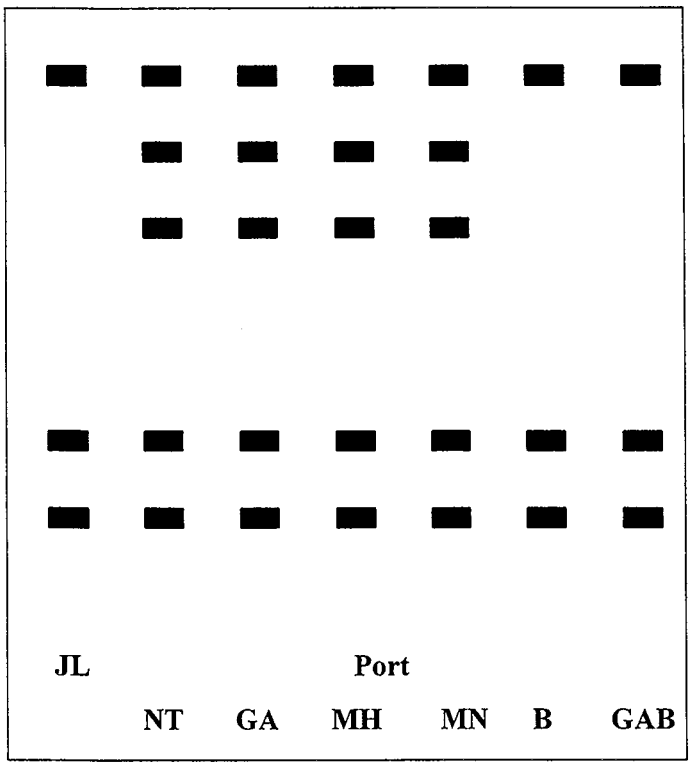


Figure 4.13 : Profil des iso-POD dans la feuille F3 du maïs cultivé sur le sol de référence JL et le sol Port.

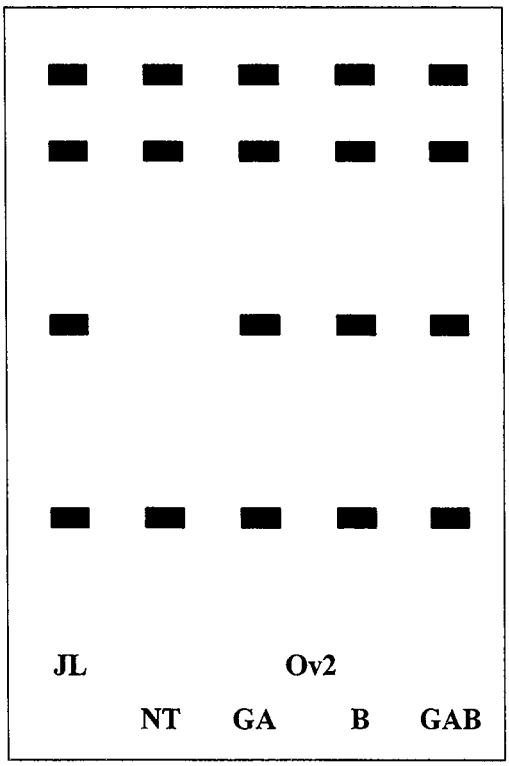


Figure 4.14 : Profil des iso-POD dans les racines du maïs cultivé sur le sol de référence JL et le sol Ov2.

Les différents marqueurs ne permettent pas de distinguer les effets dus à une toxicité liée aux métaux et à l'As de ceux dus à une carence en nutriments. Un mauvais fonctionnement de la plante dû à une carence est donc, dans ce travail, considéré comme un effet phytotoxique.

4.3.3.2 Effet des amendements sur la phytotoxicité des sols

Pour interpréter l'effet des amendements sur la phytotoxicité des sols, nous avons défini cinq classes de phytotoxicité (classes 0 à 5) pour chaque marqueur biologique. On a pris comme extrêmes les valeurs limites de l'intervalle de confiance des plantes cultivées sur les sols de référence, et les valeurs les plus éloignées de celle-ci obtenues sur des sols pollués. Entre ces deux valeurs, on a défini arbitrairement 3 classes équidistantes. Les bornes des classes de phytotoxicité sont données pour chaque paramètre dans le tableau 4.3. Plus le numéro de la classe est élevé, plus le maïs subit un effet toxique. On doit réaliser que ces classes n'ont pas toujours de signification biochimique, car les relations dose-effet ne sont pas forcément linéaires (Mocquot et al., 1996 ; Lagriffoul et al., 1998).

Pour chacun des sols avec et sans traitement, la valeur de la classe de phytotoxicité calculée pour chaque paramètre est donnée dans le tableau 4.4. L'index de phytotoxicité est défini comme la valeur totale des classes et intègre donc tous les paramètres de phytotoxicité étudiés. La présence d'une bande d'iso-POD pour les plantes est également présentée dans le tableau 4.4. Afin de conclure en un effet généralisable pour différentes espèces végétales, on présente aussi la valeur totale des tests avec le haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Les classes de phytotoxicité des sols pour le haricot ont été données dans le § 1.5.3 (tableau 1.9).

Tableau 4.3 : Valeurs seuils des classes de phytotoxicité pour le test avec le maïs

Paramètre		**Classes de phytotoxicité**				
		0	**1**	**2**	**3**	**4**
Hauteur (cm)		> 49	40 – 49	32- 40	23 – 32	< 23
Matière Fraîche PA (g plante^{-1})		> 5,0	3,6 – 5,0	2,3 – 3,6	0,9 – 2,3	< 0,9
Chlorophylle (mg m^{-2})		> 373	267 – 373	160 – 267	54 – 160	< 54
Activités enzymatiques (mU g^{-1}MF)						
Troisième feuille (F3)	**ICDH**	> 947	706 – 947	466 – 706	226 – 466	< 226
Racines (R)	**ICDH**	< 357	357 – 872	872 – 1386	1386 – 1900	> 1900
	ME	< 139	139 – 276	276 – 413	413 – 550	> 550
	GDH	< 594	594 – 763	763 – 932	932 – 1100	> 1100
	POD	< 4370	4370 – 5458	5458 – 6546	6546 – 7634	> 7634
Protéines solubles racinaires (mg g^{-1} MF)		< 1,6	1,6 – 2.2	2,2 – 2,8	2,8 – 3,3	> 3,3

Tableau 4.4 : Classes et index de phytotoxicité des sols pollués sans et avec l'apport des amendements et profil des peroxidases dans les plantes sur sols de référence et sols pollués. Les classes de phytotoxicité pour le maïs ont été données dans le tableau 4.3, celles pour le haricot dans le tableau 1.9.

	Maïs												Haricot[1]			
	Hauteur	Masse	Chlorophylle	ICDH F[4]	ICDH R[5]	ME R	GDH R	POD R	Prot R	INDEX[6]	ISO-POD[2] F	ISO-POD[2] R	INDEX	ISO-POD[2] F	ISO-POD[2] R D	ISO-POD[2] R E
Ref	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	+	0	-	-	-
Ov 1																
NT	4	4	3	3	4	2	3	1	4	28	+	-	†[3]			
GA	3	3	1	3	3	2	4	2	1	22	±	+	24	+	-	+
B	1	2	1	2	1	1	0	0	0	**8**	-	+	**15**	-	-	-
GAB	2	2	1	3	1	0	0	0	0	9	-	+	**15**	-	-	-
HA 0,5	2	2	2	3	1	1	0	0	0	11	+	+	19	+	-	-
HA 1	1	1	2	4	1	1	0	0	0	10	+	±	17	-	-	-
HA 5	3	3	2	4	2	2	1	2	1	20	+	-	21	-	+	-
Ov 2																
NT	3	3	4	4	4	3	4	4	2	31	-	-	28	±	+	+
GA	2	3	3	4	2	2	2	2	0	20	+	+	28	+	+	+
B	1	2	2	2	1	0	0	0	0	**8**	+	+	**14**	±	-	±
GAB	1	2	1	3	1	1	0	0	0	9	+	+	15	-	-	-
Rep 1																
NT	1	1	2	3	1	4	0	0	1	13	-	-	19	-	+	+
MH	1	1	1	3	1	3	0	0	0	10	-	±	17	/	/	/
MN	0	0	0	1	1	4	0	0	1	7	-	±	15	-	+	+
GA	1	1	2	1	0	2	0	0	0	7	-	+	**11**	-	-	-
B	1	1	0	0	1	4	0	0	1	8	-	+	12	-	+	+
GAB	1	0	1	1	0	2	0	0	0	**5**	-	+	**11**	-	-	-
Port																
NT	2	2	1	2	1	2	1	0	2	13	+	-	†			
MH	2	2	1	2	1	1	2	0	2	13	+	-	†			
MN	2	2	1	2	1	1	1	0	2	12	+	-	27	+	+	+
GA	1	2	0	2	0	1	0	0	1	7	+	+	21	-	-	+
B	1	1	0	3	0	0	0	0	0	**5**	-	+	30	-	+	+
GAB	1	1	0	3	0	1	0	0	1	7	-	+	**20**	-	+	+

[1] Source : Ruttens et Vangronsveld (1998)

[2] ISO-POD: - absence d'une bande dans le profil ; + présence d'une bande dans le profil

[3] † : la croissance des plantes était nulle.

[4] F : feuilles

[5] R : racines

[6] Index de phytotoxicité = valeur totale de toutes les classes

L'index de phytotoxicité montre que tous les amendements améliorent le fonctionnement du maïs (tableau 4.4). De plus, la plupart des amendements résultent en un profil d'iso-POD du maïs similaire à celui des plantes cultivées de référence (tableau 4.4).

Une chose remarquable est la similarité du profil des iso-POD du maïs cultivé sur le sol Ov2 NT avec celui des plantes développées sur les sols de référence, tandis que tous les amendements changent ce profil (tableau 4.4). La valeur totale des classes de phytotoxicité indique pourtant une amélioration du fonctionnement du maïs avec l'introduction des amendements. Mench (communication personnelle) a observé une induction de la capacité de POD dans F3 par Zn jusqu'à une valeur maximale, suivie par une diminution lorsque les concentrations de Zn sont encore plus élevées. On fait l'hypothèse que ce phénomène se produit aussi pour les iso-POD : substrat non phytotoxique (sol Ref), absence d'iso-POD ; substrat modérément toxique (sol Ov2 B ou GAB), présence d'iso-POD ; substrat fortement toxique (sol Ov2 NT), absence d'iso-POD. Ce résultat montre l'importance d'évaluer plusieurs marqueurs biologiques à la fois.

A partir de l'index de phytotoxicité et le profil des iso-POD, on peut conclure en l'ordre des trois amendements les plus efficaces :

- Ov1 :	B	>	GAB	>	HA1%
- Ov2 :	B	>	GAB	>>	GA
- Rep1 :	GAB	>	GA	>	B / MN
- Port :	B	>	GAB	>	GA

La diminution de la phytotoxicité du sol après un apport de B et de GAB est le résultat d'une diminution de la concentration en éléments traces dans le maïs (fig. 4.1 à 4.6) et d'une augmentation de celle en éléments nutritifs comme le Ca et K (fig. 4.7 et 4.10).

Chez les végétaux supérieurs, la toxicité des xénobiotiques baisserait lorsque la concentration externe en Ca augmente. Ca jouerait un rôle dans le fonctionnement des H^+-ATPases qui provoqueraient un afflux de protons et modifieraient ainsi le mécanisme de co-transport impliqué dans la pénétration des xénobiotiques. Le taux de Ca extracellulaire contrôlerait la sensibilité des plantes à l'action toxique des métaux traces en limitant leur pénétration dans la cellule (Lagriffoul, 1995 ; Mengel et Kirkby, 1982). De plus, dans le sol Ov1 et Port, l'ajout de B et GAB diminue la concentration en Mn au niveau de la valeur des références (fig. 4.11). Un éventuel effet négatif de Mn sur le fonctionnement de la plante serait ainsi annulé.

Dans le sol Rep1, c'est GA qui occupe la deuxième place. GA n'a aucun effet sur la concentration en éléments nutritifs dans le maïs cultivé sur ce sol (fig. 4.7 à 4.11). De plus, parmi les éléments traces étudiés, seules les concentrations en Pb et en As dans les parties aériennes sont plus

élevées que les valeurs de référence (fig. 4.5 et 4.6). Etant donné que GA n'a pas d'influence sur l'accumulation du Pb mais diminue celle de l'As, on peut conclure que la diminution de la phytotoxicité par l'ajout de GA est le résultat de l'immobilisation de l'As. Le même raisonnement est valable pour MN. Par contre, la concentration en As dans les racines du maïs cultivé sur le sol Repl NT est en dessous la valeur seuil déterminée en hydroponie (Ruttens, communication personnelle). Le comportement du maïs cultivé en hydroponie ne serait donc pas identique à celui du maïs cultivé sur ce sol pollué en As.

Les tests avec le haricot ont donné globalement des résultats similaires. L'apport de B ou GAB diminue, dans tous les sols, la phytotoxicité (tableau 4.4). Dans les sols pollués en As (Repl et Port), l'apport de GA est plus efficace que l'apport de B pour diminuer la phytotoxicité. L'effet de ces amendements sur la phytotoxicité n'est donc pas spécifique à la plante.

De plus, il a été montré que l'apport de GA, B et GAB a un effet positif multi-trophique. L'effet de leur apport sur l'écotoxicité d'un sol pollué par Zn et Cd, provenant de la Belgique, a été évalué par des tests biologiques représentant des niveaux trophiques différents. L'écologie bactérienne (quantité totale de bactéries, quantité de bactéries résistantes,...), la phytotoxicité sur le haricot et la tomate et la zootoxicité sur les vers de terre (perte de biomasse) ont été étudiées. La disponibilité et la toxicité aiguë des métaux ont été mesurées par le test microbiologique décrit dans le § 1.4.3.2. Les résultats des différents tests ont été classés par toxicité. Les trois amendements ont diminué la toxicité du sol. Les meilleurs résultats sont obtenus avec l'apport de GAB, suivi par B et enfin GA. Par exemple, le sol NT a entraîné une mortalité des vers de terre (*Lumbricus terrestris*) de 100 %. L'apport de béringite et de grenaille d'acier + béringite a résulté en une perte de masse par rapport aux valeurs de référence de seulement 25% et 34% (immédiatement après leur apport) et de 18,5% et 13% (trois mois plus tard). Une bonne corrélation entre les différents tests biologiques a été obtenue (Noé et al., 1998, Berti et al., 1998). L'apport de ces amendements a donc des effets positifs sur des organismes vivants de l'écosystème sol autre que la plante. Leur apport favoriserait l'installation d'un écosystème dans ce sol pollué.

A partir des extractions (chapitre 3) et de l'évaluation de la concentration en éléments traces dans le maïs (§ 4.3.1), on a conclu que l'apport de HA 5% se trouve parmi les amendements les plus prometteurs pour la technique de l'immobilisation. Par contre, on a également conclu que cet amendement doit être considéré avec prudence car son ajout au sol a aussi pour résultat : i) une augmentation de la mobilité de l'As et ii) une immobilisation de Ca, Fe et Mn. L'importance de ces deux effets peut être examinée avec les marqueurs biologiques du fonctionnement de la plante.

L'ajout de HA à faibles quantités (0,5 et 1 %) diminue la phytotoxicité du sol pour le maïs et le haricot (tableau 4.4) mais dans une moindre mesure que B et GAB. Par contre, avec l'ajout de 5% HA, la phytotoxicité augmente à nouveau. Les concentrations en As dans les feuilles F3 et les racines du maïs sont telles que l'effet négatif de l'apport de HA 5% sur le fonctionnement de la plante n'est probablement pas dû à l'accumulation d'As (Ruttens, communication personnelle). Par contre, on peut conclure que l'immobilisation des éléments nutritifs, notamment le Mn, est (en partie) responsable des effets négatifs observés. Les bases de cette conclusion sont données par la suite. Les valeurs minimales critiques pour le maïs (en g kg^{-1} MS) pour les feuilles de l'épi ou celles situées juste au-dessus sont : Ca 4 ; Mg 1,5 ; Mn 0,015 ; P 2,5 et K 19 (Halliday et Trenkel, 1992). La comparaison de ces concentrations avec celles dans la feuille F3 (annexe 1) pour le sol Ov1 amendé avec 5% HA, mène à la conclusion que la concentration en tous ces éléments, sauf P, est en dessous des valeurs critiques. Chez le maïs, une déficience en Mn provoque tout d'abord une légère chlorose dans les feuilles car ce métal est indispensable pour l'enzyme de photolyse de l'eau située sur le système photosynthétique (Baszinsky et al., 1980). Quand la déficience s'accentue, des taches claires peuvent apparaître dans le centre de la feuille (Loué, 1986). Ces symptômes concordent avec ceux observés sur les plantes de maïs cultivées dans le sol avec un apport de 5% de l'HA. En ce qui concerne les symptômes de déficience des autres éléments dans les plantules de maïs, peu d'information est disponible.

4.3.3.3 Conclusions

Les paramètres morphologiques, la densité de chlorophylle, les activités enzymatiques dans la troisième feuille (ICDH) et les racines (ICDH, ME, GDH et POD) du maïs, le profil des iso-POD ainsi que la concentration en protéines dans les racines sont affectés par la phytotoxicité des sols étudiés et peuvent donc servir comme marqueurs biologiques du fonctionnement du maïs.

A partir de l'évaluation de ces marqueurs biologiques, on peut conclure que tous les éléments étudiés permettent d'améliorer le fonctionnement du maïs. Dans chaque sol, les amendements béringite et grenaille d'acier + béringite sont parmi les plus efficaces. Dans les sols pollués en As, la grenaille d'acier est également efficace. L'influence de ces amendements sur le fonctionnement de la plante n'est pas spécifique à la plante. De plus, dans une étude antérieure, les effets positifs de ces amendements sur le fonctionnement d'autres organismes vivants de l'écosystème sol ont été démontrés (Noé et al., 1998 ; Berti et al., 1998). Leur effet est donc multi-trophique. L'apport de ces amendements aux sols pollués favoriserait donc l'installation d'un écosystème dans des sols pollués.

D'après les résultats obtenus pour le maïs cultivé sur le sol Rep1, MN parait être un amendement prometteur pour la réhabilitation des sols pollués en As. L'effet de MN n'est cependant pas généralisable car son apport a peu changé la phytotoxicité du sol Port. Son apport a également eu peu d'effet sur le fonctionnement du haricot.

L'importance de l'évaluation du fonctionnement de la plante est illustrée par les résultats obtenus avec l'hydroxyapatite 5 %. On a conclu que cet amendement permet de diminuer l'extractabilité et la concentration en tous les métaux étudiés dans la plante. Par contre, l'apport de l'hydroxyapatite à 5 % entraîne une carence en Mn, ce qui a un effet négatif sur le fonctionnement de la plante.

L'utilité d'un test biologique qui intègre, en plus des paramètres morphologiques, des paramètres métaboliques est démontrée par les résultats du sol Rep1. D'après la biomasse et la hauteur des plantes, on pourrait conclure que c'est l'apport de MN qui diminue le plus la phytotoxicité du sol. Par contre, d'après les paramètres métaboliques, le traitement MN diminue peu le stress des plantes, et d'autres traitements sont plus efficaces.

La plupart des marqueurs biologiques du fonctionnement de la plante dans ce paragraphe révèlent l'activité des ions libres dans la cellule qui sont capables d'interférer avec le métabolisme cellulaire. A partir de ces résultats, on peut conclure si les amendements favorisent un revégétalisation d'un site. Par contre, aucune information n'est déduite en ce qui concerne la concentration totale en éléments traces dans la plante, les allocations dans le végétal et les transferts possibles vers les compartiments consommateurs de l'écosystème. Pour cela, il est nécessaire de quantifier simultanément la présence du métal dans les différents tissus végétaux et dans les produits consommés.

4.4 CONCLUSION DU CHAPITRE

Il n'est pas possible d'évaluer la concentration en éléments traces dans la plante par des extractions sélectives car le fonctionnement de la plante joue un rôle important dans le transfert sol-plante. Afin d'évaluer l'exposition de l'écosystème par la chaîne alimentaire, il est alors indispensable de déterminer l'accumulation des éléments traces par la plante.

Si le but de la technique de l'immobilisation est une revégétalisation des sites fortement pollués, l'évaluation du transfert sol-plante ne suffit pas non-plus. Il a été démontré que les

amendements qui possèdent une forte capacité à immobiliser les éléments traces n'améliorent pas forcément le fonctionnement de la plante. Afin d'évaluer l'effet des amendements sur le fonctionnement de la plante, un test biologique, qui intègre des paramètres morphologiques et biochimiques, s'est avéré satisfaisant.

Les amendements les plus prometteurs sont la béringite et la grenaille d'acier + béringite. Ces amendements diminuent la concentration en métaux traces et en arsenic dans le maïs, augmentent la concentration en éléments nutritifs comme le Ca et K et améliorent ainsi le fonctionnement de la plante. L'ajout de ces amendements pourrait diminuer l'exposition via la chaîne alimentaire (avec l'exception du sol de Port car aucun des amendements ne diminue l'accumulation d'As) et augmenter le rendement des cultures dans des sites agricoles ou bien favoriser la revégétalisation de terres sur des sites industriels.

Dans les deux sols pollués en As, la grenaille d'acier a aussi diminué la phytotoxicité des sols. C'est donc un amendement prometteur pour la réhabilitation des sols pollués en As. Dans le sol Rep1 (pollué principalement en As), la grenaille d'acier a aussi diminué la concentration en As dans la plante. Son apport au sol de ce site diminue l'exposition via la chaîne alimentaire.

Ces conclusions sont renforcées par des résultats obtenus avec une autre espèce végétale (haricot) sur les mêmes échantillons du sol et ceux obtenus pour d'autres sols. L'effet de ces amendements est donc sans doute généralisable. De plus, il a été montré que l'apport de GA, B et GAB diminue aussi la toxicité pour des niveaux trophiques différents de la plante (vers de terre et micro-organismes) (Noé et al., 1998 ; Berti et al., 1998). Ces amendements favoriseraient donc l'installation de tout un écosystème sur des sites pollués.

Il reste à vérifier que l'effet des amendements est identique pour des conditions en plein champ

Concernant la grenaille d'acier, son efficacité augmente avec le temps (Vangronsveld et al., 1999) et une période de réaction de trois semaines est insuffisante pour pouvoir apprécier l'efficacité de cet amendement.

L'hydroxyapatite 5 % permet de diminuer la concentration en éléments traces dans le maïs et le haricot. Cet amendement augmente cependant l'accumulation de l'arsenic. De plus, un apport trop élevé (5% dans notre cas) a des effets négatifs sur le fonctionnement de la plante, dû (en partie) à l'induction des carences en éléments nutritifs, notamment Mn.

Dans le paragraphe 1.4.3.1, on a évoqué les divergences entre la disponibilité en plein champ et celle en vases de végétation. Dans ce chapitre, on a conclu que le temps de réaction des amendements dans le sol est également un paramètre important. Les études en cases lysimétriques et en plein champ sont des moyens pour augmenter le temps de réaction, la durée de l'exposition et l'échelle de l'étude. Des expériences effectuées en cases lysimétriques font l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE 5

CHAPITRE 5

DURABILITE DE L'IMMOBILISATION DE L'ARSENIC : LIXIVIATION ET TRANSFERT SOL-PLANTE

5.1 INTRODUCTION

On a montré qu'il est possible de diminuer la mobilité d'éléments traces dans le sol par des amendements minéraux (chapitre 3). Cette diminution peut ensuite résulter en une moindre concentration en éléments traces dans la plante et en une diminution de la phytotoxicité des sols pollués (chapitre 4). Ces résultats constituent une première évaluation de la potentialité des amendements à restaurer la sûreté alimentaire de produits végétaux ou bien à favoriser la revégétalisation de sites fortement pollués. Dans le chapitre 4, la nécessité de conduire des études à une échelle plus grande et sur un laps de temps plus long a été évoquée.

Une étude de longue durée permet de mieux suivre une éventuelle évolution de l'effet des amendements dans le temps. Le résultat du bio-essai avec la grenaille d'acier montre l'importance de cet argument. L'apport de cet amendement a augmenté le transfert sol-plante de Ni pour le maïs mais pas pour le haricot (chapitre 4). La cause serait la différence des temps d'incubation de la grenaille d'acier dans le sol (maïs : 5 semaines, haricot : 5 mois). En se basant seulement sur les résultats obtenus avec le maïs, on sous-estimerait alors la potentialité de la grenaille d'acier à immobiliser des éléments traces. A l'opposé, dans des études de courte durée, une surestimation de l'immobilisation est également possible. Cette possibilité est illustrée par le fait que l'efficacité de la chaux pour diminuer la quantité de Zn échangeable dans un sol pollué chute d'environ 50% sur une période de 6 mois (Chlopecka et Adriano, 1996).

Un mésocosme à plus grande échelle et à longue durée présente plusieurs autres avantages dont celui de pouvoir échantillonner de manière pertinente dans le temps sans épuiser le milieu. Les effets de bord sont plus limités et un tel système donne accès aux effets multi-trophiques. La taille plus importante évite l'épuisement des éléments nutritifs nécessaires pour différents organismes et le besoin de fertilisation est alors moindre que dans des vases de végétation.

Un des objectifs de ce chapitre est d'évaluer l'efficacité des amendements à diminuer la concentration dans la plante sur une période plus longue et dans un système plus grand et plus ouvert que celles étudiées précédemment. Nous avons pour cela réalisé des études dans des lysimètres avec un sol témoin (sol de Pierroton) et un sol pollué en As (sol de Reppel 1), amendé ou non. Le choix

d'un sol pollué en As a été basé sur le fait que peu d'études ont montré la durabilité de son immobilisation par des amendements. Dans le cas des métaux, de telles études existent déjà (Vangronsveld et al, 1991, 1995b ; Boisson et al., 1998). D'après les chapitres 3 et 4, le sol Rep1 a été amendé avec de la grenaille d'acier, de la béringite et la combinaison de ces deux amendements. L'effet du temps d'évolution des amendements sur la concentration en As dans la plante a été suivi par deux cultures de maïs avec un intervalle d'une année.

Le chapitre 4 montre que l'arsenic s'accumule surtout dans les racines du maïs, conformément à ce qui a été déjà écrit dans des synthèses scientifiques (Sandberg et Allen, 1975 ; Walsh et Keeney, 1975 ; Peterson et al., 1981 ; Ganje et Rains, 1982 ; Bhumbla et Keefer, 1994 ; O'Neill, 1995). Pour les végétaux dont on consomme les fruits ou les parties aériennes, la sûreté alimentaire serait alors plus ou moins assurée. Par contre, les végétaux dont on consomme les racines pourraient poser des risques plus élevés. S'agissant d'un sol à usage agricole, nous avons donc cultivé des radis afin de mieux cerner cette éventualité.

Une cause fréquente de l'empoisonnement chronique par l'As inorganique est la contamination de l'eau potable (Yamauchi et Fowler, 1994). Elle peut avoir lieu par la lixiviation de l'arsenic présent dans les horizons de surface du sol vers la nappe phréatique. Par ailleurs, la lixiviation vers les horizons profonds peut disperser à la longue la pollution sur un plus grand volume de sol. Nous avons donc évalué l'effet des amendements sur la lixiviation de l'As.

Le dernier objectif de ce chapitre est d'évaluer l'effet des amendements sur la spéciation de l'As en solution. En effet, c'est la spéciation de l'As qui détermine en partie sa mobilité (§ 1.3.4.3) et sa toxicité (Yamauchi et Fowler, 1994). Il est difficile de prévoir l'effet des amendements sur la spéciation de l'As dans la solution du sol car le sol est un système complexe contenant plusieurs oxydants et réducteurs. Par exemple, le fer métallique (Fe^0) contenu dans la grenaille d'acier s'oxyde et il est possible que l'arséniate soit réduit en arsénite en acceptant les électrons libérés par Fe^0. D'un autre coté, l'apport de la grenaille d'acier dans le sol entraîne la formation d'oxydes de manganèse (Manceau et al., 1996 ; Hargé, 1997) qui sont capables d'oxyder l'arsénite en arséniate (Oscarson et al., 1981, 1983 ; Thanabalasingham et Pickering, 1986a ; Driehaus et al., 1995 ; Scott et Morgan, 1995). Afin de déterminer la résultante des mécanismes, nous avons déterminé la spéciation de l'As dans la solution du sol, prélevée à l'aide de bougies poreuses.

5.2 MATERIELS ET METHODES

5.2.1 Sols et amendements

Le sol témoin (référence, R) provient du site de Pierroton (chapitre 2). En avril 1997, 2500 kg de sol ont été prélevés en surface (premiers 20 cm) du site. Le sol pollué en As a pour origine le site agricole de Reppel en Belgique (sol Repl, chapitre 2). En avril 1997, 3000 kg de sol ont été prélevés en surface (premiers 20 cm) du site. Le sol a été transporté à l'INRA de Bordeaux en mai 1997. Les caractéristiques physico-chimiques des sols R et Repl sont données dans les tableaux 2.1 et 2.2. Nous avons déterminé la concentration en éléments traces et en arsenic dans le nouvel échantillon du sol Repl. Un échantillon représentatif a été prélevé, séché à l'air et tamisé à 2 mm sur un tamis à nylon. Les concentrations totales (extraction HF, en mg kg^{-1} sol sec) sont les suivantes : As 169,8 - Cd 0,597 - Cu 26,9 - Ni 9,9 - Zn 70,1 - Pb 35,6. Seule la concentration en As est plus élevée que la valeur maximale du fond pédo-géochimique en Belgique (De Temmerman, 1984).

Les sols ont été séchés à l'air puis tamisés à 5 mm. Des sous-échantillons de 275 kg du sol Rep 1 ont été mélangés dans une bétonnière avec les amendements suivants : grenaille d'acier (GA, 1% m/m), béringite (B, 5% m/m), combinaison de grenaille d'acier (1% m/m) et de béringite (5% m/m) (GAB).

5.2.2 Dispositif de lysimètrie

Dix lysimètres en PVC ont été construits. Ils ont été remplis selon le schéma du tableau 5.1.

Les lysimètres sont formés d'un bac intérieur et d'un bac extérieur (figure 5.1). Le fond du bac intérieur a été incliné afin d'éviter la stagnation de l'eau. La surface du bac intérieur est de 0,25 m^2 (0,5 m x 0,5 m) et la hauteur maximale est de 50 cm. Le fond du bac a été couvert par une couche de quartz de 2 cm et ensuite d'un filtre de Nytrel®. Un tube en PVC connecté avec le fond du bac permet la récupération du lixiviat. Un tuyau en tygon avec une enveloppe interne de téflon a été connecté au

Tableau 5.1 : Schéma du dispositif des lysimètres

Lysimètre	Sol	Amendement
1	Pierroton	Aucun (référence, R)
2	"	"
3	Reppel	Aucun (non traité, NT)
4	"	"
5	"	Grenaille d'acier 1% m/m (GA)
6	"	"
7	"	Béringite 5% m/m (B)
8	"	"
9	"	Grenaille d'acier 1% + béringite 5% (GAB)
10	"	"

tube en PVC. Le lixiviat a été récupéré dans un flacon de polyéthylène enrobé d'une fine couche de téflon. Les revêtements en téflon dans les tuyaux et les flacons garantissent un faible taux de relargage et le risque d'une contamination du lixiviat est donc réduit au maximum. Le bac extérieur a une surface de 0,81 m^2 (0,9 m x 0,9 m). Son fond se trouve à 30 cm de profondeur. Il a également été incliné et est couvert par une couche de quartz. Un tube en PVC connecté avec le fond du bac permet l'évacuation de l'eau. Le bord du bac extérieur est 5 cm plus haut que celui du bac intérieur. Ainsi, quand les deux bacs sont remplis jusqu'au bord du bac extérieur, on évite (en partie) les écoulements préférentiels d'eau le long des parois du bac intérieur. Chaque lysimètre a été placé sur un chariot afin de pouvoir être changé de place.

Les lysimètres ont été placés dans une serre selon un ordre aléatoire. Tous les deux mois, l'emplacement des lysimètres a été changé afin d'éviter le plus possible une discrimination due à une éventuelle différence de luminosité ou de température. Ils ont été arrosés manuellement avec de l'eau permutée. Des périodes de sécheresse et d'irrigation ont été alternées afin de simuler la variation des conditions climatiques.

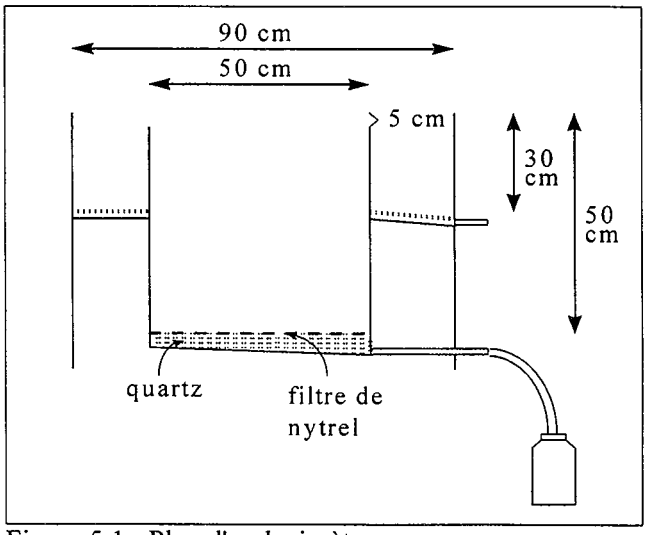


Figure 5.1 : Plan d'un lysimètre

5.2.3 Lixiviation

Pendant les périodes d'irrigation, le lixiviat a été récupéré tous les deux jours. La récupération du lixiviat a été réalisée pendant les premiers 9 mois de l'expérimentation. La quantité d'eau a été déterminée par pesée. Après agitation du flacon, un sous-échantillon de 50 ml a été pris pour la détermination du pH (mesuré sous agitation avec un pH-mètre Mettler Delta 340). Au reste de la solution, 2% HNO_3 14M (MERCK) a été ajouté. Un sous-échantillon a été conservé à 4 °C en vue d'analyse. L'acidification a deux buts : i) mieux conserver les échantillons et ii) solubiliser d'éventuels précipités (par exemple de fer) afin de créer une solution homogène dans laquelle on peut

confectionner un sous-échantillon représentatif. Afin d'évaluer l'importance d'éventuels précipités dans le lixiviat, une étude complémentaire a été menée. Avant acidification, un sous-échantillon de 50 ml a été filtré à 0.2 µm (Sartorius) et ensuite acidifié. Les concentrations dans les solutions filtrées et non-filtrées étant identiques, on a décidé de continuer selon le protocole décrit dans ce paragraphe.

5.2.4 Culture des végétaux

Début juin 1997, des éléments nutritifs ont été apportés aux sols. Tous les lysimètres ont reçu du K (K_2O 60%) et du N (N 15,5% dont 14,5% nitrique et 1% ammoniacal). Seuls les lysimètres avec le sol de Pierroton ont reçu du P (P_2O_5, 46%). Les sols de Reppel n'ont pas reçu de P, en raison de la forte concentration de P déjà présent dans ce sol (P_2O_5 (Olsen) est égal à 218 mg kg^{-1}, tableau 2.1). Les quantités de K, N et P apportées sont équivalentes à 200 kg K ha^{-1}, 100 kg N ha^{-1} et 200 kg P ha^{-1}.

Mi-juin 1997, 10 graines de maïs (*Zea mays* L., cv. Volga) ont été semées dans chacun des lysimètres. Pendant la période de croissance du maïs, les lysimètres ont été arrosés chaque jour afin d'éviter un stress hydrique. Au stade de la sixième feuille déroulée (24 à 28 jours après le semis), les racines et les parties aériennes de 8 des 10 plantes ont été récoltées. La biomasse des parties aériennes a été déterminée. Les racines et les parties aériennes ont ensuite été lavées dans un bain de 0,1 % HNO_3 (14M, Merck) et 0,005% Triton X-100 (vol/vol, pour analyses, Merck) puis rincées deux fois avec de l'eau distillée. La troisième feuille a été séparée du reste des parties aériennes en vue de son analyse élémentaire. Le matériel végétal a été coupé à l'aide de ciseaux de céramique, séché à 80 °C pendant 72 h puis broyé pendant 40 min au broyeur planétaire (Retsch PM4) dans des bols en oxyde de zirconium.

Les deux plantes restantes dans chaque lysimètre ont été récoltées à maturité (98 jours après le semis). Les grains ont été séchés à 60°C pendant 48 h puis broyés dans un broyeur en tungstène (Retsch ZMI).

En avril 1998, 50 graines de radis (cv. flambo) ont été semées dans chacun des lysimètres. Les radis ont été récoltés trois semaines après le semis. La matière fraîche des racines et des parties aériennes a été déterminée. Les parties aériennes et les racines ont été lavées, séchées et broyées comme décrit pour les feuilles et racines du maïs.

En juin 1998, un nouveau semis de maïs a été effectué. Le protocole appliqué a été similaire à celui de l'année précédente. Par contre, toutes les plantes ont été récoltées au stade de la sixième feuille.

Les échantillons de maïs et de radis ont été minéralisés selon le protocole décrit dans le § 4.2.5. La concentration en As a été déterminée par spectrométrie d'absorption atomique par

électrothermie à four graphite (§ 5.2.6.2). Dans les échantillons de maïs de 1997 et du radis, la concentration en éléments majeurs a aussi été déterminée (par ICP-AES, Varian Liberty Séries II).

5.2.5 Prélèvement de la solution du sol

En juin 1998, quatre bougies poreuses (Rhizon Soil Moisture Samplers, Eijckelenkamp Agrisearch Equipment) ont été placées dans chacun des lysimètres (entre 5 et 15 cm de profondeur). Les bougies sont constituées d'un polymère poreux. Leurs dimensions sont : diamètre extérieur 2,5 mm, diamètre intérieur 1,4 mm et longueur 10 cm. Le volume mort à l'intérieur des bougies est < 0,5 ml. La bougie est prolongée par un tuyau en PVC, fermé au bout par un bouchon. Le choix du dispositif de prélèvement de la solution du sol a été basé sur les considérations suivantes :

i) le moins d'impact possible sur le sol (faible diamètre, mise en place à l'aide d'une aiguille de tricot);

ii) inerte vis-à-vis de l'arsenic (vérifié par une étude supplémentaire : les résultats montrent que les bougies ne relarguent pas d'arsenic et ne l'adsorbent pas non plus) ;

iii) petit volume mort afin de perturber le moins possible le potentiel d'oxydo-réduction dans le sol autour de la bougie suite à la présence d'oxygène à l'intérieur de la bougie.

La solution du sol a été prélevée en septembre 1998. Les amendements ont alors pu évoluer dans le sol pendant 15 mois et le sol a eu le temps de se repositionner autour des bougies pendant 3 mois. Une aiguille de seringue a été adaptée au bout du tuyau. A l'aide d'une seringue, 3 ml (> 6 fois le volume mort) de la solution du sol ont été prélevés puis jetés. Ensuite, un tube à sérum (9 ml) sous vide a été connecté à l'aiguille. Le tube a été enrobé avec du papier aluminium pour éviter que la lumière stimule l'oxydation de l'arsénite (Demesmay, communication personnelle).

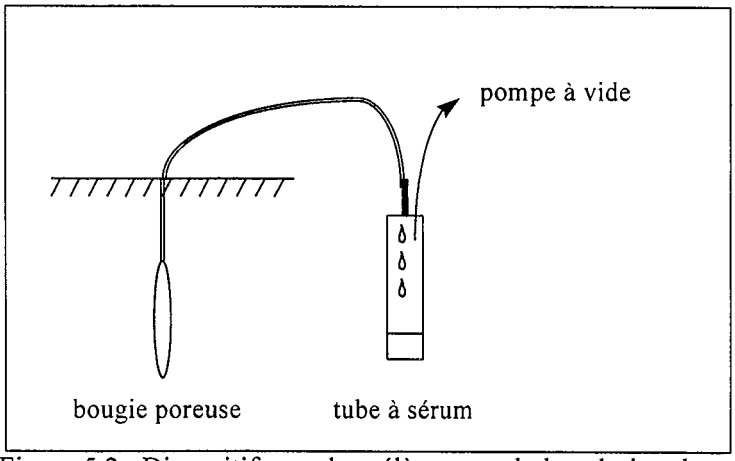


Figure 5.2 : Dispositif pour le prélèvement de la solution du sol

Il est possible que le vide provoque une aspiration forcée d'air par la bougie poreuse. Afin d'éviter une 'pollution' de la solution du sol par l'oxygène, une pompe à vide a été branchée sur le tube à sérum afin de maintenir le vide (figure 5.2). Le prélèvement a eu lieu pendant 12 h. Les tubes à

sérum ont été déconnectés et mis sous atmosphère d'azote. Ils ont ensuite été placés dans un bac à glace et transportés aussitôt à Pau où les concentrations en arséniate (As^V) et en arsénite (As^{III}) ont été mesurées (§ 5.2.7). La présence du monométhylarsinique (MMA) et du diméthylarsinique (DMA) a également été recherchée (§ 5.2.7).

5.2.6 Dosage de la concentration totale en arsenic

La concentration totale en As a été déterminée dans les lixiviats et dans la solution de minéralisation des végétaux. La mesure a été réalisée à 193,7 nm, par spectrométrie d'absorption atomique par électrothermie à four graphite (SAAET) avec correction du fond par effet Zeeman (Varian SpectraA 400). Le spectromètre est équipé d'une super lampe (Photron Super Lamp As) avec un étage électronique pour l'alimentation des électrodes supplémentaires (Photron Superlamp Power Supply). Le dosage a été effectué en déposant l'échantillon sur une plateforme de L'vov. Deux répétitions de dosage par extrait ont été réalisées et le résultat n'a été accepté que si le pourcentage de variation était inférieur à 5%. Tous les neuf échantillons, une recalibration a été effectuée à l'aide du deuxième point de la gamme étalon. Si la variation entre la première et la seconde valeur du deuxième point de la gamme était supérieure à 5%, l'analyse de la série d'échantillons a été refaite. Les modalités opératoires et les modificateurs utilisés ont été optimalisés en fonction de la matrice des échantillons.

5.2.6.1 Lixiviat

Le modificateur utilisé pour le dosage de l'As dans les lixiviats était un mélange de Pd (40 mg L^{-1}) et de Ir (10 mg L^{-1}). La concentration en As dans les lixiviats des lysimètres contenant le sol de référence (Pierroton) était telle qu'il a été nécessaire d'utiliser des ajouts dosés. Etant donné qu'il n'existe pas d'échantillon de référence pour l'As extractible par l'eau dans des sols, un contrôle de l'exactitude n'a pas été possible. Au début de l'expérience, on a prélevé une grande quantité de lixiviat de trois lysimètres (3, 5 et 9). Ces échantillons ont été inclus dans chaque série d'échantillons. La reproductibilité de la méthode de détermination (R_D) a été évaluée par la concentration en As dans ces échantillons de référence interne lors des différents dosages (jour et four graphite différents). Les valeurs de R_D sont : 7,3 % (lysimètre 3) et 8,7 % (lysimètres 5 et 9).

5.2.6.2 Echantillons de végétaux

La méthode d'analyse de l'As est basée sur les travaux du laboratoire d'analyse végétale de l'INRA de Bordeaux. Le modificateur utilisé pour le dosage de l'As dans les solutions de minéralisation du maïs est un mélange de Pd (60 mg L^{-1}), Ir (40 mg L^{-1}) et de Os (40 mg L^{-1}). Celui utilisé pour le dosage de l'As dans les solutions de minéralisation du radis est un mélange de Pd (40

mg L^{-1}) et de Ir (10 mg L^{-1}). Pour le radis, la complexité de la matrice était si importante que la méthode des ajouts dosés a dû être utilisée. Il existe des échantillons de référence pour les végétaux. Le fait que la matrice des échantillons de référence diffère de celle des échantillons de végétaux cultivés sur les lysimètres rend le contrôle de l'exactitude difficile car les modalités opérationnelles de la méthode SAAET sont dépendantes de la matrice de l'échantillon et sont optimisées pour chaque série d'échantillons avec une matrice similaire. Cependant, l'étude est de caractère comparatif et le contrôle de l'exactitude est moins indispensable. L'évaluation de la reproductibilité n'a pas été effectuée car tous les échantillons d'une même série de végétaux (maïs 1997, radis, maïs 1998) ont été mis en solution et dosés au même moment.

5.2.7 Dosage des différentes espèces chimiques de l'arsenic (As^{V}, As^{III}, MMA et DMA) dans la solution du sol

La spéciation de l'As dans la solution du sol a été déterminée au laboratoire de Chimie Bio-Organique et Environnement (Université de Pau et des Pays de l'Adour) à Pau. La détermination simultanée des espèces de l'As a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse utilisant un plasma comme source d'ionisation (High Performance Liquid Chromatography – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry, HPLC-ICP-MS). Un appareil ICP-MS 4500 (Hewlett Packard, Yokogawa Analytical Systems Inc., Tokyo, Japan) avec un nébuliseur Babington et une chambre de nébulisation de type Scott, 'doubles-pass' refroidie à 2°C a été utilisé. Les séparations chromatographiques ont été effectuées par une pompe Varian 9012 avec une colonne échangeuse d'anions Hamilton PRP-X1000 (Hamilton, Reno, Nevada, Etats-Unis) (10 cm de long, 4,1 mm de diamètre interne) dont la phase stationnaire est constituée d'un co-polymère styrène-divinylbenzène avec des groupements échangeurs triméthylammonium. Le couplage entre l'HPLC et l'ICP-MS a été réalisé en reliant la colonne chromatographique au nébuliseur de l'ICP-MS par l'intermédiaire d'un tube capillaire en téflon, de diamètre intérieur 0,5 mm et de 30 cm de long.

Les solutions standards à 1000 mg L^{-1} des espèces chimiques de l'arsenic ont été préparées à partir des réactifs disponibles dans le commerce : méta-arsénite de sodium (As^{III}, Merck), hydrogéno-arséniate de sodium (As^{V}, Prolabo), acide diméthylarsinique (DMA, Strem Chemicals), acide monométhylarsinique (MMA, Carlo Erba). Toutes les solutions standards ont été conservées à 4°C à l'abri de la lumière et les solutions diluées ont été préparées le jour même.

La phase mobile a été préparée à partir de phosphate d'ammonium monobasique 15 mmol L^{-1} ($NH_4H_2PO_4$, Carlo Erba) et de méthanol 3% (Prolabo). Le pH a été ajusté par addition d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH, Carlo Erba) jusqu'à 8,5. La phase mobile a été filtrée à 0,45 µm et dégazée avant utilisation. Le débit de la phase mobile a été égal à 1,4 ml min^{-1}. Le volume de la boucle d'injection était de 100 µl.

La reproductibilité de la méthode de détermination (R_D) a été estimée en analysant un même échantillon quatre fois à la suite. Les valeurs de R_D pour la concentration en As^{III} et en As^{V} sont égales à 14,0 et 4,4 % respectivement. La valeur élevée de R_D pour l'As^{III} est liée à des difficultés rencontrées pendant l'intégration du signal (§ 5.3.3).

La stabilité du couple As^{III}/As^{V} a été estimée afin d'évaluer si la spéciation a pu changer pendant le transport des échantillons de Bordeaux à Pau. Cinq échantillons de la solution du sol ont été dosés avec 1 jour d'intervalle. Le rapport As^{III}/As^{V} n'a pas changé dans deux échantillons, le rapport a doublé dans les trois autres échantillons mais la concentration en As^{III} est restée 100 à 500 fois plus faible que celle en As^{V} (§ 5.3.3).

La concentration en As total dans les échantillons a également été déterminée par SAAET (§ 5.2.5.1). Une relation 1:1 entre les résultats obtenus selon les deux méthodes a été obtenue ($As_{SAAET} = 1,02\ (\pm 0,06) \times As_{HPLC\text{-}ICP\text{-}MS} + 28,01\ (\pm 43,60)$; $R^2 = 0,997$; $n = 8$; $p < 0,01$).

5.3 RESULTATS ET DISCUSSION

5.3.1 Lixiviation

5.3.1.1 pH des lixiviats

Au début de l'expérience, le pH des lixiviats fluctue avec le temps mais après deux mois, le pH atteint un niveau relativement stable. Un exemple de la fluctuation du pH est donné dans la figure 5.3. Le pH augmente au début pour atteindre sa valeur maximale (8,3) après 40 jours, diminue ensuite et se stabilise à partir du 27/9/97.

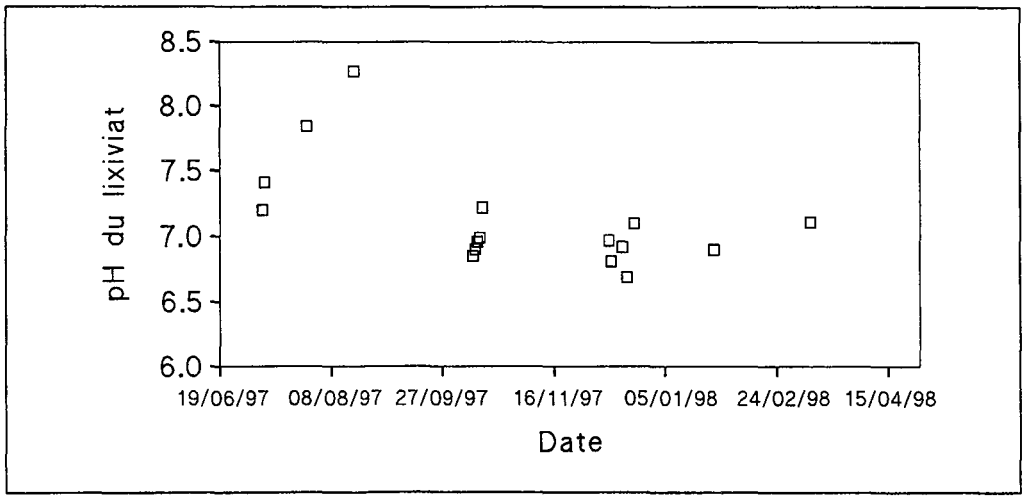


Figure 5.3 : pH du lixiviat en fonction du temps (lysimètre 5, sol Rep1+grenaille d'acier).

Afin d'évaluer l'influence des amendements sur le pH, on a calculé la valeur moyenne du pH pour la période où le pH est stable (tableau 5.2). Les résultats sont identiques à ceux obtenus dans le chapitre 3, où on avait déterminé le pH du sol à l'aide d'une extraction à l'eau (pH 6,6 (NT), 7,2 (GA), 7,4 (B), 7,6 (GAB)). A une échelle plus élevée, on confirme que l'ajout des amendements augmente le pH du sol. L'augmentation de pH est durable pendant au minimum 9 mois.

Tableau 5.2 : pH (moyenne + 95 % intervalle de confiance) des lixiviats et capacité de rétention en eau (CRE, moyenne + 95% intervalle de confiance) des sols.

Lysimètre	Amendement	pH	CRE (%)
3 et 4	NT	6,7 (± 0,1)	31 (± 5)
5 et 6	GA	7,0 (± 0,2)	29 (± 2)
7 et 8	B	7,5 (± 0,0)	32 (± 2)
9 et 10	GAB	7,6 (± 0,1)	31 (± 1)

5.3.1.2 Quantité de lixiviat

La quantité totale de lixiviat récupérée pendant 9 mois est donnée en pourcentage de la quantité totale d'eau d'arrosage pendant cette période (figure 5.4). L'ajout de GA, B et GAB augmente la quantité d'eau percolée de 1,9 , 2,3 et 2,6 fois. L'addition de B à un sol pollué en Zn et Cd a également doublé la quantité de lixiviat (Vangronsveld et al., 1995a). L'addition de GAB au sol Ov 1 (tableau 2.1) diminue la quantité de lixiviat d'environ 40% par rapport au sol NT pendant les premiers trois mois de l'expérimentation. Par contre, après 7 mois, la quantité de lixiviat était deux fois plus élevée dans le sol GAB que dans le sol NT (Ruttens et Vangronsveld, 1998). L'ajout de GA, B et GAB au sol de Portugal (tableau 2.1) ayant reçu 5% m/m de compost n'a pas d'influence sur la quantité de lixiviat (Vangronsveld et al., 1999). L'influence des amendements sur la quantité de lixiviat est donc dépendante du sol.

L'augmentation de la lixiviation dans le sol Rep1 peut être due à une diminution de la capacité de rétention en eau (CRE) intrinsèque des matériaux (sol homogénéisé) et/ou à une différence de la structure du sol. La CRE (selon le protocole décrit dans § 3.2.1.) des échantillons homogénéisés de sol prélevé en septembre 1998 a été déterminée. Les amendements n'ont pas d'effet sur la CRE intrinsèque des matériaux (tableau 5.2), probablement car la quantité de GA et B ajoutée est trop faible pour avoir un effet significatif. De plus, l'argile présente principalement dans B est une illite (De Boodt, 1991) qui est une argile non-gonflante. Par contre, l'absence d'un effet significatif peut être due au fait que la méthode de détermination de CRE utilisée n'est pas très précise. L'augmentation de la lixiviation serait donc le résultat d'une différence de structure avec une porosité

plus importante par rapport au sol NT. Cette hypothèse est renforcée par le fait que le sol NT s'est tassé et qu'il apparaît une croûte de battance, ce qui n'est pas le cas pour les sols traités. La formation éventuelle des phases mal cristallisées dans les sols traités augmenterait la porosité du sol. Il serait intéressant d'étudier plus précisément l'effet des amendements sur la rétention en eau. Ceci pourrait se faire à l'aide des courbes humidité/pF (Baize, 1993).

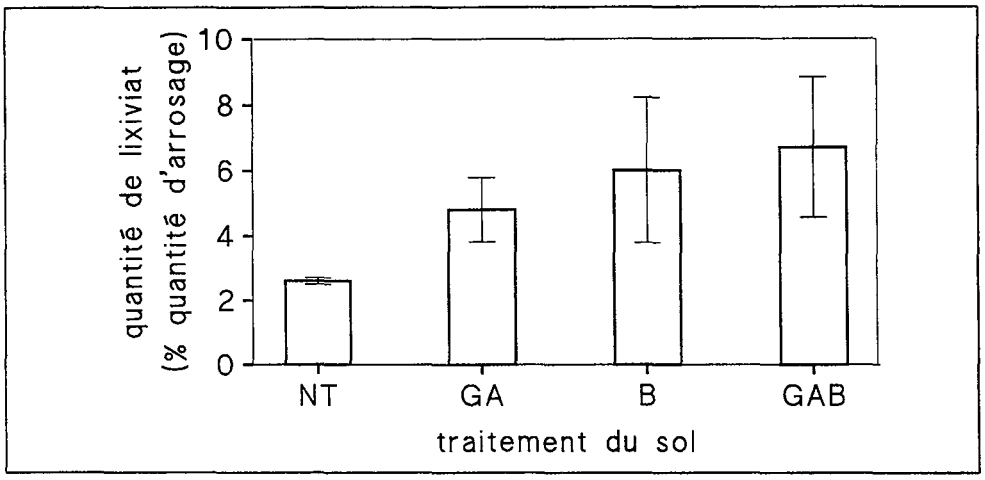


Figure 5.4 : Quantité de lixiviat (moyenne + 95 % intervalle de confiance) pendant les 9 premiers mois.

5.3.1.3 Concentration en As dans le lixiviat

L'addition de GA, B et GAB diminue la concentration en As dans le lixiviat (figure 5.5) en moyenne d'un facteur 8,6 , 1,6 et 12,0. L'effet immédiat est durable pendant les 9 mois considérés.

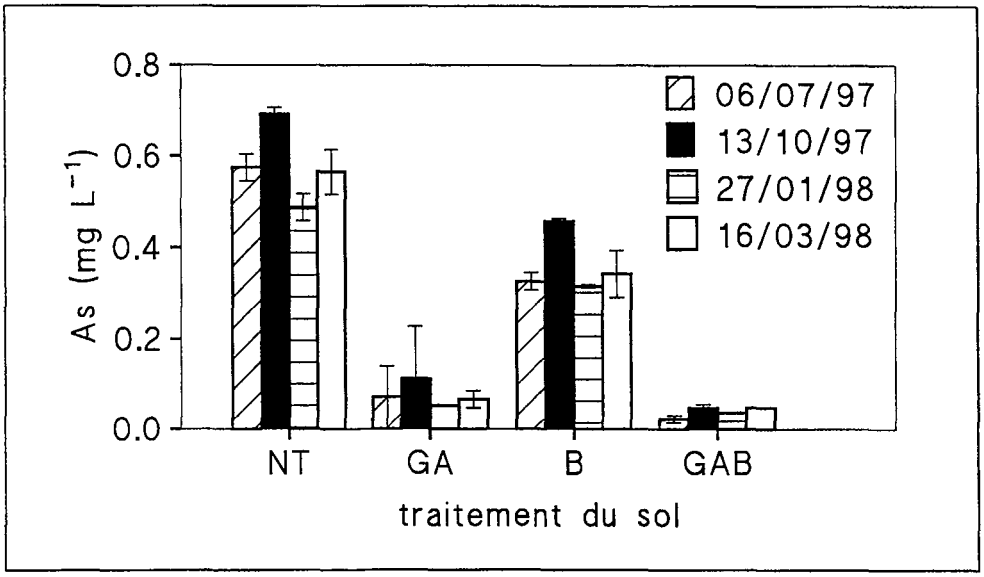


Figure 5.5 : Concentration en As (moyenne + 95 % intervalle de confiance) du lixiviat à 4 dates différentes pour des sols non-traités et traités.

Dans une étude parallèle, les mêmes amendements ont été ajoutés au sol Port (tableau 2.1) ayant reçu 5% m/m de compost. L'ajout de GA, B et GAB diminue la concentration en As dans le lixiviat d'un facteur 8,1 , 9,2 et 27,0 (Vangronsveld et al., 1999). L'immobilisation de l'As par ces amendements est donc efficace dans deux sols ayant une source de pollution et des caractéristiques physico-chimiques différentes.

L'Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization, 1981) a proposé un seuil de 50 µg As L^{-1} dans l'eau potable. Les concentrations en As dépasseraient donc dans le pire des cas (pas de dilution par de l'eau moins ou pas contaminée provenant d'un autre site) le seuil d'OMS d'un facteur 11,6 , 1,5 et 7,2 pour les sols NT, GA et B. Seul l'apport de GAB résulte en une concentration en As (47 µg L^{-1}) en dessous de la valeur seuil.

5.3.1.4 Lixiviation totale d'As

Afin d'évaluer le transfert de l'As vers des horizons plus profonds et éventuellement vers la nappe phréatique, la quantité totale de l'As lixiviée pendant 9 mois a été calculée. On a multiplié la quantité de lixiviat récupérée par sa concentration en As (figure 5.6).

Même si la quantité de lixiviat augmente avec l'apport de GA et GAB (figure 5.4), la diminution de la concentration en As est telle que l'ajout de ces amendements diminue la quantité lixiviée en 9 mois de 3,4 et 4,8 fois. Dans le cas de B, la diminution de la concentration en As du lixiviat (figure 5.5) ne compense pas l'augmentation de la quantité de celui-ci. L'apport de B résulte après 9 mois en une quantité de l'As lixiviée 1,5 fois plus élevée que celle du sol NT et donc en une dispersion de la pollution.

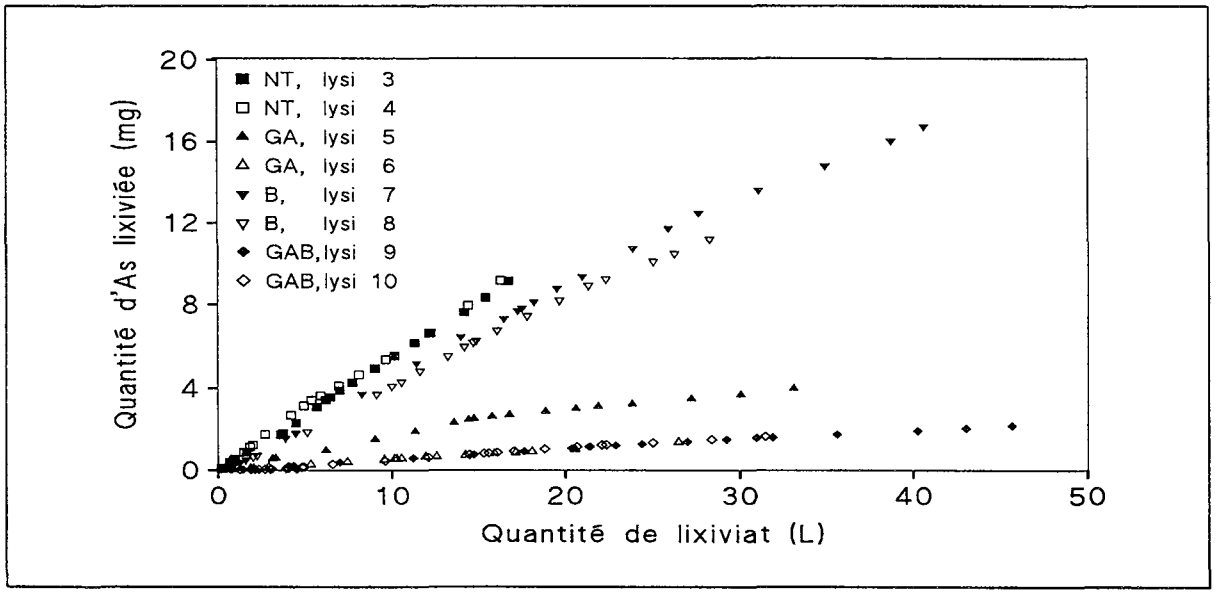


Figure 5.6 : Quantité d'As lixiviée (mg) pendant 9 mois en fonction de la quantité de lixiviat (L) récupérée pendant cette période.

Il est nécessaire de réaliser qu'en plein champ, les amendements sont mélangés avec l'horizon de surface (0-20/25 cm). L'augmentation de la quantité d'eau lixiviée de ces premiers centimètres pourrait jouer un rôle mineur dans la lixiviation totale. Dans ce cas, la concentration en As dans le lixiviat serait le seul facteur déterminant les risques liés au transfert vers les horizons profonds. Afin d'évaluer l'influence de l'augmentation de la porosité du sol sur la quantité totale d'As lixiviée, on pourrait traiter seulement les premiers 20 cm du sol des lysimètres ou encore installer des lysimètres dans les dispositifs en plein champ.

5.3.1.5 Conclusions

Seul l'apport de grenaille d'acier + béringite diminue la concentration dans le lixiviat en dessous du seuil de l'As dans l'eau potable. L'apport de grenaille d'acier et de béringite diminue aussi l'exposition de l'écosystème via l'eau de la nappe, mais dans une moindre mesure. L'effet des amendements sur la concentration en As en solution est similaire dans un sol avec des caractéristiques physico-chimiques différents (sol Port, Vangronsveld et al., 1999).

L'apport de grenaille d'acier et de grenaille d'acier + béringite diminue également l'extension du site pollué. A l'opposé, l'addition de la béringite résulte, dans ce sol, en une extension de la pollution par l'augmentation du transfert d'As dans le profil du sol. L'évaluation seule de la concentration dans la solution du sol ne permet pas donc pas d'estimer les transferts par la lixiviation. Il est donc important de mesurer la lixiviation réelle de l'As dans un système ouvert. Des études en plein champ permettront de conclure en l'importance réelle de l'augmentation de la quantité d'As lixiviée après un apport de béringite au sol de Rep1.

5.3.2 Spéciation de l'As dans la solution du sol

Un exemple de chromatogramme de la solution du sol est représenté dans la figure 5.7. L'insert montre l'agrandissement d'une partie du chromatogramme. Entre 50 et 150 secondes, trois pics sont détectés. L'ajout dosé d'une solution standard d'un mélange de monométhyl arséniate (MMA) et de diméthyl arséniate (DMA) à l'échantillon, a permis d'identifier ces pics (figure 5.7). Les chromatogrammes de la solution du sol des autres lysimètres sont identiques, seule l'intensité des pics est variable.

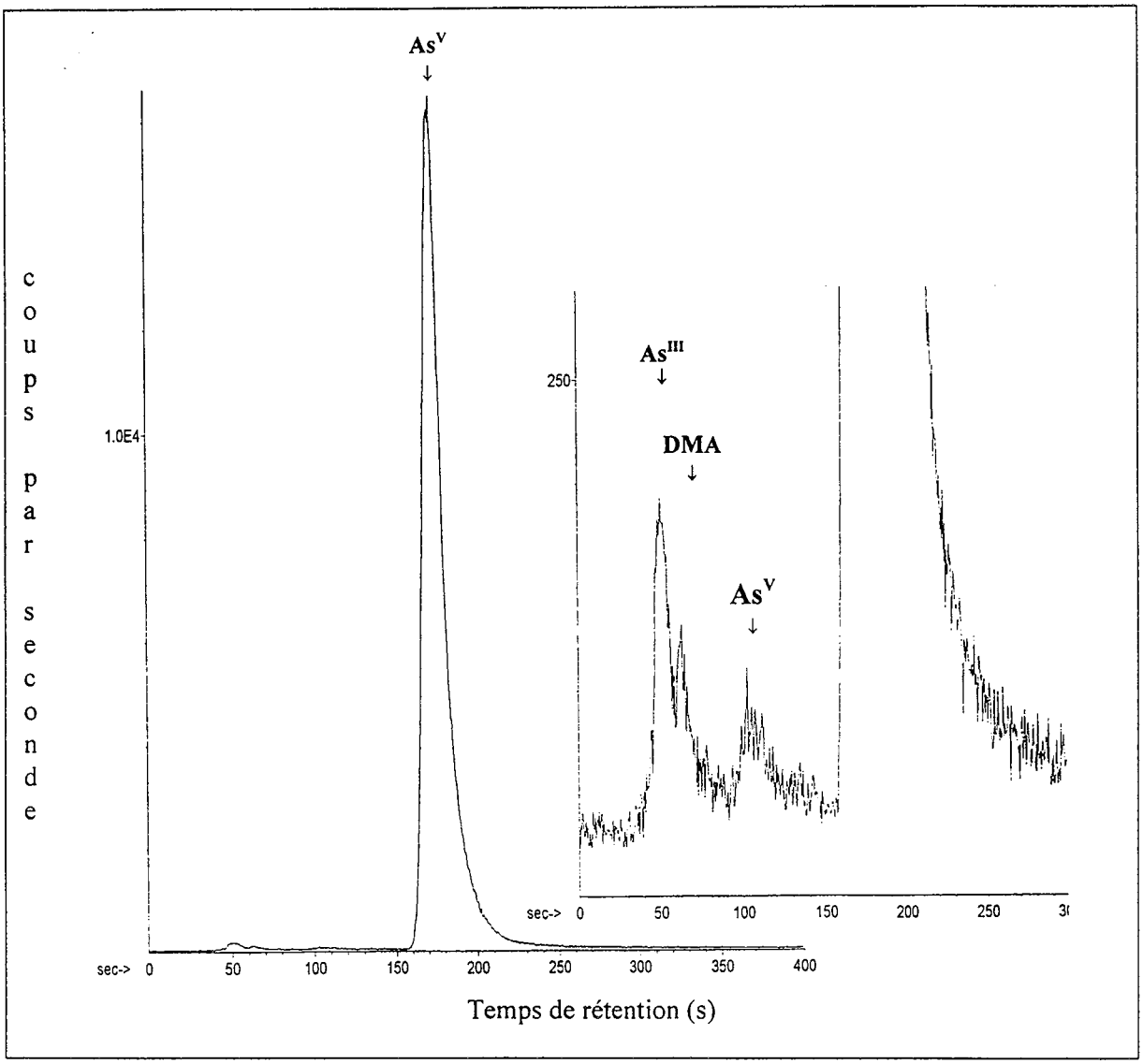


Figure 5.7 : Chromatogramme de la solution du sol du lysimètre 9 (GAB), quatre espèces d'As ont été détectées : arsénite (As^{III}), arséniate (As^{V}), monométhyl arséniate (MMA) et de diméthyl arséniate (DMA).

Tableau 5.3 : pE (T 25°C), pH et spéciation d'As dans la solution du sol des lysimètres.

Lysimètre	Traitement	pE	pH	As^{V}	As^{III}	As^{III}	$As_{inorganique}$ total
				µg L^{-1}	µg L^{-1}	% $As_{inorganique}$ total	µg L^{-1}
3	**NT**	3,3	6,5	936,5	1,7	0,18	938,2
4	**NT**	3,2	6,5	872,1	1,5	0,16	873,6
5	**GA**	3,2	6,8	56,6	0,7	1,2	57,3
6	**GA**	3,2	6,9	47,0	0,9	1,8	47,9
7	**B**	2,8	7,4	413,9	1,3	0,31	415,2
8	**B**	2,9	7,3	488,9	1,4	0,26	490,3
9	**GAB**	2,8	7,6	159,7	0,6	0,32	160,3
10	**GAB**	2,8	7,7	114,2	0,7	0,60	114,9

Les concentrations en As^{III} et en As^{V} dans la solution du sol sont données dans le tableau 5.3. Le temps de rétention de MMA est presque identique à celui de l'As^{III}. L'intégration du pic de l'As^{III} est donc rendue plus difficile. On n'a pas déterminé la concentration en MMA et en DMA car elles sont négligeables par rapport à celle en As^{V}.

La concentration en As^{III} représente seulement 0,2 à 1,8 % de la concentration totale en As (tableau 5.4). Les conditions d'oxydo-réduction dans ce sol sont alors favorables à l'existence de l'espèce oxydée de l'As. En se basant sur les valeurs de pE et pH de la solution du sol (tableau 5.3), on aboutit aussi à la conclusion que l'As^{V} est la forme stable dans ces sols (figure 1.3). Ce résultat s'accorde avec le fait que l'arsenic dans des sols aérés est principalement présent sous forme d'arséniate (Peterson et al., 1981).

Les amendements augmentent le pourcentage d'As^{III} (tableau 5.3) mais la concentration en As^{III} diminue quand-même avec leur apport. L'hypothèse que les oxydes de manganèse, formés à partir de la grenaille d'acier, auraient oxydé l'As^{III} en As^{V} et que cela serait en partie responsable de l'immobilisation de l'As (chapitre 3) reste valable. Cependant, ce processus jouerait un rôle négligeable dans l'immobilisation dans ce sol, vue la faible concentration en As^{III}.

La concentration en As^{III} dans la solution du sol est telle que sa participation dans le transfert sol-plante et dans les effets phytotoxiques (chapitre 4) serait négligeable. Cette hypothèse est juste si l'As^{V} est prélevé préférentiellement ou si le degré d'oxydo-réduction de l'As n'a pas d'influence sur son prélèvement. La forme de l'As prélevée principalement par le maïs et le radis ne nous est pas connue. Pour d'autres espèces, les résultats suivants ont été obtenus. La forme d'As n'avait pas d'effet significatif sur le prélèvement d'As par l'orge (*Hordeum vulgare* L.) et le ray-grass (*Lolium perenne* L.). (Jiang et Singh, 1994). Par contre, l'orge (*Hordeum vulgare* cv. Zephyr), a prélevé l'As^{V} 3 à 4 fois plus vite que l'As^{III} dans l'étude de Asher et Reay (1979). Les essais avec *Spartina alterniflora* ont montré que: i) la spéciation de l'As n'a pas d'effet significatif sur son prélèvement (Carbonell-Barrachina et al., 1998a) ou ii) le ratio As^{III} / As^{V} prélevé dépend de la concentration dans la solution du sol (As^{III} / As^{V} dans les racines est égale à 0,5 et 1,6 si la concentration de chaque espèce d'As est égale à 0,2 et 2,0 mg L^{-1} (Carbonell-Barrachina et al., 1998b). D'après les données de ces études, on peut considérer que l'hypothèse que l'As^{III} est négligeable vis-à-vis du prélèvement et de la phytotoxicité dans le sol Rep1 est valable.

5.3.3 Croissance des plantes et accumulation des éléments nutritifs

En 1997, la masse (MF) des parties aériennes du maïs sur le sol NT était 1,3 fois plus faible que sur le sol de référence (R) (annexe 4). L'apport des amendements n'a pas eu d'effet sur la croissance du maïs. En 1998, seul l'apport de B a augmenté la MF des parties aériennes jusqu'au

niveau du sol de référence. La MF du radis (racines et parties aériennes) était similaire sur le sol de référence et le sol NT et l'ajout des amendements n'a pas eu d'effet sur la croissance.

Dans le bio-essai (chapitre 4), on a conclu que l'apport de B ou de GAB augmente la concentration en Ca et en K dans la plante. En ce qui concerne Ca, les résultats sont confirmés pour le maïs cultivé dans les lysimètres. L'ajout de B et GAB augmente la concentration en Ca de 1,3 fois dans la troisième feuille et de 1,5 fois dans les racines du maïs (annexe 5). L'ajout de B ou de GAB n'a pas d'influence sur la concentration en d'autres éléments majeurs. L'ajout de GA augmente la concentration en Fe dans les racines et celle en P dans la troisième feuille du maïs (annexe 5). En ce qui concerne le radis, l'apport de GA augmente l'accumulation du K par les parties aériennes et l'apport de GA et GAB celle de Mn (annexe 5).

5.3.4 Concentration en As dans la plante

5.3.4.1 Concentration dans le maïs lors de la première année

En 1997, la concentration en As dans la troisième feuille du maïs cultivé sur le sol NT est 10,4 fois plus élevée que la valeur de référence (R). L'apport de GA, B et GAB diminue la concentration moyenne en As dans la troisième feuille de 68, 48 et 77% par rapport au NT (fig. 5.8). L'apport de B en plus de GA n'a pas un effet supplémentaire significatif. Dans la même année, l'apport de GA, B et GAB diminue la concentration moyenne en As dans les racines du maïs de 60, 33 et 76 % (fig. 5.9). Ces résultats confirment ceux obtenus dans le bio-essai (chapitre 4). On peut en conclure que dans un système plus ouvert, l'exposition des racines à As diminue aussi avec l'ajout de ces amendements.

Dans le bio-essai, B était plus efficace que GA. La GA évoluerait avec le temps (chapitre 3 et 4). Ceci peut expliquer que l'apport de GA est plus efficace que celui de B dans l'étude en lysimètre (récolte des plantes 90 jours après l'enfouissement des amendements dans le sol).

L'apport de GA (1% m/m) à des jardins potagers à Reppel (sol fortement similaire à Rep1) a diminué d'au moins 72 % la concentration en As dans le radis, la laitue, la carotte et la pomme de terre (Vangronsveld, 1998a). La GA diminue alors la concentration en As aussi *in-situ*. De plus, pour ce sol donné, l'effet de GA est indépendant de l'espèce végétale considérée.

Dans une étude en lysimètre avec le sol Port, ayant reçu 5% de compost, seul l'apport de GAB a diminué (de 45 %) la concentration en As dans le ray-grass. Aucun des amendements n'a diminué la concentration en As dans le haricot. Ce dernier résultat serait dû au fait que le haricot dans le sol NT s'est si peu développé qu'il vie sur les réserves présentes dans le cotylédon (Vangronsveld et al., 1999).

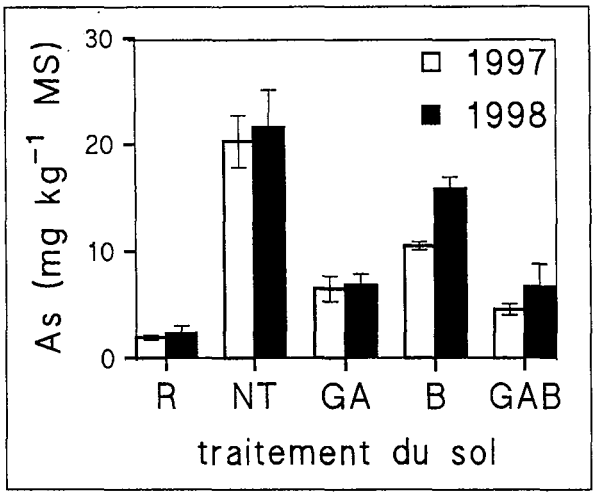


Figure 5.8 : Concentration en As (moyenne + 95% intervalle de confiance) dans la troisième feuille du mais cultivé en 1997 et en 1998 sur le sol de référence (R) et le sol Repl, pollué en As.

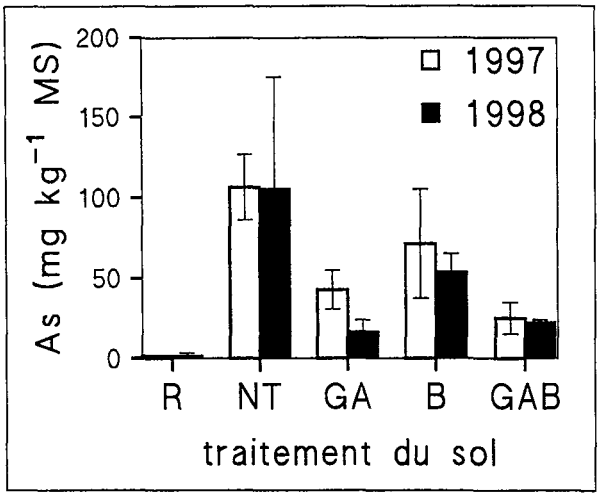


Figure 5.9 : Concentration en As (moyenne +95% intervalle de confiance) dans les racines du maïs cultivé en 1997 et en 1998 sur le sol de référence (R) et le sol Repl, pollué en As

La concentration en As dans les graines de maïs est en dessous de la limite de travail. Ceci indique un transfert peu élevé des parties aériennes vers les graines. Pour le haricot et la tomate, l'accumulation de l'As dans des parties consommables est aussi limitée. Ces plantes meurent avant que des seuils de toxicité dans les parties consommables ne soient atteints (Carbonell-Barrachina et al., 1995, 1996). Dans le cas du maïs, du haricot et de la tomate, la chaîne alimentaire des humains est alors protégée naturellement. Par contre, l'ensilage du maïs pourrait avoir un risque pour la santé des animaux. En France, le seuil réglementaire dans les aliments pour animaux est égal à 4 mg kg^{-1} (12 % humidité) aliments complémentaires (Arrêté du 16/03/89, modifié par l'Arrêté du 26/07/94, issu de la Directive Européenne 74/63/CEE). Le calcul des concentrations dans la troisième feuille contenant 12 % d'humidité a pour résultat (en mg kg^{-1}) : 18 (NT), 6 (GA), 9 (B) et 4 (GAB). Seul l'apport de GAB diminue la concentration en As dans la troisième feuille au niveau de la valeur contraignante. En ce qui concerne les trois autres sols, la concentration en As reste au-dessus de la valeur seuil et la troisième feuille du maïs est considérée non-consommable pour les animaux.

La quantité moyenne (+ intervalle de confiance à 95 %) d'As prélevée par plante de maïs au stade de six feuilles (en considérant que la concentration dans les parties aériennes est identique à celle dans la troisième feuille) est égale à : 166 ± 51 (NT), 46 ± 19 (GA), 89 ± 17 (B) et 30 ± 6 (GAB) µg. Etant donné que tout les amendements ont également diminué la concentration en solution de manière significative, cette concentration semble un bon indicateur pour le transfert sol-maïs de l'As.

5.3.4.2 Concentration dans le maïs lors de la deuxième année

En 1998, l'apport de GA, B et GAB diminue la concentration moyenne en As dans la troisième feuille du maïs de 68, 26 et 68 % par rapport au NT (fig. 5.8). Les amendements B et GAB diminuent alors moins la concentration en As par rapport à 1997. On pourrait en conclure que l'effet des amendements B et GAB diminue dans le temps. Par contre, l'apport de GA, B et GAB diminue la concentration moyenne en As dans les racines du maïs de manière plus prononcée en 1998 (84, 48 et 78 %) qu'en 1997 (60, 33 et 76%) (fig. 5.9). L'effet des amendements sur la mobilité de l'As est alors durable pendant au minimum une année.

L'effet moins important de l'apport de B et de GAB sur la concentration en As dans la troisième feuille du maïs en 1998 serait dû à une différence du transport des racines vers les parties aériennes dans les deux années. En effet, le rapport $As_{racines}/As_{troisièmes\ feuilles}$ est plus petit en 1998 (tableau 5.4). Le plus grand transport vers les parties aériennes en 1998 pourrait être due à une température (T) plus élevée. Celle-ci a été enregistrée dans la serre pendant le mois de juin (premiers 15 jours de la culture de maïs). A l'exception du deuxième et troisième jour après le semis, T était plus élevée en 1998. Le treizième jour après le semis, T était de 21 °C plus élevée en 1998 qu'en 1997. L'augmentation de T entraîne celle de l'évapotranspiration, ce qui augmenterait le transport d'As des racines vers les parties aériennes. Pour le radis, ce phénomène a déjà été montré (Merry et al., 1986a). L'exposition par la chaîne alimentaire (dans le cas du maïs cultivé sur le sol Rep1 surtout par l'ensilage, § 5.3.4.1) n'est pas seulement dépendant de l'exposition des racines du maïs, mais aussi du transport des racines vers les parties aériennes.

5.3.4.3 Concentration en As dans le radis

L'apport de GA ou de GAB au sol diminue la concentration en As (figure 5.10) de 64 et 59% dans les parties aériennes et de 78 et 75% dans les racines du radis.

Contrairement aux résultats obtenus avec le maïs, l'apport de B ne résulte pas en une diminution significative de la concentration en As dans le radis. Ce résultat montre l'importance d'inclure plusieurs espèces végétales dans l'évaluation de l'effet des amendements sur la sûreté alimentaire.

La quantité moyenne (+ intervalle de confiance à 95 %) d'As prélevée par plante de radis est égale à : 4, 0 ± 0,4 (NT), 1,2 ± 0,5 (GA), 3,4 ± 0,5 (B) et 1,5 ± 0,5 (GAB) µg. L'apport de B diminue la concentration moyenne en As extraite d'un facteur 3 (chapitre 3) et celle dans la solution du sol d'un facteur 2 (tableau 5.3). Cette diminution n'est pas reflétée par la concentration en As dans les

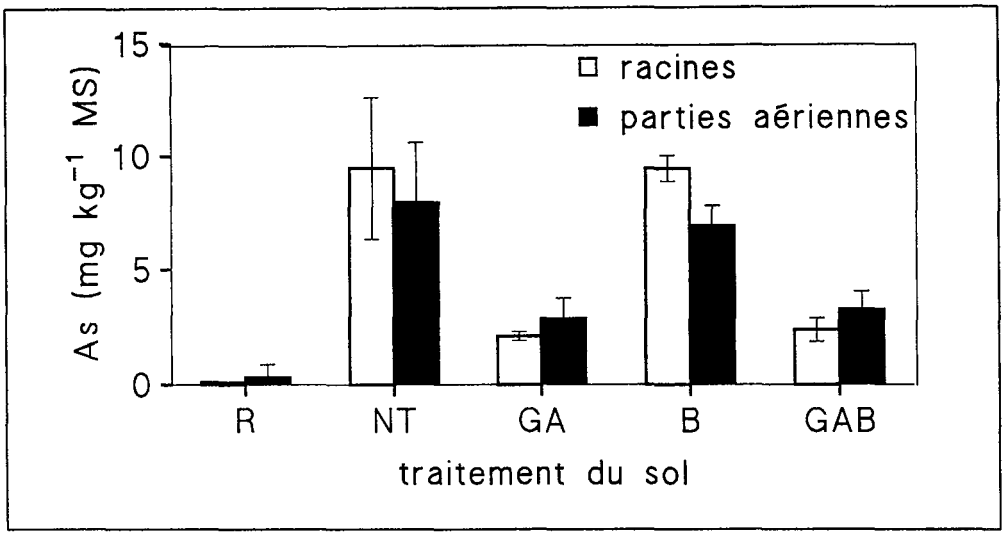


Figure 5.10 : Concentration en As (moyenne + 95 % intervalle de confiance) dans les racines et les parties aériennes du radis cultivé en 1998 sur le sol de référence (R) et le sol Rep 1, pollué en As.

racines du radis et par la quantité d'As prélevée par le radis. Afin d'expliquer ce résultat, plusieurs hypothèses sont prises en considération :

i) L'absorption racinaire aurait déjà atteint son niveau maximum à la concentration en As de la solution du sol traité par B. Cette hypothèse ne semble cependant pas valable car des concentrations en As plus élevées dans les racines du radis ont été décrites : 76 (Woolson, 1973), 940 (Sheppard, 1992) et 433 (Šimon et al., 1998) mg kg^{-1} MS, contre 9,4 mg kg^{-1} MS dans cette étude.

ii) Le système racinaire fonctionne mieux à cause d'une diminution de la phytotoxicité du sol après l'ajout de B, ce qui résulte en une augmentation du prélèvement de l'As et nivèle ainsi la différence de concentration dans la solution du sol. La biomasse du radis est cependant similaire dans tous les sols (R, NT, GA, B et GAB, annexe 4). Il semble donc peu probable que l'absorption racinaire ait augmenté de deux fois dans le sol B par rapport au sol NT.

iii) La béringite immobilise le phosphore et diminue ainsi la compétition entre le phosphore et l'arsenic pour le prélèvement par la plante. Cette hypothèse doit être rejetée étant donné que l'apport de B n'a pas d'influence sur l'accumulation du phosphore par le radis (annexe 5).

iv) Les conditions physico-chimiques dans le sol rhizosphérique du radis annulent l'effet de B sur la concentration dans la solution. Afin de conclure en ceci, on pourrait effectuer les extractions à l'eau sur le sol rhizosphérique ou encore récupérer la solution du sol rhizosphérique à l'aide de bougies.

En France il n'existe pas de norme de concentration maximale pour l'As dans l'alimentation de l'homme. Les normes dans d'autres pays pour les aliments d'origine végétale sont de 1 mg kg^{-1}

(Royaume-Uni, Australie) et de 2 mg kg^{-1} (Nouvelle-Zélande, 1 mg kg^{-1} quand il s'agit de nourriture pour enfant) (Tremel, communication personnelle). La matière fraîche et la matière sèche des radis ont été déterminées (annexe 4), ce qui nous permet de calculer la concentration d'As dans le produit brut (en mg kg^{-1} MF) : 0,4 (NT), 0,1 (GA), 0,4 (B) et 0,1 (GAB). La concentration est alors en dessous des normes des différents pays. La culture de radis sur ce sol ne présente pas de danger pour la sûreté alimentaire.

5.3.4.4 Transfert racines-parties aériennes de l'As

Le rapport de la concentration dans les racines et la troisième feuille du maïs ou les parties aériennes du radis est présenté dans le tableau 5.4. Il existe une grande différence entre les deux espèces végétales ; le maïs accumule l'As dans les racines alors que la concentration en As est similaire dans les racines et les parties aériennes du radis.

Tableau 5.4 : Rapport de la concentration en As dans les racines et celle dans des troisième feuilles du maïs ou des parties aériennes du radis.

Traitement du sol	Maïs		Radis
	1997	1998	1997
NT	5,3	4,9	1,2
GA	6,6	2,5	0,7
B	6,8	3,4	1,4
GAB	5,5	3,4	0,8

Il est souvent prétendu que l'As s'accumule dans les racines des végétaux (Sandberg et Allen, 1975 ; Walsh et Keeney, 1975 ; Peterson et al., 1981 ; Ganje et Rains, 1982 ; Bhumbla et Keefer, 1994 ; O'Neill, 1995). Une des hypothèses émises est que l'As est si toxique pour les membranes radiales des racines que le transport vers les parties aériennes n'a plus lieu (Walsh et Keeney, 1975). Les résultats de cette étude montrent que ceci n'est pas généralisable car l'accumulation dans les racines dépend de l'espèce végétale. Cette conclusion est renforcée par d'autres études récentes. Carbonell-Barrachina et al. (1997) ont montré que la tomate accumule l'As dans les racines (le rapport racines / parties aériennes est de 21 à 71) mais que le haricot transporte l'As vers les parties aériennes (rapport de 0,6 à 0,8).

Des facteurs autres que l'espèce végétale jouent un rôle. Une de ces facteurs est la concentration en As dans le sol. Le rapport d'As entre les racines et les parties aériennes du radis était de 1,7 et 7,9 dans des sols contenant respectivement 30 et 300 mg d'As par kg de sol (Šimon et al., 1998). Le type de pollution joue aussi un rôle. Merry et al. (1986b) montrent pour le radis un rapport $As_{racines}/As_{parties\ aériennes}$ de 1,0 dans des sols pollués par des pesticides et de 0,7 dans ceux

pollués par des minerais. Enfin, le rapport est dépendant de la température. Ceci a été illustré pour le maïs dans le § 5.3.4.2. Dans un sol de verger, le rapport dans le radis était de 1,0 et 0,5 pour des températures du sol de 12 et 22 °C (Merry et al., 1986a).

5.3.4.5 Conclusions

Dans un système plus ouvert, l'apport de la grenaille d'acier, la béringite et leur combinaison diminue aussi l'accumulation de l'As par le maïs. Cette diminution est durable pendant une période d'au moins une année. En ce qui concerne la grenaille d'acier, son temps de réaction dans le sol supérieur à celui dans le bio-essai expliquerait sa meilleure efficacité.

L'effet d'un apport de grenaille d'acier et de grenaille d'acier + béringite à un sol donné est généralisable pour différentes espèces végétales : maïs et radis (GA et GAB, cette étude) et laitue, carotte, radis et pomme de terre (GA, Vangronsveld et al., 1998a). L'apport de béringite sur l'accumulation d'As n'est pas généralisable pour différentes espèces végétales. Seul l'effet d'un apport de grenaille d'acier + béringite s'est montré similaire pour un autre sol (sol Port, Vangronsveld et al., 1999).

L'exposition via la chaîne alimentaire ne dépend pas seulement de l'exposition des racines mais aussi du transport de l'As à l'intérieur de la plante. Ce transport dépend de l'espèce végétale considérée, de la température et du niveau et de la source de pollution.

La supposition que l'As s'accumule surtout dans des racines n'est pas valable. La culture d'une espèce végétale dont on mange des racines ne résulte donc pas forcément en une plus grande exposition de l'homme par la chaîne alimentaire.

5.4 CONCLUSION DU CHAPITRE

L'apport de grenaille d'acier et de grenaille d'acier + béringite résulte en une immobilisation de l'As et diminue ainsi les risques liés directement à une concentration en As élevée dans la solution du sol (e.g. pollution de la nappe phréatique, extension du site pollué par un transfert vers des horizons profonds). La diminution de la lixiviation a été montrée durablement pendant une période de 9 mois minimum.

Le transfert sol-plante de l'As diminue après l'apport de ces deux amendements au sol Repl. Cet effet n'est pas spécifique à la plante et est durable pendant au minimum une année. Ces résultats impliquent que l'ajout de GA et GAB à ce sol pollué en As augmente la sûreté alimentaire. L'ajout de

la grenaille d'acier ou de la grenaille d'acier + béringite est donc un traitement efficace pour réhabiliter le sol de Reppel, pollué en As.

L'effet de l'apport de grenaille d'acier + béringite sur l'accumulation d'As par le ray-grass s'est montré similaire dans un autre sol (Port). De plus, son apport s'est également montré très efficace pour diminuer la mobilité des métaux traces (chapitre 3) et la phytotoxicité des sols pollués par ceux-ci (chapitre 4). C'est donc surtout l'ajout de cette combinaison d'amendements qui serait efficace dans le cas de sols avec une pollution mixte de métaux et d'As.

L'apport de B diminue la concentration en As dans le lixiviat et dans la solution du sol. Cependant, la structure du sol étudié change de telle manière que cela pourrait résulter en une extension de la pollution vers les horizons profonds. Des études complémentaires sont nécessaires afin de conclure dans quelle mesure le changement de la structuration de l'horizon traité a une influence sur la lixiviation d'As vers les horizons plus profonds. Etant donné que l'influence de B sur la structure du sol dépend du sol étudié, il faudrait évaluer les mécanismes de modifications de la structure pour prédire les sols susceptibles de poser un problème.

L'effet de l'apport de B sur le transfert sol-plante dépend de l'espèce végétale. Son apport n'augmente donc pas systématiquement la sûreté alimentaire. Il est donc important d'inclure plusieurs espèces végétales dans l'évaluation des amendements.

L'acceptation générale que l'As s'accumule dans les racines des végétaux n'est pas confirmée. Le transfert des racines vers les parties aériennes est dépendant de l'espèce végétale. Aussi, le niveau (Šimon et al., 1998) et le type (Merry et al., 1986b) de pollution ainsi que la température (cette étude, Merry et al., 1986a) jouent un rôle dans la distribution d'As dans la plante. Ce n'est donc pas seule l'exposition des racines qui détermine le niveau de la pollution en As de la chaîne alimentaire.

Dans ce chapitre et dans le chapitre 4, on a démontré que l'ajout de la grenaille d'acier, de la béringite et de leur combinaison permet d'abaisser le transfert sol-maïs de l'As. La grenaille d'acier et la grenaille d'acier + béringite diminuent également le transfert sol-radis. On ne sait pas si cette diminution du transfert est due à i) une diminution de la quantité de l'As disponible (Q, § 1.4.1) et/ou à ii) une modification de la mobilité de l'arsenic (son aptitude à être transféré vers la solution du sol) lié à la phase solide. L'évaluation de la quantité totale de l'As disponible et de son transfert de la phase solide vers la solution du sol est le sujet du chapitre 6.

CHAPITRE 6

CHAPITRE 6

ECHANGEABILITE DES IONS ARSENIATE DANS LE SOL DE REPPEL AVANT ET APRES UN APPORT D'AMENDEMENTS

6.1 INTRODUCTION

L'apport de grenaille d'acier, de béringite et de leur combinaison au sol de Reppel a diminué la quantité d'arsenic extraite à l'eau (chapitre 3). Le prélèvement de l'arsenic par le maïs a aussi diminué avec l'apport de ces amendements (chapitre 4 et 5) et celui par le radis avec l'apport de grenaille d'acier et de la combinaison grenaille d'acier + béringite (chapitre 5).

Le premier objectif de ce chapitre est de décrire le devenir des ions arséniate dans le sol après un apport. On a quantifié les changements du stock d'arsenic mobile (disponible) et de la mobilité (disponibilité) de l'arsenic avant et après l'apport des amendements. Pour cela, on a déterminé dans une suspension de sol en état stationnaire la quantité d'arsenic transite en solution en fonction du temps. Compte tenu de la similitude de comportement des ions phosphate et arséniate (§ 1.4.2.3), les travaux de caractérisation de la disponibilité d'ions phosphate par la cinétique d'échange isotopique (Fardeau, 1993) ont été transposés à l'étude des ions arséniate. Dans un premier temps, la cinétique d'échange des ions arséniate a été établie. Dans un second temps, on a évalué l'influence des amendements (grenaille d'acier, béringite et leur combinaison) sur le transfert sol-solution des ions arséniate en fonction du temps.

Le deuxième objectif de ce chapitre est de décrire le transfert sol-solution en fonction du temps et de la concentration en arsenic dans la solution du sol. Cette description de transfert a été réalisée pour le sol non-traité et celui traité avec la combinaison grenaille d'acier + béringite. Une telle description permet d'évaluer le devenir des ions arséniate après un changement de la concentration en solution. Elle donne également la possibilité de déterminer le pouvoir tampon du sol, un paramètre qui joue un rôle important dans le transfert sol-solution des éléments (Barber, 1995).

Dans ce chapitre, le terme 'ions échangeables' n'est pas lié au processus d'adsorption par échange (formation de complexes de sphère externe, § 1.3.4.3). Les ions échangés sont ceux déterminés opérationnellement par la dilution isotopique.

6.2 MATERIEL ET METHODES

6.2.1 Echantillons de sol

Les échantillons de sol proviennent des lysimètres 3 à 10 (chapitre 5). Des aliquotes ont été prises à deux profondeurs (entre 20-25 cm et entre 40-45 cm) afin de conclure en l'effet des amendements en fonction de la profondeur dans le sol. *Ad random*, plusieurs aliquotes de 5 g ont été prises avec une tarière. Les aliquotes ont été regroupées jusqu'à l'obtention d'un total de 150 g. Les sols ont été séchés puis tamisés à 2 mm. L'échantillonnage a été effectué à deux dates différentes (le 11 novembre 1997 et le 12 février 1998 ; 5 et 8 mois après le début de l'expérience en lysimètre) afin de conclure en une éventuelle évolution dans le temps de l'effet des amendements.

6.2.2 Détermination de la quantité d'arsenic isotopiquement échangeable

6.2.2.1 Principe

Une quantité R d'un isotope radioactif (sans entraîneur) de l'élément considéré est introduite dans un système sol-solution (rapport 1:10) en état stationnaire, puis la radioactivité (r_t) dans la solution est suivie au cours du temps. Dans un tel système stationnaire, les transferts de matière, quel que soit l'élément considéré, dans le sens solution - phase solide, sont égaux aux échanges inverses. Il n'existe donc pas de transfert net des ions entre la phase solide et la solution. Toute disparition de l'isotope radioactif de la solution du sol est alors le résultat d'une réaction d'échange avec les ions présents sur la phase solide. Il importe d'injecter une quantité R de radioactivité telle que l'état stationnaire du système sol-solution ne soit pas perturbé.

La quantité de l'élément isotopiquement échangeable à l'instant t (E_t, mg kg^{-1} sol) peut être calculée en considérant que : i) les ions radioactifs et les ions froids ont le même destin dans le système et ii) quel que soit le temps t, la radioactivité spécifique des ions présents dans la solution du sol est égale à celle de l'ensemble des ions isotopiquement échangé dans le système entier (la radioactivité spécifique étant le rapport de la quantité de traceur à celle de l'élément tracé) ;

$$r_t / Q_{SS} = R / E_t \qquad [6.1]$$

Par conséquent :

$$E_t = Q_{SS} / (r_t / R) \qquad [6.2]$$

Q_{SS} est la quantité d'ions arséniate en solution (en mg kg^{-1}) et est égale à $10 \times C_{AS}$ (C_{AS} est la concentration en As dans la solution du sol en mg L^{-1}). Le facteur 10 provient du rapport sol:solution (1:10).

6.2.2.2 Mises au point préliminaires

La spéciation des ions froids d'arsenic dans la solution de suspension de sol a été déterminée. Les conditions opératoires pour obtenir la solution ont été similaires à celles utilisées dans les études de la cinétique d'échange isotopique (§ 6.2.2.3). La solution a ensuite été analysée par HPLC-ICP-MS (§ 5.2.7). 97 à 99 % de l'arsenic total en solution est présent sous forme de l'ion arséniate (As^{V}). Par conséquent, la concentration en arsénite (As^{III}) sera considérée comme négligeable et ne sera pas prise en compte dans les échanges isotopiques.

L'isotope ^{73}As, peut être présent sous forme chimique $^{73}As^{III}$ + $^{73}As^{V}$ dans la solution radioactive reçue (IDB Holland, 5,0 mCi (0,19 GBq) dans 0,1 M HCl). Afin de s'assurer que les ions radioactifs et les ions froids ont le même destin dans le système sol-solution, ils doivent être présents sous la même forme chimique. Comme la concentration en arsénite froid dans la solution du sol est négligeable par rapport à celle de l'ion arséniate, il est important d'oxyder tout $^{73}As^{III}$ présent dans la solution radioactive en $^{73}As^{V}$. L'oxydation de $^{73}As^{III}$ a été imposée par l'ajout de NaOH et H_2O_2 à la solution radioactive jusqu'à l'obtention d'un pH = 5 et d'un pE = 7. Dans ces conditions de pH et de pE, les ions d'arsenic radioactifs sont présents sous forme d'arséniate ($^{73}As^{V}$) (figure 1.4).

L'isotope ^{73}As est un émetteur γ (énergie d'émission 53,4 keV) avec une demi-vie de 76 jours. La concentration en impuretés chimiques de la solution radioactive est < 1 ppm et la pureté radioactive est > 99 %. L'activité spécifique est de 2,486 Ci g^{-1} As.

La durée d'agitation pour obtenir un état stationnaire a été déterminée sur des échantillons provenant du lysimètre 10 (sol traité avec la grenaille d'acier + béringite, GAB). Ce choix a été basé sur le fait qu'en présence de ces amendements évolutifs, la concentration en solution risque d'évoluer le plus. 8 échantillons de 10 g de sol ont été agités chacun avec 99 ml d'eau distillée par un barreau magnétique couvert de téflon. Aux temps t = 1, 2, 4, 8, 12, 17, 25 et 32 h, la suspension a été filtrée sur des filtres de porosité 0,2 µm en nitrate de cellulose (diamètre 47 mm, Sartorius). Puis, 2% HNO_3 14M (Merck) a été ajouté au filtrat et le tout a été conservé à 4°C en vue de l'analyse. Quatre répétitions ont été effectuées. C_{As} a été mesurée par SAAET (§ 5.2.6.1).

6.2.2.3 Protocole

La cinétique d'échange isotopique des ions arséniate dans le système sol-solution a été déterminée selon le protocole décrit par Fardeau et al. (1991). 10 g de sol ont été mélangés avec 99 ml d'eau distillée et 50 µl d'un biocide ('Micro-O-Protect', Boehringer Mannheim Corp.). Le tout a été agité pendant 16 h afin d'obtenir un état stationnaire. A l'instant t = 0, 1 ml d'une solution contenant une quantité R de radioactivité, présente sous forme d'ions $^{73}As^{V}$, a été injecté dans le système sol-

solution, agité par un barreau magnétique couvert de téflon. A des temps connus, 5 ml de la suspension ont été prélevés à l'aide d'une seringue médicale en matière plastique. La solution a immédiatement été séparée du sol par passage sur filtres de porosité 0,2 µm en nitrate de cellulose (Sartorius). La quantité de radioactivité restante en solution à l'instant t (r_t) a été mesurée par un comptage en scintillation liquide en introduisant 1 ml de la solution filtrée dans un flacon de comptage contenant 5 ml de liquide scintillant (Hionic Fluor, Packard). Les solutions ont été comptées par un compteur à scintillation liquide (Liquid Scintillation Analyzer, 2000 CA, Tri-Carb, Packard). Le choix de la méthode de comptage a été fait après une comparaison de la méthode décrite avec un comptage direct de la radioactivité γ (LKB Wallac 1277 Gammamaster, Automatic γ counter). Le comptage par scintillation liquide est environ 10 fois plus élevé que le comptage par gammamètrie. On a choisi la méthode la plus sensible.

La quantité de radioactivité restante en solution après un temps t (r_t) est exprimée en fonction de la quantité de radioactivité introduite dans la suspension de sol (R). L'expression des résultats en r_t/R permet de comparer les études entre elles et de prendre en considération la décroissance naturelle de la radioactivité.

La radioactivité introduite dans la suspension de sol (R) a été déterminée en ajoutant 1 ml de la solution $^{73}As^{V}$ à 99 ml d'une solution d'arsenic (50 µg L^{-1}). La présence de l'arsenic froid évite l'adsorption de $^{73}As^{V}$ aux parois de la fiole en verre. 1 ml de cette solution étalon a été compté dans 5 ml de liquide scintillant. La quantité d'ions $^{73}As^{V}$ introduite représente < 0,3 % de la quantité d'ions As^{V} présente dans la solution et ne perturbe donc pas l'état stationnaire.

Afin de vérifier que l'arsenic n'est pas adsorbé par le filtre, une expérience préliminaire a été réalisée. Des solutions aqueuses avec des concentrations en arsenic connues ont été filtrées. Les concentrations en arsenic (C_{As}) dans la solution filtrée et dans celle non-filtrée ont été mesurées par SAAET (§ 5.2.6.1). C_{As} étant identique dans ces deux solutions, on peut conclure que l'arsenic n'est pas retenu sur le filtre.

L'absence de phénomènes de quenching dans la solution du sol a également été vérifiée. Des suspensions de sol (rapport 1:10) ont été préparées. Après 16 h d'agitation, la suspension a été filtrée sur 0,2 µm et 99 ml de cette solution ont été mélangés avec 1 ml de la solution étalon contenant une quantité R de radioactivité. Le comptage de la radioactivité dans la solution du sol a été comparé avec celui de la solution étalon diluée dix fois dans l'eau distillée. R étant identique dans les deux solutions, on peut conclure qu'il n'y a pas d'effet de quenching.

6.2.2.4 Description mathématique de r_t/R en fonction du temps

L'évolution de la proportion de radioactivité restant en solution en fonction de temps (r_t/R) a été déterminée pour des temps 1 min < t < 52000 min avec un échantillon du lysimètre 3 (sol non

traité, NT). Le modèle mathématique permettant de décrire les valeurs expérimentales a été défini. Cette expérience a été effectuée avec 2 répétitions.

6.2.3 Influence des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate

6.2.3.1 Echangeabilité des ions As^V en fonction de *t* dans les sols NT, GA, B et GAB.

La proportion de radioactivité restant en solution en fonction du temps (r_t/R) a été évaluée pour les échantillons provenant des lysimètres 3 et 4 (non-traités, NT), 5 et 6 (traités avec la grenaille d'acier, GA), 7 et 8 (traités avec la béringite, B) et 9 et 10 (traités avec la combinaison grenaille d'acier + béringite, GAB) (tableau 5.1). Les temps d'échange retenus ont été : 1, 4, 10, 40 et 100 min. C_{AS} a été mesuré à t = 1 et 100 min par SAAET (§ 5.2.6.1). Par lysimètre, deux répétitions ont été effectuées.

6.2.3.2 Echangeabilité des ions As^V en fonction de *t* et de C_{As} les sols NT et GAB.

Les échantillons proviennent de la profondeur 20-25 cm des lysimètres 3 et 4 (NT) et 9 et 10 (GAB). Six niveaux de $Na_2HAsO_4.7H_2O$ (NT: 0, 5, 10, 40 et 60 mg d'As kg^{-1} ; GAB: 0, 10, 20, 50, 70 et 100 mg d'As kg^{-1}) ont été ajoutés à des suspensions de 10 g de sol, 10 ml d'eau distillée et 50 µl du biocide. Ceci est suivi par une période d'équilibrage de 24 h. Ensuite, 89 ml d'eau distillée ont été ajoutés (rapport sol : solution = 1:10) et le tout a été agité pendant 16 h avant de déterminer les cinétiques d'échange isotopique des ions arséniate. Les temps d'échange retenus ont été 1, 4, 10, 40 et 100 min. C_{AS} a été déterminée à t = 1 et 100 min par SAAET (§ 5.2.6.1). Par lysimètre, une seule répétition a été effectuée.

6.2.4 Analyses statistiques

Dans l'étude de l'échange des ions arséniate (As^V) en fonction du temps, les valeurs des paramètres du modèle qui décrit la proportion de radioactivité restante en solution en fonction de *t* (paramètres *m* et *n*), ont été calculées sur l'ensemble des valeurs expérimentales des deux prises d'essai d'un lysimètre (après vérification par un test de vraisemblance (Huet et al., 1992) que les deux prises d'essai donnent les mêmes résultats). Les valeurs des paramètres *m* et *n* ont été obtenues par une méthode de régression non-linéaire (P-fit, Fig. P Software Corporation 1991). Les valeurs des paramètres du modèle qui décrit la proportion de radioactivité restante en solution en fonction de *t* et de C_{AS} (paramètres *a, b, p* et *q*) ont été obtenues par une méthode de régression non-linéaire (Proc NLIN, SAS Institut 1991). La comparaison des paramètres des modèles pour le sol NT et le sol GAB a été effectuée par un test de vraisemblance (Huet et al., 1992).

6.3 RESULTATS ET DISCUSSION

6.3.1 Cinétique d'évolution de C_{As}

L'évolution de la concentration en As dans la solution du sol en fonction du temps d'agitation est donnée dans la figure 6.1. Après une augmentation de 115 à 170 µg L^{-1} entre 1 et 4 h, la concentration en As atteint, après environ 16 h d'agitation, une valeur stationnaire de 134 µg L^{-1}. L'état stationnaire implique qu'il n'existe pas de transfert net des ions arséniate entre la phase solide et la solution du sol. A partir de ce résultat, on a décidé, pour la suite du travail, d'agiter la suspension du sol pendant 16 h avant d'introduire la radioactivité.

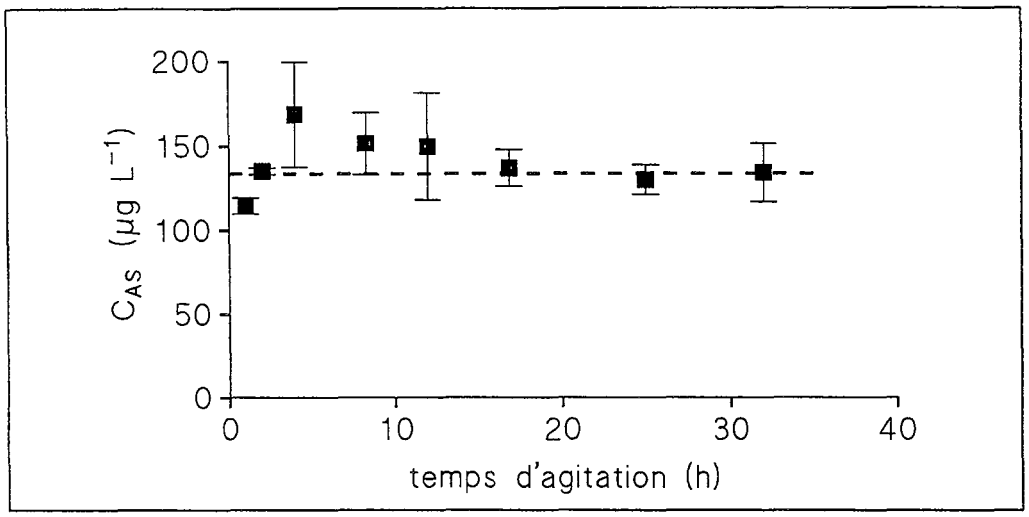


Figure 6.1 : Evolution de la concentration en arsenic dans la solution du sol du lysimètre 10 (sol traité avec la combinaison grenaille d'acier + béringite) en fonction du temps d'agitation.

6.3.2 Description mathématique de r_t/R

La proportion de radioactivité restant en solution (r_t/R) en fonction du temps t pour 1 min $\leq t \leq$ 52000 min est donnée dans la figure 6.2. Pour des temps courts, r_t/R diminue rapidement avec le temps. Au-delà, la diminution est moins rapide et r_t/R semble tendre vers une valeur équilibre, mais les réactions lentes d'échange continuent toujours. Ceci est illustré dans l'insert de la figure 6.2 (échelle log-log). Un même type de dilution a été observé pour les ions phosphate (Fardeau et al., 1977, 1991). L'arséniate se comporte donc comme le phosphate dans le sol. En ce qui concerne les ions arséniate dans le sol, ils sont, comme les ions phosphate, un ensemble hétérogène dont les ions mobiles constitutifs n'ont pas, à un instant donné, la même probabilité de rejoindre la solution (Fardeau, 1993). Ceci s'explique d'un côté par l'existence d'un continuum de forces de fixation dans le sol (§ 1.3.4.3) et d'un autre côté, par le fait que des ions fixés peuvent se trouver dans des endroits

plus ou moins en contact avec la solution du sol (par exemple, les ions à l'intérieur des (micro)agrégats ont moins de chance de rejoindre la solution du sol que ceux fixés sur des sites exposés à la solution) (Sinaj et al., 1997).

L'équation 6.3 (basée sur les équations de Fardeau, 1993) a été utilisée pour décrire r_t/R en fonction du temps t.

$$r_t/R = m \times (t + m^{1/n})^{-n} \qquad [6.3]$$

R est la quantité de radioactivité totale introduite (MBq) ; r_t est la radioactivité (MBq) restant en solution après le temps t (min), m et n sont des paramètres de régression. Les paramètres m et n décrivent les réactions d'échange des ions As^V entre la phase solide et la solution du sol pour respectivement des temps courts et des temps longs. Les valeurs des paramètres m et n sont données dans le tableau 6.1. L'évolution de r_t/R, calculée avec l'équation 6.3 est représentée dans la figure 6.2.

Tableau 6.1 : Valeurs des paramètres m et n (avec intervalle de confiance asymptotique à 95%) de l'équation 6.3. La régression a été effectuée sur des valeurs de r/R, obtenues pendant 52000 (n = 32) min et 100 min (n = 12).

	T (min)	m	n	R^2
$r_t / R = m\,(t + m^{1/n})^{-n}$	1 – 52000	0,937 (0,009)	0,104 (0,002)	0,998
	1 – 100	0,927 (0,013)	0,099 (0,005)	0,997

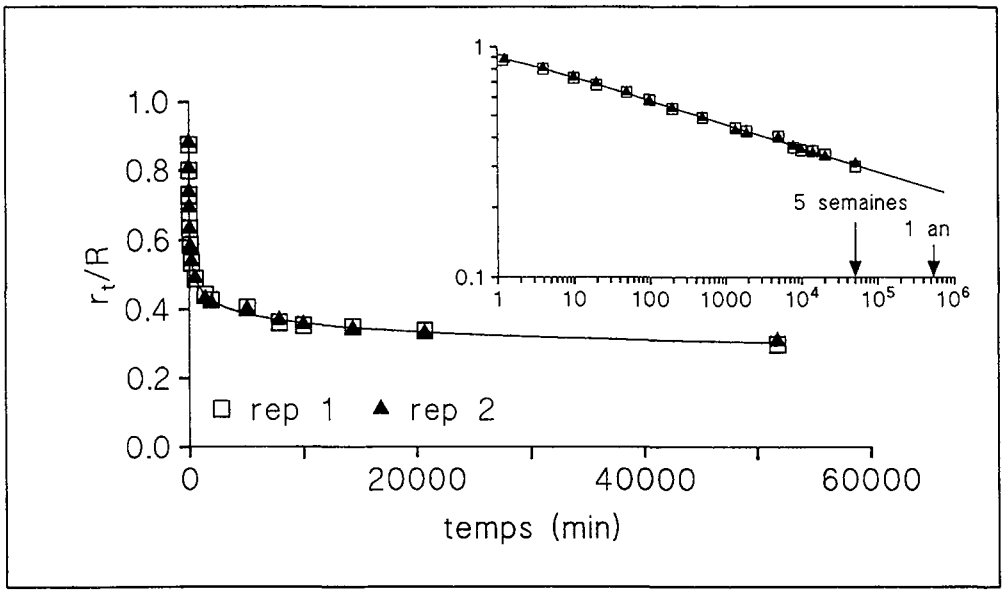


Figure 6.2 : Evolution de la proportion de radioactivité restant en solution (r_t/R) en fonction du temps (sol non traité, lysimètre 3). Points expérimentaux (symboles) de deux répétitions et description par l'équation 6.3 (ligne).

Dans l'équation proposée par Fardeau (1993) un terme correctif r_{eq}/R est inclus. La valeur de r_{eq}/R est déduite de la quantité totale d'As dans le système. Si on considère qu'à l'équilibre, le traceur s'est échangé avec l'ensemble de l'élément stable de la phase solide, alors r_{eq}/R est égal au rapport quantité d'As en solution (Q_{SS}) / quantité totale d'As dans le sol. Dans le sol étudié, cette valeur est égale à 0,035 mg kg^{-1}. Le temps pour obtenir l'équilibre, calculé avec l'équation 6.3, serait de 5×10^{13} min, soit 95 millions d'années. L'intégration du terme correctif contribuera même à accroître cette durée. Etant donné qu'on ne considère pas des laps de temps aussi élevés, on peut ignorer le terme r_{eq}/R. De plus, l'équation simplifiée [6.3] décrit parfaitement les résultats expérimentaux (tableau 6.1 et fig. 6.2).

Etant donné que les valeurs expérimentales peuvent être décrites par une fonction de puissance, il serait intéressant d'évaluer s'il y a possibilité d'extrapolation. On a donc évalué la possibilité de décrire les valeurs expérimentales obtenues pendant 5 semaines par un modèle qui a été déterminé sur des valeurs expérimentales obtenues pendant une période de 100 min. Une régression non-linéaire sur les valeurs r/R pour 1 min < t < 100 min a été effectuée. Les valeurs des paramètres m et n sont données dans le tableau 6.1. Une bonne description des valeurs expérimentales a été obtenue (R^2 = 0,997). Les valeurs expérimentales pour 100 ≤ t ≤ 52000 min ont ensuite été comparées avec celles calculées par le modèle établi sur 100 min (figure 6.3).

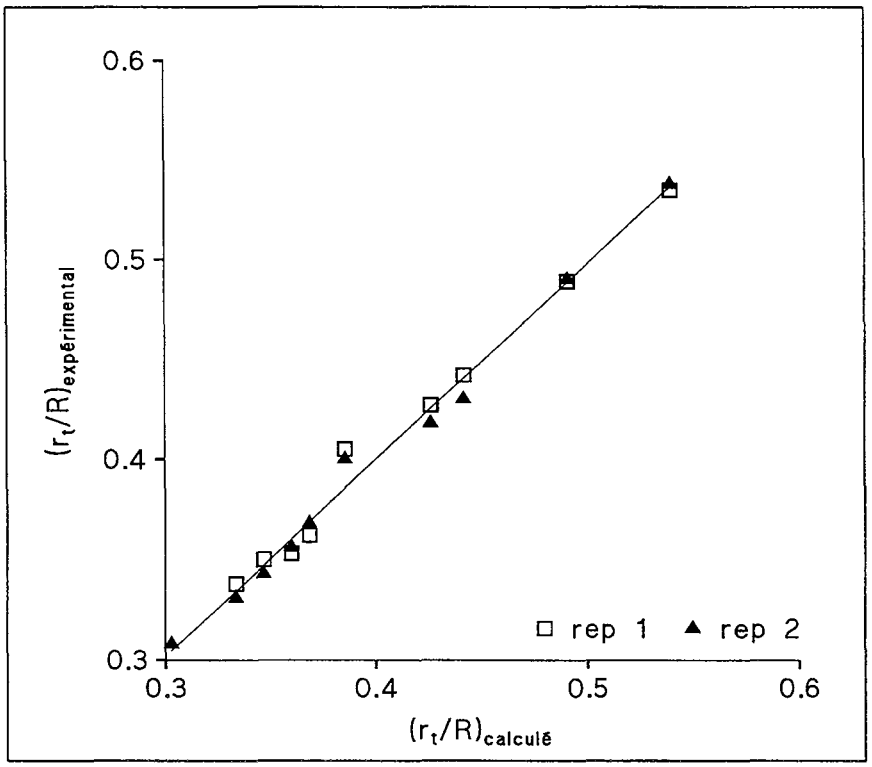


Figure 6.3 : Comparaison des valeurs expérimentales de la proportion de radioactivité restant en solution (r_t/R) en fonction du temps pour 100 min < t < 52000 min et celles calculées par l'équation 6.3 déterminée sur 100 min (tableau 6.1).

Une régression linéaire montre une corrélation 1:1 entre $r_t/R_{expérimentale}$ et $r_t/R_{calculée}$ ($r_t/R_{expérimentale}$ = 0,98 (± 0,05) × $r_t/R_{calculée}$ + 0,01(± 0,02), R^2 = 0,99, p < 0,01, n=20). Il est donc possible de déterminer la cinétique d'échange pendant 100 min et d'utiliser l'équation d'échange sur au minimum 5 semaines. En faisant des expériences sur seulement 100 min, on peut conclure en la cinétique d'échange des ions As^V sur des périodes d'échange plus longues. La possibilité d'extrapolation est confirmée par des résultats obtenus pour d'autres éléments. Pour les ions PO_4^{3-} une extrapolation de 100 min à au moins 12 semaines (Fardeau et al., 1985 ; Frossard et al., 1994), et pour les ions Zn^{2+}, de 100 min à au moins 15 jours (Sinaj et al., 1999), a été montrée possible. Pour la suite du travail, on a fait l'hypothèse que l'extrapolation est également possible pour les sols traités avec la grenaille d'acier, la béringite ou leur combinaison.

6.3.3 Effet des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate en fonction du temps

La cinétique d'échange isotopique des ions As^V a été déterminée dans des échantillons du sol non-traité (NT) et des sols traités avec la grenaille d'acier (GA), la béringite (B) et leur combinaison (GAB). Les valeurs de C_{AS} et des paramètres *m* et *n* pour les différents échantillons de sols prélevés le 12 février 1998 à 20-25 cm de profondeur sont données dans le tableau 6.2. C_{AS} après 1 minute d'échange était identique à C_{AS} après 100 min d'échange. La suspension du sol était donc en état stationnaire. La valeur des paramètres *m* et *n* a été calculée par une régression non-linéaire en utilisant l'équation [6.3].

Tableau 6.2 : Valeurs moyennes (avec intervalle de confiance asymptotique à 95%) de la concentration en As dans la solution et des paramètres *m* et *n* pour les échantillons du sol prélevé le 12 février à 20-25 cm de profondeur. Sol non-traité (NT) et sols traités avec la grenaille d'acier (GA), la béringite (B) et leur combinaison (GAB) (n=2).

Lysimètre		C_{As} (µg As L^{-1})	*m*	*n*	R^2	
3	NT	909 (11)	0,95 (0,04)	0,09 (0,01)	0,995	a*
4	NT	778 (56)	0,95 (0,05)	0,10 (0,02)	0,993	a
5	GA	290 (8)	0,95 (0,12)	0,22 (0,04)	0,993	b
6	GA	193 (12)	0,96 (0,15)	0,27 (0,06)	0,992	b
7	B	688 (5)	0,93 (0,04)	0,14 (0,02)	0,994	c
8	B	634 (28)	0,99 (0,04)	0,12 (0,01)	0,998	d
9	GAB	193 (28)	0,74 (0,09)	0,27 (0,05)	0,992	e
10	GAB	127 (6)	0,84 (0,03)	0,29 (0,02)	0,999	e

* l'évolution de r_t/R en fonction du temps, décrite par les paramètres *m* et *n* et suivie par la même lettre n'est pas significativement différente à p < 0,01.

Tous les amendements ont un effet significatif sur l'évolution de r_t/R (tableau 6.2). Les amendements modifient la cinétique des réactions d'échange isotopique des ions arséniate entre la solution et la phase solide du sol. GAB modifie la cinétique d'échange isotopique pour des temps d'échange courts (m) et longs (n) tandis que B et GA modifient uniquement celle pour des temps longs (n).Dans le cas de la cinétique d'échange isotopique des ions phosphate, la valeur du paramètre m augmente et celle de n diminue avec une augmentation de la concentration dans la solution d'un sol donné (Morel et al., 1996). Fardeau (communication personnelle) a observé la même tendance pour les ions arséniate. Le tableau 6.2 montre une tendance identique pour n. Par contre, la valeur de m dans les sols traités avec GA et B n'est pas différente de la valeur de m dans le sol NT. Ceci pourrait être dû au fait que le sol est très riche en arsenic.

Les valeurs de C_{AS}, de m et de n pour les échantillons prélevés entre 40-45 cm (résultats non-montrés) sont identiques à celles des échantillons prélevés entre 20-25 cm (tableau 6.2). L'effet des amendements sur l'échange isotopique des ions As^V n'est donc pas dépendant de la profondeur dans le sol. Les valeurs de C_{AS} , de m et de n pour les échantillons prélevés en novembre 1997 (résultats non montrés) sont identiques à celles des échantillons prélevés en février 1998 (tableau 6.2). L'effet des amendements sur l'échange isotopique des ions As^V n'a donc pas évolué durant ces 3 mois.

L'intégration de l'équation [6.3] dans l'équation [6.2] permet de calculer la quantité d'ions As^V échangée en fonction de la durée d'échange t (E_t) (équation [6.4]) :

$$E_t = Q_{SS} / (m \times (t + m^{1/n})^{-n}) \qquad [6.4]$$

La moyenne de la quantité des ions As^V échangée (E_t) en fonction du temps pour $1 \leq t \leq 100$ min est donnée dans la figure 6.4. Cette quantité d'ions échangée représente la quantité d'ions transite dans la solution. Elle est plus faible pour des sols traités que pour le sol NT. Dans le sol traité avec B, la diminution de E_t n'est significative que pour $t = 1$ min.

E_t augmente avec le temps. Cette augmentation devient de moins en moins rapide avec le temps d'échange. Afin de mieux illustrer cet effet, on a calculé la vitesse d'échange qui est égale à la dérivée première par rapport à t de l'équation [6.4] :

$$\delta E/\delta t = Q_{SS} \times n \times (t + m^{(1/n)})\,(n - 1) \;/\; \mathrm{m} \qquad [6.5]$$

La vitesse d'échange diminue rapidement avec le temps, l'augmentation de la quantité d'ions

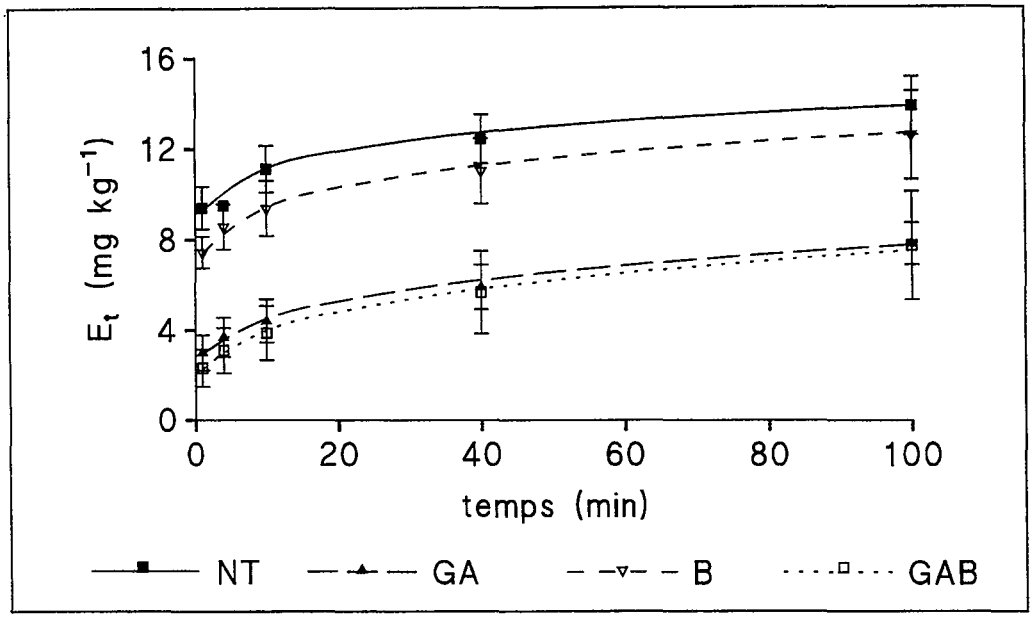


Figure 6.4 : Evolution de la quantité d'ions arséniate isotopiquement échangeable (moyenne de deux répétitions) en fonction du temps dans le sol non traité (NT) et les sols traités avec la grenaille d'acier (GA), la béringite (B) et leur combinaison (GAB). Points expérimentaux (symboles) et description par l'équation 6.4 (lignes).

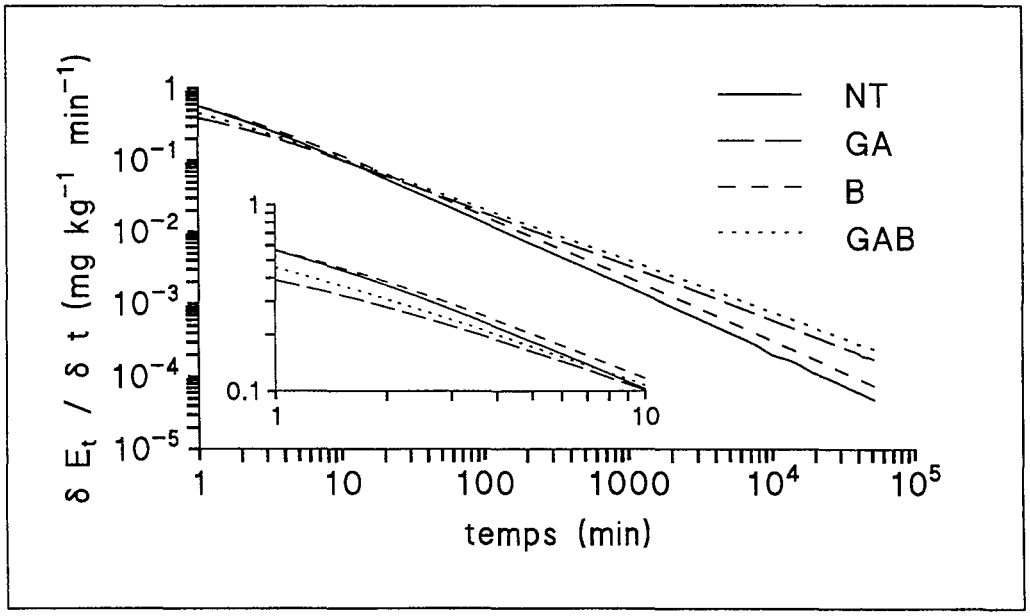


Figure 6.5 : Evolution de la vitesse d'échange des ions arséniate en fonction du temps (équation 6.5) dans le sol non traité (NT) et les sols traités avec la grenaille d'acier (GA), la béringite (B) et leur combinaison (GAB).

As^V échangée par unité de temps est environ 10.000 fois plus faible à 5 semaines qu'à 1 min (fig. 6.5). La vitesse d'échange est plus élevée dans le sol NT que dans les sols traités pour des temps d'échange inférieur à 1 min (B), 11 min (GA) et 8 min (GAB). Pour ces temps, la quantité d'ions As^V transite dans la solution par unité de temps est plus faible dans les sols traités. A partir de la vitesse d'échange et de la diminution de la concentration en solution (tableau 6.2), on peut conclure qu'une

partie des ions arséniate dans le sol a connu une perte de mobilité. Etant donné que le traitement B ne résulte pas en une diminution de la vitesse d'échange, son effet joue uniquement sur la concentration en solution. Les ions fixés ont été distribués en partie sur des sites caractérisés par un échange rapide, et ils sont donc caractérisés par une grande aptitude à être transférés dans la solution du sol. En ce qui concerne les traitements GA et GAB, ils ont un effet aussi bien sur la concentration en solution que sur une partie des ions As^V très mobiles associés à la phase solide. Ces traitements ont transformé une partie des ions As^V caractérisés par une cinétique d'échange rapide (très mobile, temps d'échange < 11 et 8 min) en des ions caractérisés par une cinétique d'échange moins rapide (temps d'échange ≥ 11 et 8 min).

A partir des temps d'échange ≥ 1 (B), 11 (GA) et 8 min (GAB), la quantité d'ions arséniate transite dans la solution par unité de temps est supérieure dans les sols traités que dans le sol NT. Ceci pourrait avoir pour résultat que les courbes E_t (fig. 6.4) se croisent pour une durée d'échange supérieure à 100 min. Les résultats expérimentaux sur 100 min ont été extrapolés. Le résultat de cette extrapolation est exprimé sous forme d'un index d'échangeabilité (*IE*) (fig. 6.6). *IE* est égal à $(E_{t,traité} - E_{t,\ NT}) / E_{t,\ NT} * 100$. Etant donné que *IE* est supérieur à 0 après 1300 (B), 5120 (GA) 2850 (GAB) min, une partie d'ions As^V du sol NT qui est caractérisée par une cinétique d'échange lente serait devenue plus rapidement échangeable. Les amendements auraient augmenté la quantité d'ions As^V caractérisés par une cinétique d'échange intermédiaire. Ce résultat reste à vérifier expérimentalement.

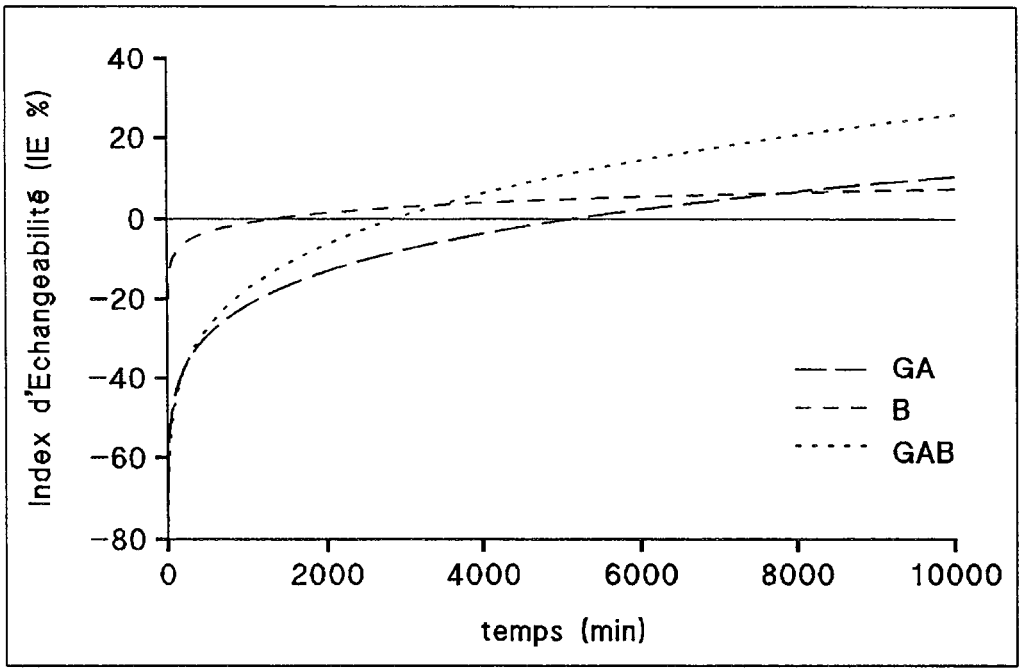


Figure 6.6 : Index d'Echangeabilité ($[E_{t,traité} - E_{t,\ NT}] / E_{t,\ NT} * 100$) pour les sols traités avec la grenaille d'acier (GA), la béringite (B) et leur combinaison (GAB).

Peut-on dire que la mobilité de l'As a diminué après l'apport d'amendements ? D'après les résultats des extractions à l'eau (chapitre 3), on a répondu positivement à cette question. Avec les cinétiques d'échange on a pu démontrer que la réponse n'est cependant pas si définitive. Oui, des quantités d'As caractérisées par une cinétique d'échange rapide ont été immobilisées. Mais, des quantités d'As caractérisées par une cinétique d'échange lente semblent être mobilisées. Il est clair que le terme mobilité doit être nuancé en intégrant le facteur temps.

En ce qui concerne l'oxyanion PO_4^{3-} (Fardeau, 1981 ; Morel et Plenchette, 1994 ; Frossard et al., 1994), ainsi que les cations K^+ (Fardeau et al., 1979) et Ni^{2+} (Echevaria et al., 1996), il a été démontré que la source principale de ces éléments pour les racines est l'ensemble des ions isotopiquement échangé. Ce résultat reste à vérifier pour les ions d'arséniate.

Dans l'introduction du chapitre, on a évoqué que la diminution du prélèvement de l'As par la plante est due à une diminution de la quantité d'arsenic disponible et/ou à une diminution de la disponibilité de l'arsenic. Ces possibilités peuvent être appréciées à partir des résultats d'échange isotopique. Les temps pour lesquels $E_{t,traité} = E_{t,NT}$ (1300, 2850 et 5120 min pour B, GAB et GA) sont inférieurs à la durée de la culture du maïs (6 semaines) et du radis (3 semaines). Aucun des amendements ne diminuerait donc le stock des ions arséniate disponible. Par contre, les amendements ont modifié la cinétique d'échange des ions As^V et donc leur disponibilité.

Dans le chapitre 5, on a conclu que le prélèvement de l'As par le maïs était corrélé avec la concentration en solution. Ce résultat implique également que l'exposition des racines du maïs à l'As peut être évaluée par une extraction du sol à l'eau. En ce qui concerne le radis, l'ajout de la béringite a diminué de manière significative la concentration en solution par rapport au sol NT tandis que le prélèvement d'As dans les sols NT et B a été identique (chapitre 5). La concentration en As dans la solution n'est donc pas un bon indicateur pour le prélèvement de l'As par le radis. Par contre, la quantité d'ions As^V échangée pour des temps d'échange $1 < t < 100$ min est statistiquement identique dans le sol NT et le sol traité avec B, mais elle est plus faible dans les sols traités avec GA et GAB. La quantité d'ions échangée semblerait donc un meilleur indicateur pour le prélèvement de l'As par le radis que la concentration en solution. A partir de ce résultat, on pourrait conclure que le radis sollicite une partie des ions As^V liée à la phase solide. Nos résultats ne permettent pas de conclure de manière pertinente en cette hypothèse. Il importe d'abord de vérifier que le radis prélève bien dans l'ensemble des ions As^V isotopiquement échangés. De plus, pas assez de résultats sont obtenus afin de pouvoir conclure statistiquement en la corrélation entre la quantité d'As prélevée et la quantité échangée. Après vérification de l'hypothèse, on pourrait conclure que le transfert sol-solution joue un rôle dans le prélèvement de l'As par le radis. Les ions As^V caractérisés par une cinétique d'échange rapide pourraient passer en solution suite à des changements des paramètres physico-chimiques de la

rhizosphère. Aussi, il se pourrait que le radis crée un gradient de concentration, ce qui résulterait en une dissolution et désorption des ions mobiles associés à la phase solide (figure 1.7). Ce dernier aspect pourrait être vérifié à l'aide des études radiographiques qui permettront d'évaluer s'il y a épuisement ou accumulation de $^{73}As^{V}$ autour des racines.

Nos résultats mènent à plusieurs réflexions autour de l'immobilisation comme technique de réhabilitation des sols pollués en As. Plusieurs équipes de recherche ont eu l'idée d'immobiliser au maximum la fraction mobile (disponible) des éléments, et d'extraire la fraction restante à l'aide de plantes hyperaccumulatrices (Vangronsveld, communication personnelle). Pour le sol et les amendements de cette étude, cette perspective n'aboutirait pas aux résultats souhaités car les ions As^{V} sont toujours présents sous une forme relativement mobile après l'apport des amendements. Par contre, si on fait l'hypothèse que les résultats obtenus sont extrapolables à d'autres sites pollués en As, l'ajout de GA et de GAB pourrait être un outil complémentaire de la technique de phyto-extraction. On peut supposer que dans un sol très pollué, l'exposition de la plante est telle que même les plantes hyperaccumulatrices ne peuvent pas survivre. Alors, l'ajout des amendements GA et GAB diminuerait l'exposition à l'As et stimulerait ainsi la croissance des plantes (chapitre 4). Le fait que les ions As^{V} 'immobilisés' restent présents sous une forme relativement mobile implique que la plante aurait accès à ces ions. Les plantes hyper-accumulatrices d'As connues en ce moment sont *Amaranthus hybridus* (jusqu'à 3800 mg kg^{-1} MS dans les feuilles), *Cynodon dactylon* (jusqu'à 11000 mg kg^{-1} MS dans les racines), *Pteris vittata* (jusqu'à 4980 mg kg^{-1} MS) et *Polygonum sacchalinese* (jusqu'à 1900 mg kg^{-1} MS dans les parties aériennes) (Wenzel, communication personnelle). Le problème actuel pour la réussite d'une telle opération de phyto-extraction est que les plantes hyper-accumulatrices d'As ont une biomasse faible, la dépollution du site prendrait donc beaucoup de temps.

6.3.4 Effet des amendements sur l'échangeabilité des ions arséniate en fonction du temps et de la concentration

La description du transfert sol-solution en fonction de la concentration permet entre autres, de déterminer le pouvoir tampon (PT) du sol. Le PT régule la concentration dans la solution du sol et sa connaissance permet alors de conclure sur la capacité du sol traité à garder la concentration en solution à son niveau initial. La description du transfert sol-solution permet également de déterminer le devenir d'une quantité d'As apportée à nouveau dans le sol. Ceci pourrait avoir lieu par les retombées atmosphériques de substrat provenant d'un site fortement pollué dans les alentours du site traité. Le fait que les retombées atmosphériques peuvent en effet apporter des quantités d'As supplémentaires a été illustré dans le tableau 1.3. Vangronsveld et al. (1994) ont montré que 49 à 92

% de la concentration totale en As dans les épinards était présent sur la surface foliaire.

Les courbes d'adsorption de l'As (Q_S/C_{AS}, § 1.4.3.4) permettent d'informer sur la réactivité de la phase solide vis-à-vis d'un apport d'arsenic (Jacobs et al., 1970b ; Goldberg et Glaubig, 1988 ; Manning et Goldberg, 1997). Elles sont dépendantes du temps pendant lequel la solution et le sol sont mis en contact (Livesey et Huang, 1981 ; Elkathib et al., 1984), ce qui rend la comparaison entre différentes études difficile. De plus, elles ne permettent pas d'évaluer le devenir des ions As^V dans le sol après un changement de la concentration car le facteur temps n'est pas inclus. On ne peut donc pas déterminer la mobilité (disponibilité) des ions restants (après diminution de C_{AS}) ou des ions sorbés (après un apport d'As au sol) car les courbes Q_S/C_{AS} ne donnent pas d'information sur la distribution des ions sur des sites avec des caractéristiques d'échange rapides et lentes. Enfin, l'As préexistant sur la phase solide n'est pas pris en compte et on ne décrit donc pas la totalité du système.

Afin de décrire le transfert sol-solution des ions As^V après un changement de la concentration dans la solution du sol, on a déterminé la quantité des ions As^V échangée en fonction du temps (t) et de la concentration dans la solution du sol (C_{AS}).

L'évolution de r_t/R en fonction de t et C_{AS} a été décrit d'une manière générale par l'équation 6.6. Cette équation a été déduite des travaux de Morel et Torrent (1997) et Morel et al. (1994, 1996).

$$(r_t / R)_{C_{As}} = a \times C_{As}^{\ b} \times t^{-p+q \ln C_{As}} \qquad [6.6]$$

C_{AS} est la concentration dans la solution du sol (mg L^{-1}), t est le temps d'échange en min et a, b, p et q sont des paramètres. Les valeurs des paramètres sont données dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3 : Valeurs des paramètres a, b, p et q (avec leur intervalle de confiance asymptotique à 95 %) de l'équation [6.6] pour le sol non traité (NT, n = 60) et le sol traité avec la grenaille d'acier + béringite (GAB, n = 59).

Sol	*a*	*b*	*p*	*q*	R^2
NT	0,921 (0,019)	0,026 (0,023)	0,073 (0,008)	0,013 (0,009)	0,93
GAB	0,850 (0,012)	0,037 (0,014)	0,158 (0,007)	0,034 (0,007)	0,98

L'équation des sols NT et GAB est significativement différente à $p < 0,001$. La cinétique d'échange des ions As^V change donc significativement avec l'apport de GAB. Les valeurs expérimentales ainsi que le modèle obtenu sont montrés dans l'annexe 6 (fig. 1 et 2).

L'intégration de l'équation 6.6 dans l'équation 6.2 donne la quantité des ions arséniate échangeable en fonction du temps et de la concentration (équation 6.7).

$$E_{t,C_{As}} = 10 \times a^{-1} \times C_{As}^{(1-b)} \times t^{p-q\ln C_{As}} \qquad [6.7]$$

Les quantités d'ions As^V isotopiquement échangées en 1 min et en 100 min sont présentées dans la figure 6.7 pour des concentrations croissantes en As dans la solution. A une concentration et un temps donné, la quantité des ions arséniate échangée est plus élevée dans le sol traité avec GAB que dans le sol NT. Par contre, la quantité d'arsenic totale dans le sol GAB est aussi plus élevée que dans le sol NT pour obtenir une même concentration en solution. L'augmentation de E_t dans le sol GAB par rapport au sol NT est d'autant plus forte que le temps d'échange est plus élevé. Ceci conduit à la même conclusion que dans le § 6.3.2 ; E_t s'accroît plus vite avec le temps dans le sol GAB que dans le sol NT.

La description de la quantité d'ions As^V isotopiquement échangée en fonction de t et C_{As} permet de calculer la mobilité des ions As^V en connaissant la valeur de C_{As}. Cette description est alors un outil puissant dans le suivi de la disponibilité des ions As^V d'un sol traité avec des amendements. Morel et al. (1996) ont démontré que l'équation $E_{t,C}$ pour des ions phosphate était indépendante du temps d'équilibre du système ayant reçu un apport de phosphate. Ceci rend la comparaison entre différentes études plus facile. En particulier, Schneider et Morel (1999) ont montré que l'équation $E_{t,C}$ permettrait de prévoir la quantité d'ions phosphate sortie du système sol-solution pendant une période donnée, en connaissant les concentrations initiales et finales des ions phosphate dans la solution.

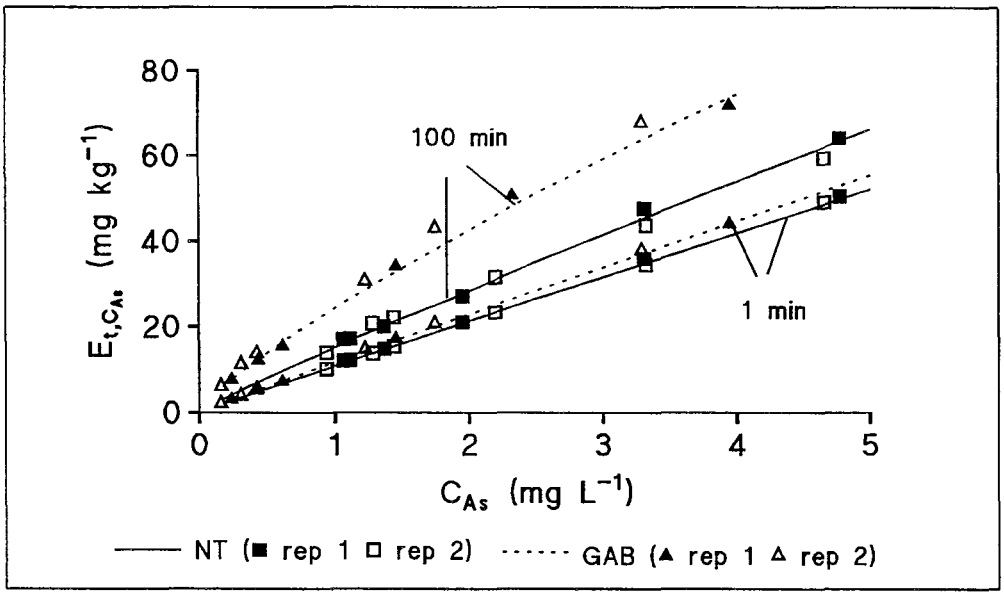


Figure 6.7 : Evolution de la quantité d'ions arséniate isotopiquement échangeable dans le sol non traité (NT) et le sol traité avec la grenaille d'acier + béringite (GAB) en fonction du temps et de la concentration dans la solution. Points expérimentaux (symboles) et description par l'équation 6.7 (lignes).

Le pouvoir tampon du sol ($PT = \delta E/\delta C$) peut être déterminé à partir des courbes de la quantité d'ions arséniate échangeable en fonction de t et de C_{AS}. Le pouvoir tampon est la dérivée première par rapport à C_{AS} de l'équation [6.7] :

$$PT = (1\text{-}b\text{-}qlnt) \times E / C \qquad [6.8]$$

L'évolution du pouvoir tampon en fonction de C_{AS} et t est représentée dans la figure 6.8. Pour une concentration et un temps donné, le pouvoir tampon du sol GAB est plus élevé que celui du sol NT. PT augmente plus vite avec le temps dans le sol GAB que dans le sol NT. Le plus fort PT dans le sol traité implique que ce sol a plus de pouvoir à garder la concentration dans la solution du sol à son niveau initial.

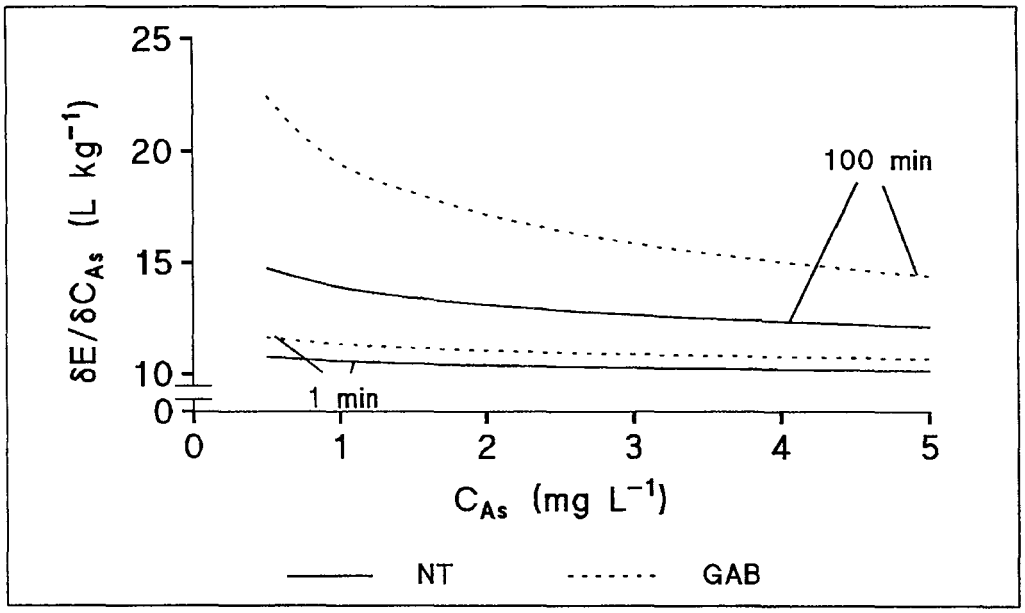


Figure 6.8 : Evolution du pouvoir tampon dans le sol non traité (NT) et le sol traité avec la grenaille d'acier + béringite (GAB) en fonction du temps et de la concentration dans la solution.

Afin d'apprécier le devenir de l'As apporté à nouveau au sol, on donne une simulation numérique. Dans ce but, on a déterminé l'augmentation de la concentration en As dans la solution du sol en fonction de l'apport d'As (annexe 6, fig. 3). Supposons que le site reçoit un apport de 10 mg As kg^{-1}. La concentration dans la solution du sol (C_{AS}) résultante de cet apport peut être calculée avec les équations données dans l'annexe 6 (fig. 3). On peut ensuite calculer la quantité d'ions As^V sorbée par la phase solide (Q_S) ainsi que la quantité d'ions As^V isotopiquement échangée et PT en fonction du temps (tableau 6.4).

La concentration augmente de 0,48 mg L^{-1} dans le sol NT et de 0,11 mg L^{-1} dans le sol

GAB. Etant donné que ce serait la concentration dans la solution du sol qui détermine le prélèvement de l'arsenic par le maïs, l'augmentation du prélèvement après un ajout d'As est plus faible dans le sol GAB que dans le sol NT.

Dans le sol NT, E_1 augmente de 5,07 mg kg^{-1}. 51% de l'As apporté est donc présent dans le pool E_1. Dans le sol GAB, seulement 13% de l'As apporté est présent dans ce pool, les autres 87% sont distribués sur des sites caractérisés par une vitesse d'échange moins rapide. Ceci est le résultat du fait que pour des temps longs (ex. 1jour, 3 mois) le PT est plus élevé dans le sol GAB que dans le sol NT (tableau 6.4). L'ajout de GAB est donc capable de maintenir une diminution du pool E_1 par rapport au sol NT. Pour les ions phosphate, E_1 représente la quantité d'ions dont la vitesse d'échange est égale à celle des ions dans la solution du sol (Fardeau, 1993). Tous ces ions ont la même probabilité de prélèvement par des plantes, ils constituent le pool des ions labiles. Ceci reste à vérifier pour les ions arséniate.

Le prélèvement de l'As par le radis semble corrélé à la quantité d'ions As^V rapidement échangée. L'apport de GAB est capable de maintenir une diminution de la quantité d'As^V échangée en par exemple 1 jour (tableau 6.4) après un nouvel apport d'As. L'apport de GAB reste donc réactif vis-à-vis de l'As et continuera à diminuer le prélèvement de l'As par le radis. De plus, l'augmentation du prélèvement après un apport d'As au sol sera moins importante dans le sol GAB que dans le sol NT. L'efficacité de GAB s'accentue donc avec l'augmentation de la quantité totale d'As dans le sol.

Il est bien évident que l'effet de la plante sur les paramètres physico-chimiques de la rhizosphère n'est pas inclus dans cette approche. Il serait donc intéressant d'évaluer l'effet de la plante sur le transfert sol-solution. Dans le cas des ions phosphate, la cinétique d'échange dans le sol rhizosphérique et le sol distal a été comparée (Morel et Hinsinger, 1998). Dans ce sol donné, le colza, le maïs et le pois ont modifié la concentration en phosphate dans la solution sans modifier les paramètres a, b, p et q décrivant l'échange d'ions phosphate entre le sol et la solution.

Tableau 6.4 : Simulations numériques basées sur les équations 6.6 et 6.7 pour le sol non-traité (NT) et le sol traité avec la grenaille d'acier + béringite (GAB).

	C_{As} (mg L^{-1})	Q_s^* (mg kg^{-1})	$E_{1\,min}$ (mg kg^{-1})	$E_{1\,jour}$ (mg kg^{-1})	E_{3mois} (mg kg^{-1})	$PT_{1\,min}$ (L kg^{-1})	$PT_{1\,jour}$ (L kg^{-1})	$PT_{3\,mois}$ (L kg^{-1})
état initial								
NT	0,97	0	10,56	18,01	25,08	10,58	16,29	21,18
GAB	0,18	0	2,23	10,79	28,72	12,08	43,39	90,69
apport 10 mg As kg^{-1}								
NT	1,45	5,19	15,63	25,65	34,89	10,47	15,52	19,71
GAB	0,29	8,89	3,55	15,25	37,67	11,86	37,83	73,42

* Q_S a été déterminée après une mise en contact de l'As apporté et du sol pendant 40 h.

6.4 CONCLUSIONS

La description de la cinétique d'échange des ions arséniate permet de quantifier le transfert des ions arséniate de la phase solide vers la solution du sol. Pour le sol non-traité, la détermination de la cinétique d'échange sur une période de 100 min est suffisante pour calculer et prévoir celle après un temps donné sur une période de 5 semaines.

Les amendements diminuent la quantité d'ions arséniate dans la solution du sol. Ils ont deux effets distincts sur la vitesse d'échange des ions arséniate liés à la phase solide. L'apport de B, GAB et GA diminue la quantité d'ions arséniate échangée par unité de temps pour des temps inférieures à 1, 8 et 11 min respectivement. Pour des temps plus longs, l'apport des amendements résulte en une augmentation de la vitesse d'échange. Ceci a pour résultat : i) la transformation d'une quantité d'ions caractérisés par une cinétique d'échange rapide dans le sol non-traité en une quantité avec une cinétique d'échange moins rapide et ii) une quantité d'ions avec une cinétique d'échange lente dans le sol non-traité serait transformée en une quantité caractérisée par une cinétique plus rapide. Les amendements auront donc augmenté la quantité d'ions arséniate caractérisés par une mobilité intermédiaire. Ces effets sont les plus prononcés pour les traitements GA et GAB. On ne peut donc pas conclure que l'apport des amendements résulte en une immobilisation des ions arséniate dans le sens strict du terme.

Le transfert des ions arséniate de la phase solide vers la solution du sol en fonction du temps et de la concentration en As dans la solution du sol peut être décrite par une seule équation par sol (sol non-traité et sol traité avec grenaille d'acier + béringite). Ceci implique qu'il suffit de mesurer la concentration en solution afin de décrire la quantité d'ions échangée en fonction du temps.

Cette équation a permis de calculer le pouvoir tampon du sol. L'apport de grenaille d'acier + béringite augmente le pouvoir tampon du sol. Le sol traité a donc plus de capacité à garder la concentration en solution à sa valeur initiale.

Le prélèvement du maïs serait corrélé avec la concentration en arsenic dans la solution du sol. L'apport de grenaille d'acier, de béringite et de leur combinaison diminue cette concentration. L'apport de ces amendements n'aurait pas diminué le stock de l'arsenic disponible dans le sol de Reppel. La diminution de la concentration en arsenic en solution résulterait d'un changement de la cinétique du transfert sol-solution des ions arséniate.

Le prélèvement de l'arsenic par le radis serait corrélé avec la quantité d'ions arséniate rapidement échangée. Dans le cas du radis, le transfert sol-solution des ions jouerait donc un rôle dans son prélèvement de l'arsenic. La description du transfert sol-solution des ions arséniate en fonction du

temps serait un outil de diagnostic qui permet de comprendre et d'expliquer l'origine des différences dans le prélèvement de l'arsenic par le radis.

Après un nouvel apport d'arsenic au sol, la grenaille d'acier + béringite maintient une diminution de la concentration en solution, du pool des ions arséniate échangés en 1 min (E_1) et de la quantité d'ions arséniate échangée en 1 jour, par rapport au sol non-traité. En plus, l'augmentation de la quantité de ces pools est moins importante dans le sol traité que dans le sol non-traité. Cet amendement reste alors réactif vis-à-vis de l'arsenic et son efficacité s'accentue avec une augmentation de la quantité totale d'arsenic dans le sol.

Dans un premier temps, il reste à vérifier que la source principale d'arsenic pour les racines est l'ensemble des ions arséniate isotopiquement échangé. Par la suite, il serait intéressant de conduire des expériences afin de conclure de manière plus pertinente sur le rôle du transfert sol-solution des ions arséniate dans le prélèvement de l'arsenic par le radis et d'autres espèces végétales. Ceci pourrait s'effectuer à l'échelle du laboratoire sur une période courte (quelques semaines).

On a apporté une base conceptuelle et de modélisation en ce qui concerne le transfert sol-solution des ions arséniate en fonction du temps et de la concentration en arsenic dans la solution du sol. Il serait intéressant de suivre le devenir des ions arséniate sur plusieurs années. On pourrait ainsi vérifier si l'équation de transfert permet de prévoir le prélèvement de l'arsenic par la plante à long terme. Ceci nous permettrait également de suivre l'immobilisation des ions arséniate par un apport d'amendements en déterminant simplement la concentration d'arsenic dans la solution du sol. Par contre, il est conseillé de déterminer le transfert sol-solution à nouveau dans le temps car il pourrait changer en raison de l'évolution des amendements dans le temps.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La plupart des techniques de réhabilitation des sols pollués en éléments traces altèrent l'activité biologique ou détruisent la structure physique du sol. Parmi les techniques qui ne bouleversent pas ces paramètres du sol, l'immobilisation utilise des amendements ou des plantes pour modifier la forme chimique ou physique des éléments traces, afin de diminuer leur mobilité et leur disponibilité. Notre travail a eu pour objectif de démontrer la faisabilité de l'immobilisation par des amendements minéraux pour réhabiliter des sols pollués en métaux traces (Cd, Cu, Ni, Pb et Zn) et en As. Nous avons étudié l'effet des amendements sur la **mobilité des éléments traces**, sur **la concentration en éléments traces dans la plante** et sur le **fonctionnement du maïs**. Ces études ont permis d'évaluer la faisabilité soit à diminuer l'exposition de l'écosystème et des organismes hétérotrophes (animaux, homme) via la chaîne alimentaire, soit à favoriser la revégétalisation des sites industriels.

Nous avons utilisé cinq sols avec des paramètres physico-chimiques différents afin de conclure en l'effet reproductible des amendements. Quatre de ces sols proviennent de sites industriels fortement pollués par un mélange de métaux traces et de l'As. Deux d'entre eux (Ov1, Ov2) sont pollués principalement en métaux tandis que dans les deux autres (Rep2 et Port) le polluant principal est l'As. Le cinquième sol (Rep1) provient d'un site agricole pollué principalement en As.

Six amendements ont été étudiés : grenaille d'acier, béringite, combinaison de grenaille d'acier+béringite, hydroxyapatite et deux oxydes de fer cristallin (maghémite et magnétite).

Effet des amendements sur la mobilité des éléments traces

D'après les extractions sélectives (0,1 M nitrate de calcium), la béringite, la grenaille d'acier+béringite et l'hydroxyapatite 5% sont les plus efficaces pour diminuer la mobilité des métaux traces. Leur effet est reproductible pour les sols avec des sources de pollution et des paramètres physico-chimiques différents. Il a été montré que la grenaille d'acier (Sappin-Didier, 1995 ; Manceau et al., 1996 ; Hargé, 1997) et l'Hydroxyapatite (Ma et al., 11994a ; Laperche et al., 1996,1997) forment des phases secondaires *in-situ*. Pour la béringite, l'hypothèse de la formation des phases secondaires a été avancée. Ce sont ces amendements qui diminuent la mobilité des métaux traces tandis que les oxydes de fer cristallin n'ont pas d'effet. **Nous pouvons alors émettre l'hypothèse que la formation de phases secondaires *in-situ* est un facteur important.** Il reste à vérifier que les oxydes de fer ne se transforment pas ou peu *in-situ*. Le processus de transformation des phases primaires en phases secondaires est évolutif dans le temps. Ceci impliquerait que le temps soit un facteur important dans l'immobilisation des métaux. Dans des études en laboratoire et en plein champ, il a en effet été montré que l'immobilisation des métaux par la grenaille d'acier (Vangronsveld et al., 1999) et la béringite (Vangronsveld, 1998b) augmente avec le temps.

L'effet des amendements sur la mobilité de l'As (extraction à l'eau) dépend du sol. Dans le sol Port, seules la maghémite et la magnétite diminuent la mobilité de l'As. Dans les sols Rep1 et Rep2, tous les amendements (sauf l'hydroxyapatite) sont capables de diminuer sa mobilité ; la grenaille d'acier, la béringite et leur combinaison étant les plus efficaces. Pour l'As, on ne peut donc pas conclure en l'importance de la formation des phases secondaires *in-situ*, ni en un éventuel effet reproductible pour différents sols. L'apport de l'hydroxyapatite augmente la mobilité de l'As. Les ions phosphate, libérés pendant sa solubilisation, remplaceraient les ions d'As sur la phase solide du sol.

En raison de la quantité d'As susceptible d'être transférée de la phase solide vers la solution après un temps donné dans le sol Rep1 (déterminé à partir de la cinétique d'échange isotopique des ions arséniate), **la diminution de l'arsenic extractible à l'eau ne serait pas due à son immobilisation dans le sens strict du terme. Après l'apport des amendements, une partie des ions arséniate est devenue moins rapidement échangeable (immobilisation) mais une autre partie semble devenue plus rapidement échangeable (mobilisation).** L'apport des amendements résulterait en une augmentation de la quantité d'ions arséniate caractérisés par une cinétique d'échange intermédiaire. L'importance d'intégrer le facteur temps dans l'évaluation de la mobilité a ainsi été démontrée.

Effet des amendements sur la concentration en éléments traces dans la plante

D'après les résultats du bio-essai, la béringite, la grenaille d'acier+béringite et l'hydroxyapatite sont les amendements les plus efficaces pour diminuer la concentration en métaux traces dans les parties aériennes du maïs. A quelques exceptions près, leur effet est généralisable dans différents sols. Après l'apport de ces amendements au sol, une diminution de la concentration en métaux traces dans différentes espèces végétales a été montré, de la vase de végétation à l'étude en plein champ (Mench et al., 1994a,b ; Sappin-Didier, 1995 ; Chlopecka et Adriano 1996, 1997 ; Laperche et al., 1997 ; Boisson et al., 1998 ; Ruttens et Vangronsveld, 1998). **Ces amendements améliorent donc de manière générale la qualité des récoltes et diminuent ainsi l'exposition aux métaux traces de l'écosystème et des organismes hétérotrophes.** Comme prévu à partir des extractions, l'hydroxyapatite doit être utilisée avec prudence car son apport augmente la concentration en As dans le maïs et le haricot.

Dans le sol Rep1, tous les amendements diminuent la concentration en As dans le maïs (cette étude) et le haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998), la combinaison grenaille d'acier+béringite étant le plus efficace. Dans le sol Port, aucun des amendements ne permet de diminuer la concentration en As dans le maïs dans cette étude à courte durée. Par contre, dans une étude en lysimètres, l'apport de grenaille d'acier+béringite au sol Port a diminué la concentration en As dans le ray-grass (Vangronsveld et al., 1999). **Son effet est donc reproductible pour différents sols pollués en As**. Une étude en cases lysimétriques avec le sol Rep1, traité avec la grenaille d'acier, la béringite et leur combinaison, a montré que **l'effet diminutif des amendements sur la concentration en As dans le maïs est durable pendant un an**, la béringite étant le moins efficace. L'apport de grenaille d'acier diminue aussi la

concentration en As dans le radis. En plein champ, son apport (sol similaire à Rep1) a diminué la concentration en As dans la carotte, le radis, la laitue et la pomme de terre (Vangronsveld, 1998a). **Pour un sol donné, l'effet de la grenaille d'acier est donc reproductible pour différentes espèces végétales.** L'apport de grenaille d'acier + béringite diminue aussi la concentration en As dans le radis et le haricot ; son effet est **reproductible pour différentes espèces végétales**. Quant à la béringite, son apport ne diminue pas la concentration en As dans le radis et n'augmente donc pas de manière générale la sûreté alimentaire.

En ce qui concerne l'évaluation de l'immobilisation, à partir des études sur la concentration dans la plante, on peut conclure qu'**une diminution de l'extractabilité des éléments traces et de la concentration en As en solution ne résulte pas systématiquement en une moindre concentration dans la plante**. Ceci est démontré par le fait que l'apport de béringite et de grenaille d'acier+béringite au sol Ov2 augmente la concentration en Cu et/ou Pb dans le maïs, tandis que la quantité extraite de Cu et de Pb diminue. L'hypothèse émise est que **l'apport des amendements diminue la phytotoxicité du sol, améliore le fonctionnement du système racinaire et augmente ainsi le prélèvement des éléments traces par la plante**. Cette hypothèse est renforcée par l'augmentation de la biomasse des racines et la diminution de la phytotoxicité du sol après l'apport de ces amendements. On pourrait penser que cette hypothèse est seulement valable pour des sites fortement pollués (donc très phytotoxiques). Cependant, elle a aussi été émise dans une étude sur un site agricole pollué en Ni et Cd pour expliquer que la béringite et la grenaille d'acier ne diminuent pas le prélèvement de Cd par le maïs (Boisson et al., 1998). Ceci implique qu'**il est indispensable de déterminer la concentration en éléments traces dans les végétaux afin de déterminer l'effet des amendements sur la sûreté alimentaire.**

Une deuxième démonstration est que l'apport de béringite au sol Rep1 diminue la concentration en As dans la solution, mais ne diminue pas son prélèvement par le radis. Etant donné que son apport n'augmente pas la biomasse du radis, ce résultat ne serait pas dû à un meilleur fonctionnement des racines. On a émis l'hypothèse que les conditions physico-chimiques dans la rhizosphère du radis annulent l'effet de la béringite sur la concentration en solution et que le radis sollicite une partie des ions arséniate liés à la phase solide. Le prélèvement de l'As par le radis semble bien corrélé avec de la quantité d'ions arséniate rapidement échangeable. **Le transport sol-solution des ions As^V jouerait donc un rôle dans le prélèvement de l'As par le radis.** Dans l'étude de la mobilité de l'As, on a déjà conclu que la description du transfert sol-solution est un outil puissant. Ici, on montre qu'à partir de cette description, on peut aussi faire un diagnostic qui permettrait de comprendre et d'expliquer l'origine des différences dans le prélèvement d'As par le radis après l'apport des amendements. Cet outil mérite d'être optimalisé et valorisé pour d'autres éléments car il permettrait de déterminer l'effet des amendements sur la disponibilité des éléments traces. En ce qui concerne l'As, la première étape dans l'optimalisation est de vérifier si la source principale d'As pour les racines est l'ensemble des ions

arséniate isotopiquement échangeable. Par la suite, il serait intéressant de conduire des expériences afin de conclure de manière plus pertinente sur le rôle du transfert sol-solution des ions arséniate dans le prélèvement de l'arsenic par le radis et d'autres espèces végétales. Ceci pourrait s'effectuer à l'échelle du laboratoire sur une période courte (quelques semaines). Cependant, tous les laboratoires ne sont pas équipés pour ces expériences. Il serait donc intéressant de mettre aussi l'effort dans le développement d'autres méthodes permettant de décrire le transfert sol-solution des éléments traces. Dans le cas des ions arséniate, on pourrait, par exemple, déterminer la cinétique de leur désorption à l'aide de papiers filtres imprégnés avec des oxydes de fer, comme pour les ions phosphate (Chardon et al., 1996).

Effet des amendements sur le fonctionnement de la plante

Les paramètres morphologiques et métaboliques (ex. chlorophylle, activités enzymatiques) du maïs se sont avérés satisfaisants comme marqueurs biologiques du fonctionnement de la plante.

Le sol Rep2 étant très phytotoxique, la croissance du maïs a été telle que la quantité de matière végétale récoltée était insuffisante pour déterminer son fonctionnement. Ceci nous conduit à la recommandation d'inclure dans l'évaluation de l'immobilisation non-seulement des plantes tests (ex. maïs et haricot), mais aussi des plantes résistantes (éventuellement prélevées sur le site, *Agrostis capilaris* et *Salix caprea* dans le cas du sol Rep2). Ceci permettrait de déterminer si les amendements favorisent une revégétalisation des sols fortement phytotoxiques sur lesquels les plantes tests ne se développent pas.

En ce qui concerne les autres sols, l'apport de tous les amendements améliore le fonctionnement du maïs (cette étude) et du haricot (Ruttens et Vangronsveld, 1998). Dans les sols Ov1, Ov2 et Port, la béringite et la grenaille d'acier+béringite sont les plus efficaces. Le meilleur fonctionnement du maïs après leur apport est dû à une diminution de la concentration en éléments traces dans la plante en combinaison avec une augmentation de la concentration en éléments nutritifs (Ca et K). Dans le sol Rep1, la grenaille d'acier et la grenaille d'acier+béringite sont les plus efficaces. Dans ce sol, le meilleur fonctionnement du maïs serait surtout lié à l'immobilisation de l'As. **L'amélioration du fonctionnement du maïs indique que par des amendements minéraux, on peut favoriser la revégétalisation des sites.**

Le fonctionnement de la plante ne peut pas être évalué à partir des résultats sur la concentration en éléments traces dans la plante. Par exemple, l'hydroxyapatite apporté à 5% a été parmi les trois amendements les plus efficaces à diminuer la concentration en éléments traces dans la plante. Cependant, au niveau du fonctionnement de la plante, cet amendement n'est plus parmi les plus efficaces. Ceci s'explique (en partie) par le fait que son apport entraîne une carence en Mn chez le maïs. **Il est donc nécessaire d'évaluer le fonctionnement de la plante afin de déterminer si les amendements favorisent la revégétalisation des sites pollués en éléments traces.**

A partir de l'intégralité de nos résultats, on peut conclure que **la combinaison de grenaille d'acier+béringite est l'amendement le plus prometteur pour réhabiliter les sols pollués en éléments traces.** Cet amendement est efficace dans des sols pollués en métaux (surtout grâce à la béringite) ainsi que dans des sols pollués en As (surtout grâce à la grenaille d'acier). De plus, la béringite immobilise le Ni et le Mn libérés par la grenaille d'acier. Ces deux amendements sont donc complémentaires et l'effet de cette combinaison est reproductible pour différents sols et différentes espèces végétales (maïs, haricot, radis). Il a également été montré que l'apport de cette combinaison a un effet positif sur le fonctionnement d'autres organismes vivants (micro-organismes, vers de terre) et favorisent donc l'installation d'un écosystème dans le sol (Berti et al., 1998). De plus, nous avons démontré que cette combinaison reste active vis-à-vis d'un nouvel apport de l'As au sol.

Seuls les mécanismes d'immobilisation du Pb par l'hydroxyapatite ont été éclaircis par des méthodes physiques (Laperche et al., 1996). Des études supplémentaires sont nécessaires afin de vérifier les hypothèses émises (chapitre 3) concernant les mécanismes d'immobilisation des éléments traces par les amendements. On pourrait utiliser l'analyse en diffraction X pour identifier les phases minérales formées après un apport d'amendements et la microscopie électronique à balayage pour caractériser leur morphologie. Cette dernière technique permettrait de déterminer la relation spatiale entre la béringite et les produits d'oxydation de la grenaille d'acier. La spectroscopie EXAFS pourrait ensuite renseigner sur le type de complexe formé entre les éléments traces et la phase solide.
La connaissance des mécanismes est une donnée importante dans l'évaluation de la durabilité de l'immobilisation et dans l'acceptation de l'immobilisation comme technique de réhabilitation. De plus, elle dirigerait le choix des amendements pour un sol donné et la sélection de nouveaux amendements.

Les tests à l'échelle du laboratoire, la modélisation et les études sur la spéciation des éléments traces dans le sol peuvent donner des informations pour prédire la durabilité de l'immobilisation. Par contre, l'extrapolation au champ doit être considérée avec précaution. L'effet de l'activité biologique, l'influence du climat (eau, température) et d'autres facteurs abiotiques comme les pluies acides sur l'immobilisation est difficile à prédire. Il est recommandé de conduire des études à une échelle agronomique (plein champ). Une démonstration de la durabilité de l'efficacité sur des sites avec des caractéristiques physico-chimiques différentes est cruciale afin de faire accepter la technique de l'immobilisation par les décideurs et le public.
En ce qui concerne la sûreté alimentaire, une étude au champ a été commencée en 1995. Dans celle-ci, l'effet d'un apport de grenaille d'acier et de béringite sur le prélèvement du Ni et du Cd par le maïs et la pomme de terre est évaluée. Le suivi du prélèvement de ces métaux dans le temps permettra de conclure sur la durabilité de l'immobilisation. Pour augmenter la sûreté alimentaire, il est conseillé de cultiver des espèces végétales qui accumulent peu d'éléments traces ou qui les accumulent dans des parties non-consommables.

En ce qui concerne la revégétalisation, une étude en Belgique a montré qu'il est possible de revégétaliser un site fortement pollué en Zn et Cd par un apport de béringite au sol (Vangronsveld, 1995b). Des études sur les sites de Portugal et de Overpelt ont commencé en 1998. Le suivi de ces études permet d'évaluer si l'effet des amendements est durable et si l'effet est spécifique au site ou s'il est reproductible. De plus, l'apport des amendements au site de Portugal permet d'évaluer la possibilité d'une revégétalisation des sites avec une pollution en métaux et en arsenic.

La recherche des mécanismes de tolérance des végétaux peut contribuer à la revégétalisation car ils peuvent aboutir à une augmentation de la tolérance des plantes (ex. par l'incorporation de gènes bactérien résistants).

En ce qui concerne le suivi de l'immobilisation, il est important de déterminer le pourcentage de la couverture du sol mais aussi la biodiversité sur le site (plantes tolérantes et non-tolérantes, mycorhizes, activité microbienne, présence de vers de terre) pour conclure sur l'implantation d'un écosystème dans le sol traité. L'établissement d'un réseau de mycorhizes, par exemple, est essentiel pour le développement d'un écosystème stable et durable. Il serait intéressant de déterminer la diminution de l'érosion latérale et la lixiviation (cases lysimétriques) après l'installation d'un couvert végétal afin de pouvoir quantifier l'effet positif de la revégétalisation sur la dispersion de la pollution. Etant donné que nous avons montré que l'apport de béringite au sol Rep1 a augmenté la quantité d'As lixiviée dans l'étude en lysimètres, le suivi de la lixiviation serait d'autant plus important.

La dernière perspective considère l'immobilisation comme technique complémentaire de la phyto-extraction. Dans le cas de l'arsenic, par exemple, un apport de grenaille d'acier+béringite diminue la phytotoxicité du sol ce qui permettrait l'installation de plantes hyper-accumulatrices. Etant donné que l'arsenic resterait présent sous forme disponible, les plantes auraient accès aux ions arséniate sorbés suite à l'apport des amendements. Dans le cadre de cette perspective, deux axes de recherche sont nécessaires. Premièrement, on devrait évaluer si, sur d'autres sites et pour d'autres éléments traces, la fraction 'immobilisée' reste disponible. Deuxièmement, la technique de phyto-extraction doit être optimalisée car à l'heure actuelle la dépollution par phyto-extraction est un processus extrêmement lent. Les efforts doivent être mis sur la transformation des plantes afin de créer des plantes hyper-accumulatrices avec une biomasse élevée.

REFERENCES

REFERENCES

Adriano D.C. 1986. Trace elements in the terrestrial environment. Springer, New York, 533 p.

Alloway B.J. 1995. Heavy metals in soils, second edition. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 368 p.

Anonyme , 1993. In : **Environ. Sci. Technol.** 27.

Artiola J.F., Zabcik D. and Johnson S.H. 1990. In situ treatment of arsenic contaminated soil from a hazardous industrial site: laboratory studies. **Waste Management** 10, 73-78.

Ascher C.J. and Reay P.F. 1979. Arsenic uptake by barley seedlings. **Aust. J. Plant Physiol.** 6, 459-466.

Ayen R.J., Swanstrom C.P. and Palmer C.R. 1994. Thermal desorption. p. 265-310 In Wilson D.J. and Clarke A.N. (eds.) Hazardous waste site soil remediation. Theory and application of innovative technologies. Marcel Dekker, New York.

Barber S.A. 1995. Soil nutrient bioavailability, a mechanistic approach. John Wiley and Sonc Inc., New-York, 414 p.

Baize D. 1993. Guide des analyses courantes en pédologie. INRA, Paris, 172 pp.

Baize D. 1994. Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français. Courrier de l'Environnement de l'INRA n° 22, 37-46.

Baize D. 1997. Un point sur teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA, Paris, 409 pp.

Barrow N.J. 1974. On the displacement of adsorbed anions from soil: 2. Displacement of phosphate by arsenate. **Soil Sci.** 117, 28-33.

Baszinsky T., Wadja L., Krol M., Wolinska D., Krupa Z. and Tukendorf A. 1980. Photosynthetic activities of cadmium treated tomato plants. **Physiol. Plant.** 48, 365-370.

Belzile N. and Tessier A. 1990. Interactions between arsenic and iron oxyhydroxides in lacustrine sediments. **Geochim. Cosmochim. Acta** 54, 103-109.

Benninger-Truaux M. and Taylor D.H. 1993. Municipal sludge metal contamination of old-field ecosystems: do liming and tilling affect remediation? **Environ. Toxicol. Chem.**. 12, 1931-1943.

Berti W.R., Cooper E.M., Cunningham S.D. and Vangronsveld J. 1998. Field implementation-practical considerations. p. 183-195 In In Vangronsveld J. and Cunningham S. (eds.) In situ inactivation and phytorestoration of metal-contaminated soils. Springer Verlag and R.G. Landes Company, New-York.

Bhumbla D.K. and Keefer R.F. 1994. Arsenic mobilization and bioavailability in soils. p. 51-82 In: Nriagu J.O. (ed.) Arsenic in the environment. Part I: cycling and characterization. John Wiley & Sons, Inc., New-York.

Bitton G., Garland E., Kong I.C., Morel J.L. et Koopman B. 1996. A direct solid-phase assay specific for heavy metal toxicity. I. Methodology. **J. Soil Contam.** 5, 385-394.

Blanke M.M. 1990. Determination of chlorophyll with DMF. **Vitic. Enol. Sci.** 45, 76-78.

Boisset M. 1996. Effets toxiques majeurs du cadmium chez l'animal et l'homme. p. 119-130 In Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. TEC DOC, Paris.

Boisset M. and Narbonne J.F. 1996. Effets subcellulaires et systèmes sensibles. p. 9-46 In: Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. TEC DOC, Paris.

Boisson J., Mench M., Sappin-Didier V., Solda P. and Vangronsveld J. 1998. Short-term in situ immobilization of Cd and Ni by beringite and steel shots application to long-term sludged plots. **Agronomie** 18, 347-359.

Boisson J., Mench M., Vangronsveld J., Ruttens A., Kopponen P. and De Koe T. 1999a. Immobilization of trace metals and arsenic by different soil additives: evaluation by means of chemical extractions. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 30, 365-387.

Boisson J, Ruttens A., Mench M. and Vangronsveld J. 1999b. Evaluation of hydroxyapatite as a metal immobilizing soil additive for the remediation of polluted soils. Part I. Influence of hydroxyapatite on metal exchangeability in soil, plant growth and plant metal accumulation. **Environ. Pollut.** 104, 225-233.

Cai J. and DuBow S. 1997. Use of a luminescent bacterial biosensor for monitoring and chanracterization of arsenic toxicity of chromated copper arsenate (CCA). **Biodegradation** 8, 105-111.

Cambier P. and Mench M. 1998. Contamination des sols par les métaux lourds et autres éléments-traces. p 161-172 In: Sol, interface fragile. INRA Editions, Paris.

Carbonell-Barrachina A., Burlo-Carbonell F. and Mataix Beneyto J. 1995. Arsenic uptake, distribution and accumulation in tomato plants: effect of arsenite on plant growth and yield. **J. Plant Nutr.** 18, 1237-1250.

Carbonell-Barrachina A., Burlo-Carbonell F. and Mataix Beneyto J. 1996. Arsenic uptake, distribution and accumulation in bean plants: human health risk. **Fresenius Environ. Bull.** 5, 21-28.

Carbonell-Barrachina A., Burlo F., Burgos-Hernándes A., López E. and Mataix J. 1997. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. **Science Horticulturae** 71, 167-176.

Carbonell-Barrachina A.A., Aarabi M.A., DeLaune R.D., Gambrell R.P. and Patrick Jr W.H.. 1998a. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. **Sci. Total Envir.** 217, 189-199.

Carbonell-Barrachina A.A., Aarabi M.A., DeLaune R.D., Gambrell R.P. and Patrick Jr W.H. 1998b. The influence of arsenic chemical form and concentration on *Spartina patens* and *Spartina alterniflora* growth and tissue arsenic concentration. **Plant Soil** 198, 33-43.

Cavallaro N. and McBride M.B. 1978. Copper and cadmium adsorption characteristics of selected acid and calcareous soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 42, 550-556.

Chardon W.J., Menon R.G. et Chien S.H. 1996. Iron oxide impregnated filter paper (P_i test) : a review of its development and methodological research. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** 46, 41-51.

Charlet L. and Manceau A. 1993. Structure, formation and reactivity of hydrous oxides particules: insight from X-ray absorption spectroscopy. p. 117-167 In Buffle J. et H. Van Leeuwen (eds.) Environmental particles. Lewis Publishers.

Chlopecka A. and Adriano D.C. 1996. Mimicked *in situ* stabilization of metals in a cropped soil: bioavailability and chemical forms of zinc. **Environ. Sci. Technol.** 30, 3294-3303.

Chlopecka A. and Adriano D.C. 1997. Influence of zeolite, apatite and Fe-oxide on Cd and Pb uptake by crops. **Sci. Total Envir.** 207, 195-206.

Chlopecka A., Seaman J., Mench M. and Vangronsveld J. 1999. Remediation of metal- and radionucleide-contaminated soils by in-situ stabilisation techniques. In Iskandar I.K. (ed.) Environmental restoration of metals contaminated soils. Ann Arbor (sous presse).

Chowdhurry A.K., McLaren R.G., Swift R.S. and Cameron K.C. 1992. Effects of extraction period and soil:solution ratio on the amount of zinc extracted from soils by different extractants. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 23, 1451-1459.

Christensen T.H. 1984. Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. **Water Air Soil Pollut.** 21, 105-114.

Christensen T.H. 1987. Cadmium soil sorption at low concentrations: V. Evidence of competition by other heavy metals. **Water Air Soil Pollut.** 34, 293-303.

Christie N.T. and Costa M. 1984. In vitro assessment of the toxicity of metal compounds. IV. Disposition of metals in cells: interactions with membranes, glutathione, metallothionein and DNA. **Biol. Tr. Elem. Res.** 6, 139-158.

Chuan M.C., Shu G.Y. and Lin J.C. 1996. Solubility of heavy metals in a contaminated soil: effects of redox potential and pH. **Water Air Soil Pollut.** 90, 543-556.

Comission of the European Communities Criteria: Dose/effect relationships for cadmium, 280 p, Pergamon Press, 1979.

Conner J.R. 1994. Chemical stabilization of contaminated soils. p. 81-170 In Wilson, D.J., and A.N. Clarke (eds.) Hazardous waste site soil remediation. Marcel Dekker, Inc., New-York, USA.

Corbisier P., Ji G., Nuyts G., Mergeay M. and Silver S. 1993. *LuxAB* gene fusions with the arsenic and cadmium resistance operons of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258. **FEMS Microbiol. Lett.** 110, 231-238.

Corbisier P., Thiry E. and Diels L. 1996. Bacterial Biosensors for the toxicity assessment of solid wastes. **Environ. Toxic. Water Qual.** 11, 171-177.

Cullen W.R. and Reimer K.J. 1989. Arsenic speciation in the environment. **Chem. Rev.** 89, 713-164.

Cunningham S.D. and Berti W.R. 1993. Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. **In Vitro Cell Dev. Biol.** 29P, 207-212.

Cunningham S.D., Berti W.R. and Huang J.W. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends Biotech.** 13, 393-397.

Davenport J.R. and Peryea F.J. 1991. Phosphate fertilizers influence leaching of lead and arsenic in soil contaminated with lead arsenate. **Water Air Soil Pollut.** 57-58, 101-110.

Davies B.E. 1994. Soil chemistry and bioavailability with special reference to trace elements. p. 1-30 In Farago M.E. (ed.) Plants and the chemical elements : biochemistry, uptake, tolerance and toxicity. VCH, Weinheim.

De Boodt M.F. 1991. Application of the sorption theory to eliminate heavy metals from waste waters and contaminated soils. pp. 293-320. In: Bolt G.H., De Boodt M.F., Hayes M.H.B. and McBride M.B. (eds.), Interactions at the Soil Colloid-Soil Solution Interface, NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences, Vol. 190, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Decloitre F. 1998. La part des différents aliments dans l'exposition au plomb, au cadmium et au mercure en France. **Cah. Nutr. Diét.** 33, 167-175.

De Knecht J.A., Van Dillen M., Koevoets P.L.N., Schat H., Verkleij J.A.C. and Ernst W.H.O. 1994. Phytochelatins in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*: chain length distribution and sulfide incorporation. **Plant Physiol.** 104, 255-261.

De Koe T. 1994. Arsenic in submediterranean *Agrostis* species. PhD thesis, Vrije Universiteit Amsterdam, 127 p.

De Koe T. 1998. Field experiment at the Jales mine spoils (Portugal). p. 114-120 In Verkleij J.A.C. (ed.) Strategies for rehabilitation of metal polluted soils: in situ phytoremediation, immobilization and revegetation, a comparative study. Progress Report No 4, Environment Research Programme, Contract ENV4-CT95-0083.

De Koe T, Bleeker P.M., Teiga P.M. and Aranha J.T. 1999. Erosão e dispersão das escombreiras das minas de Jales (Trás-os-Montes). **Revista de Biologia** 17, sous presse.

De Temmerman L.O., Hoenig M. and Scokart P.O. 1984. Determination of 'normal' levels and upper limit values of trace elements in soils. **Z. Pflanzen. Bodenk.** 147: 687-694.

De Vos C.H.R., Schat H., Vooijs R. and Ernst W.H.O. 1989. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*. **J. Plant Physiol.** 135, 164-169.

De Wolff F.A. and Edelbroek P.M. 1994. Neurotoxicity of arsenic and its compounds. p. 283-291 In De Wolff F.A. (ed.) Handbook of Clinical Neurology Vol. 20 (64): Intoxications of the Nervous System, Part I. Elsevier Science B.V.

Didier V., Mench M., Gomez A., Manceau A., Tinet D. and Juste C. 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**, t. 316, Série III, 83-88.

Diels L. 1997. Heavy metal bioremediation of soil. p. 283-295 In Sheehan, D. (ed.) Methods in biotechnology, vol. 2: Bioremediation protocols. Humana Press Inc., Totowa, USA.

Driehaus W., Seith R. and Jekel M. 1995. Oxidation of arsenate(III) with manganese oxides in water treatment. **Wat. Res.** 29, 297-305.

Echevaria G., Klein S., Fardeau J.C. and Morel J.L. 1996. Caractérisation du nickel assimilable dessols par la méthode des cinétiques d'échange isotopique. **C. R. Acad. Sci. Paris**, 324,IIa, 221-227.

Elkathib E.A., Bennett O.L. and Wright R.J. 1984. Arsenite sorption and desorption in soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 48, 1025-1030.

El-Kherbawy M. Angle J.S., Heggo A. and Chaney R.L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Biol. Fertil. Soils** 8, 61-65.

Erel Y., Morgan J.J. and Patterson C.C. 1991. Natural levels of lead and cadmium in a remote mountain steam. **Geochim. Cosmochim. Acta** 55, 707-719.

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, 317-335.

Ernst W.H.O. 1980. Biochemical aspects of cadmium in plants. p. 639-653 In Nriagu JO (ed.) Cadmium in the environment. Wiley and Sons, New York.

Ernst W.H.O. 1994. Effects of increased arsenic, lead and cadmium content in soils on plants. p. 319-355 In Kreysa, G. and Wiesner J. (eds.) Beurteilung schwermet: boeden ballungsgeb. arsen, blei, cadmium. DECHEMA, Frankfurt, Germany.

Ernst W.H.O. 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. **Appl. Geochem.** 11, 163-167.

Espagnol S. 1997. Etude de la distribution spatiale de teneur en métaux polluants d'origine atmosphérique dans le périmètre agricole d'une friche industrielle. DEA, INRA Versailles. 48 p.

Ewers U. and Schlipköter H.W. 1991. Chronic toxicity of metals and metal compounds. p. 591-604 In Merian E. (ed.) Metals and their compounds in the environment; occurrence, analysisi and biological relevance. VCH, Weinheim.

Fardeau J.C., Chabouis C., Hetier J.M. et Jappé J. 1977. Méthode des cinétiques de dilution isotopique des ions PO_4 et K_e : application à l'analyse des modifications de fertilité dans les essais de très longue durée. **Science du Sol** 2, 111-122.

Fardeau J.C., Hétier J.M. et Jappé J. 1979. Potassium assimilable du sol : identification au compartiment des ions isotopiquement diluables. **C. R. Acad. Sc. Paris** 288, 1039-1042.

Fardeau J.C. 1981. Cinétique de dilution isotopique et phosphore assimilable des sols. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Pierre et Marie Curie, Paris.

Fardeau J.C., Morel C. and Jappé J. 1985. Cinétique d'échange des ions phosphate dans les systèmes sol : solution. Vérification expérimentale de l'équation théorigque. **C. R. Acad. Sc. Paris** 300, 371-376.

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

Fardeau J.C. 1993. Le phosphorus assimilable des sols: sa présentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. **Agronomie** 13, 317-331.

Fardeau J.C. and Martinez J. 1996. Epandages de lisiers: conséquences sur le phosphore biodisponible et sur la concentration de quelques cations dans la solution du sol. **Agronomie** 16, 153-166.

Fendorf S., Eick M.J., Grossl P. and Sparks D.L. 1997. Arsenate and chromate retention mechanisms on goethtite. 1. Surface structure. **Environ. Sci. Technol.** 31, 315-320.

Ferguson J.F. and Gavis J. 1972. A review of the arsenic cycle in natural waters. **Wat. Res.** 6, 1259-1274.

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

Florijn P.J. 1993. Differential distribution of cadmium in lettuce (*Lactuca sativa* L) and maize (*Zea mays* L). PhD thesis, Landbouw Universiteit Wageningen, Pays-Bas. 113 p.

Focault A. and Raoult J.F. 1988. Dictionnaire de géologie. 3e edition. Masson, paris, 352 pp.

Fordham A.W. and Norrish K. 1983. The nature of soil particles particularly those reacting with arsenate in a series of chemically treated samples. **Aust. J. Soil Res.** 21, 455-477.

Foy C.D., Chaney R.L. and White M.C. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 29, 511-566.

Frossard E., Fardeau J.C., Brossard M. and Morel J.L. 1994. Soil isotopically exchangeable phosphorus: A comparison between *E* and *L* values. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 58, 846-851.

Frossard E. and Sinaj S. 1997. The isotopic exchange kinetic technique: a method to describe the availability of inorganic nutrients. Applications to K, P, S and Zn. **Isotopes Environ Health Stud** 33, 61-77.

Fu G., Allen H.E. and Cowan C.E. 1991. Adsorption of cadmium and copper by manganese oxide. **Soil Sci.** 152, 72-81.

Ganje T.J. and Rains D.W. 1982. Arsenic. p. 385-402 In Page et al. (eds) Methods of soil analysis. Part 2. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

Garnier R. 1993. Toxicité des principaux métaux. **Toxicorama** V, 3-17.

Geldmacher-Von Malinckrodt M. 1991. Ecogenetics. p. 641-650 In Merian E. (ed.) Metals and their compounds in the environment; occurrence, analysisi and biological relevance. VCH, Weinheim.

Gerritse R.G. and Van Driel W. 1984. The relationship between adsorption of trace metals, organic matter, and pH in temperate soils. **J. Environ. Qual.** 13, 197-204.

Goldberg S. and Glaubig R.A. 1988. Anion sorption on a calcareous, montmorillonitic soil-arsenic. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 52, 1297-1300.

Gomez A., Vives A., Sappin-Didier V., Prunet T., Soulet P. and Chignon R. 1997. Immobilization in situ des métaux lourds par ajout de composés minéraux en sols pollués. Final report 92056, Ministère de l'Environnement, Paris.

Gupta S.K. and Aten C. 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.

Gworek B. 1992a. Inactivation of cadmium in contaminated soils using synthetic zeolites. **Environ. Pollut.** 75, 269-271.

Gworek B. 1992b. Lead inactivation in soil by zeolites. **Plant Soil** 143, 71-74.

Halen H. and Van Bladdel R. 1990. Etude des facteurs contrôlant l'adsortpion du cadmium dans une série de sols belges. **Landbouwtijdschrift-Revue de l'Agriculture** 43, 934-948.

Halliday D. J. and Trenkel M. E. 1992. IFA World Fertilizer Use Manual. International Fertilizer Industry Association, Paris, France, 632 pp.

Han D.H. and Lee J.H. 1996. Effects of liming on uptake of lead and cadmium by *Raphanus sativa,* **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 31, 488-493.

Häni H. 1996. Soil analysis as a tool to predict effects on the environment. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 27, 289-306.

Hansen H.K., Ottosen L.M., Kliem B.K. and Villumsen A. 1997. Electrodialytic remediation of soils polluted with Cu, Cr, Hg, Pb, and Zn. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** 70, 67-73.

Hargé J.C. 1997. Spéciation comparée du zinc, du plomb et du manganèse dans des sols contaminés. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, France.

Harmens H., Cornelisse E., Den Hartog P.R., Ten Bookum W.M. and Verkleij J.A.C. 1993. Phytochelatins do not play a key role in naturally selected zinc tolerance in *Silene vulgaris*. **Plant Physiol.** 103, 1305-1309.

Heimhardt H.J. 1990. Waschen. p. 239-270 In Weber, H.H. (ed.) Altlasten erkennen, bewerten, sanieren. Springer Verlag, Berlin, Germany.

Heinrich U. 1992. Pulmonary carcinogenicity of cadmium by inhalation in animals. p. 405-414 In Nordberg, G.F., Herber R.F.M. and Alessio L. (eds.). Cadmium in the human environment: toxicity and carcinogenicity. IARC Scientific Publications No. 118, Lyon, France.

Hingston F.J., Posner A.M. and Quirck J.P. 1971. Competitive adsorption of negatively charged ligands on oxide surfaces. **Faraday Discuss. Chem. Soc.** 52, 334-342.

Huet S., Jolivet E. and Messéan A. 1992. La régression non-linéaire. Méthodes et applications en biologie. INRA, Paris, France.

Jackson A.P., Alloway B.J. 1991. The bioavaimlability of cadmium to lettuce and cabbage in soils previously treated sith sewage sludges. **Plant Soil** 132, 179-186.

Jacobs L.W., Keeney D.R and Walsh L.M. 1970a. Arsenic residue toxicity to vegetable crops grown on plainfield sand. **Agronomy J.** 62, 588-591.

Jacobs L.W., Syers J.K. and Keeney D.R. 1970b. Arsenic sorption by soil. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 34, 750-754.

Jeanjean J., Vincent U. and Fedoroff M. 1994. Structural modification of calcium hydroxyapatite induced by sorption of cadmium ions. **J. Solid State. Chem.** 108, 68-72.

Jenne E.A. 1968. Controls on Mn, Fe, Co, Ni, Cu and Zn concentrations in soils and water. The significant role of hydrous Mn and Fe oxides. p. 337-387 In Trace inorganics in Water. Advances in Chemistry Series, 73, American Chemical Soc.

Jensen J.B., Kubes V. and Kubal M. 1994. Electrokinetic remediation of soils polluted with heavy metals. Removal of zinc and copper using a new concept. **Environ. Technol.** 15, 1077-1082.

Jiang Q.Q. and Singh B.R. 1994. Effect of different forms and sources of arsenic on crop yield and arsenic concentration. **Water Air Soil Pollut.** 74, 321-343.

Johnson C.A. 1986. The regulation of trace element concentrations in river and estuarine waters contaminated with acid mine drainage: The adsorption of Cu and Zn on amorphous Fe oxyhydroxides. **Geochim. Cosmochim. Acta** 50, 2433-2438.

Juste C. 1988. Appreciation de la mobilité et de la biodisponabilité des éléments en traces du sol. **Science du Sol** 26: 103-112.

Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M. and Mocquot B. 1995. Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines. Convention Ademe/INRA.

Kabata-Pendias A. and Pendias H. 1992. Trace elements in soils and plants, second edition. CRC Press, London, UK, pp. 365.

Krebs-Hartmann R. 1997. In situ immobilization of heavy metals in polluted agricultural soil – an approach to gentle soil remediation. PhD thesis, Swiss Federal Institut of Technology Zurich, 110 p.

Krebs R., Gupta S.K., Furrer G. and Schulin R. 1998. Solubility and plant uptake of metals with and without liming of sludge amended soils. **J. Environ. Qual.** 27, 18-23.

Lagriffoul A. 1995. Etude des relations dose-effets pour quelques biomarqueurs du stress et de la tolérance au Cadmium chez le maïs (*Zea mays* L.). DEA National de Toxicologie, Université de Bordeaux 1, U.F.R. de Biologie. 38 pp.

Lagriffoul A., Mocquot B., Mench M. and Vangronsveld J. 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). **Plant Soil** 200, 241-250.

Lagriffoul A. 1998. Biomarqueurs métaboliques de toxicité du cadmium chez le maïs (*Zea mays* L.). Mécanismes de tolérance, relations dose-effet et précocité de la réponse. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux I.

Laperche V., Traina S. J., Gaddam P. and Logan T. J. 1996. Chemical and mineralogical characterizations of Pb in a contaminated soil: reactions with synthetic apatite. **Environ. Sci. Technol.**. 30, 3321-3326.

Laperche V., Logan T.J., Gaddam P., and Traina S.J. 1997. Effect of apatite amendements on plant uptake of lead from contaminated soil. **Environ. Sci. Technol.** 31, 2745-2753.

Lebourg A., Sterckeman T, Ciesielski H and Proix N. 1996a. Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponabilité des métaux en traces du sol. **Agronomie** 16, 201-215.

Lebourg A., Sterckeman T., Ciesielski H., Proix N. and Gomez A. 1996b. Estimation of soil trace metal bioavailability using unbuffered salt solutions: degree of saturation of polluted soil extracts. **Environ. Technol.** 19, 243-252.

Léonard A. 1994. Arsenic. p. 751-774 In Merian, E. (ed.) Metals and their components in the environment; occurrence, analysis, and biological relevance. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany.

Lichtenhaler H.K. and Welburn A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Trans. 603rd Meeting, Liverpool, 11, 591-592.

Lindsay WL 1979. Chemical equilibria in soils. John Wiley & Sons, New-York, 449 p.

Livesey N.T. and Huang P.M. 1981. Adsorption of arsenate by soils and its relation to selected chemical properties and anions. **Soil Sci.** 131, 88-94.

Loué A. 1986. Les Oligo-éléments en Agriculture. Agri-Nathan International, Paris, France, 339 pp.

Lower S.K., Maurice P.A. and Traina S.J. 1998. Simultaneous dissolution of hydroxylapatite and precipitation of hydroxypyromorphite : direct evidence of homogeneous nucleation. **Geochim. Cosmochim. Acta** 62, 1773-1780.

Ma Q. Y., Traina S. J. and Logan T. J. 1993. In situ lead immobilization by apatite. **Environ. Sci. Technol.** 27, 1803-1810.

Ma Q. Y., Traina S. J., Logan T. J. and Ryan J. A. 1994a. Effects of NO_3^-, Cl^-, F^-, SO_4^{2-}, and CO_3^{2-} on Pb^{2+} immobilization by hydroxyapatite. **Environ. Sci. Technol.** 28, 408-418.

Ma Q. Y., Traina S. J., Logan T. J. and Ryan J. A. 1994b. Effects of aqueous Al, Cd, Cu, Fe(II), Ni and Zn on Pb immobilization by hydroxyapatite. **Environ. Sci. Technol.**. 28, 1219-1228.

Manceau A., Charlet L., Boisset M.C., Didier B., and Spadini L. 1992. Sorption and speciation of heavy metals on hydrous Fe and Mn oxides. From microscopic to macroscopic. **Appl. Clay Miner.** 7, 201-223.

Manceau A. 1995. The mechanism of anion adsorption on iron oxides: evidence for the bonding of arsenate tetrahedra on free $Fe(O,OH)_6$ edges. **Geochim. Cosmochim. Acta** 59, 17, 3647-3653.

Manceau A., Hargé J.C. and Hazemann J.L. 1996. Etude de la spéciation *in-situ* de métaux lourds dans des sols contaminés. Rapport final Convention de Recherche 93150, Ministère de l'Environnement, Paris, France.

Manning B.A. and Goldberg S. 1996. Modeling arsenate competitive adsorption on kaolinite, montmorillonite and illite. **Clays. Clay. Miner.** 44, 609-623.

Manning B.A. and Goldberg S. 1997. Arsenic (III) and arsenic (V) adsorption on three california soils. **Soil Sci.** 162, 886-895.

Manning B.A., Fendorf S.E. and Goldberg S. 1998. Surface structure and stability of arsenic (III) on goethite: spectroscopic evidence for inner-sphere complexes. **Environ. Sci. Technol.** 32, 2383-2388.

Marin A., Masscheleyn P.H. and Patrick Jr. W.H. 1992. The influence of chemical form and concentration of arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration. **Plant Soil** 139, 175-183.

Marschner H., Römheld V., Horst W.J. and Martin P. 1986. Root-induced changes in the rhizosphere: importance for the mineral nutrition of plants. **Z. Pflanz. Bodenk.** 149, 441-456.

Marschner B., Henke U. and Wessolek G. 1995. Effects of meliorative additives on the adsorption and binding forms of heavy metals in a contaminated topsoil from a former sewage farm. **Z. Pflanz. Bodenk.** 9-14.

Masscheleyn P.H., Delaune R.D. and Patrick Jr W.H. 1991a. Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. **Environ. Sci. Technol.** 25, 1414-1419..

Masscheleyn P.H., Delaune R.D. and Patrick Jr W.H. 1991b. Arsenic and selenium chemistry as affected by sediment redox potential and pH. **J. Environ. Qual.** 20, 522-527.

McBride M.B., 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford University Press, New York, 406 pp.

McGeehan S.L. 1996. Arsenic sorption and redox reaction: relevance to transport and remediation. **J. Environ. Sci. Health.** A31, 2319-2336.

McKenzie R.M. 1980. The adsorption of lead and other heavy metals on oxides of manganese and iron. **Aust. J. Soil Res.** 18: 61-73.

McLaughlin M.J., Smolders E. and Merckx R.. 1998. Soil-root interface : Physicochemical processes. p 233-277 In Huang P.M. (ed.) Soil chemistry and ecosystem health, SSSA Special publication, Madison, WI.

Meharg A.A. and McNair M.R. 1990. An altered phosphate uptake system in arsenate tolerant *Holcus lanatus*. **New Phytol.** 16, 29-35.

Meharg A.A. and MacNair M.R. 1991. Uptake, accumulation and translocation of arsenate in arsenate-tolerant and non-tolerant *Holcus lanatus* L. **New Phytol.** 117, 225-231.

Mehra A. and Farago M.E. 1994. Metal ions and plant nutrition. p. 31-66 In Farago M.E. (ed.) Plants and the chemical elements : biochemistry, uptake, tolerance and toxicity. VCH, Weinheim, Allemagne.

Melamed R., Jurinak J.J. and Dudly L.M. 1995. Effect of adsorbed phophate on transport of arsenate through an oxisol. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 59, 1289-1294.

Mench M. and Martin E. 1991. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotina tabacum* L. and *Nicotina rustica* L. **Plant Soil** 132, 187-196.

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

Mench M. J., Didier V.L., Löffler M., Gomez A. and Masson P. 1994b. A mimicked in-situ remediation study of metal-contaminated soils with emphasis on cadmium and lead. **J. Environ. Qual.** 23: 58-63.

Mench M., Mocquot B., Bussiere S., Prunet T., Coussin F., Masson P. and Vives A. 1996a. Prélèvement d'éléments traces métalliques dans trois sols développés sur limons loessiques des plateaux du Vexin ayant reçu ou non l'apport de boues résiduaires. Evaluation de l'indice de phytotoxicité des sols par un biotest végétal (Plantox). Rapport final, AIP ECOPOL, programme Ecomet, INRA Bordeaux. 19 p.

Mench M., Coussin F., Mocquot B., Bussiere S., Prunet T. and Lagriffoul A. 1996b. Evaluation des apports d'un biotest végétal et de la spéciation des éléments traces à la mise au point d'une batterie de tests d'écotoxicologie terrestre applicables aux sols et aux déchets. Sous-thème: Biotest végétal. Rapport final, Convention INRA-ADEME n° 4930029, Paris. 43 p. + annexes.

Mench M., Vangronsveld J., Lepp N. and Edwards R. 1998. Physico-chemical aspects and efficiency of trace element immobilisation by soil amendments. p. 183-213 In Vangronsveld J. and Cunningham S. (eds.) In situ inactivation and phytorestoration of metal-contaminated soils. Landes Biosciences.

Mench M., Vangronsveld J., Clijsters H., Lepp N.W. and Edwards R. 1999. In situ metal immobilisation and phytostabilisation of contaminated soils. In Logan T., Banuelos G. and Vangronsveld J. (eds.) Phytoremediation of metal contaminated soils. Ann Arbor (sous presse).

Mengel K. and Kirkby E.A. 1982. Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland, 655 pp.

Merry R.H., Tiller K.G. and Alston A.M. 1986a. The effects iof soil contamination with copper, lead and arsenic on the growth and composition of plants. I Effects of season, genotype, soil temperature and fertilizers. **Plant Soil** 91, 115-128.

Merry R.H., Tiller K.G. and Alston A.M. 1986b. The effects of soil contamination with copper, lead and arsenic on the growth and composition of plants. II Effects of source of contamination, varying soil pH, and prior water-logging. **Plant Soil** 95, 255-269.

Middelburg J. J. and Comans R. N. J. 1991. Sorption of cadmium on hydroxyapatite. **Chem. Geol.** 90, 45-53.

Mocquot B., Vangronsveld J., Clijsters H. and Mench, M. 1996. Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorofyll contents, and enzyme activities. **Plant Soil** 182, 287-300.

Morel J.L., Mench M. and Guckert A. 1986. Measurement of Pb^{2+}, Cu^{2+}, and Cd^{2+} binding with mucilage exudates from maize (*Zea Mays*L.) roots. **Biol. Fert. Soils**. 2, 29-34.

Morel F.M.M. and Hering J.G. 1993. Principles and applications of aquatic chemistry. John Wiley & Sons, New York, 588 pp.

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

Morel C., Tiessen H., Moir J.O. and Stewart J.W.B. 1994. Phosphorus transformations and availability under cropping and fertilization assessed by isotopic exchange. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 58, 1439-1445.

Morel C., Blaskiewitz J. and Fardeau J.C. 1995. Phosphorus supply to plants by soils with variable phosphorus exchange. **Soil Sci.** 160, 423-430.

Morel C., Tiessen H. and Stewart J.W.B. 1996. Sensitivity to equilibration periods of phophate sorption and isotopic exchange methods assessing Q/I relationships in soils. **Soil Sci.** 161, 459-467.

Morel C. and Torrent J. 1997. Sensitivity of isotopically exchangeable phosphate in soil suspensions to the supporting solution. **Soil Sci. Soc. Amer. J.** 61, 1044-1052.

Morel C. and Hinsinger P. 1998. Modifications of PO_4-ions transfer in rhizosphere soils. p. 782 In Summaries of the 16th World Congress of Soil Science, Montpellier, France.

Morel J.L., Cambier P., Ducaroir J., Gaultier J.P., Lamy I., Terce M., Van Oort F., Raichon C., Baize D., Mench M., Moquot B., Gomez A., Bermond A., Bourgeois S., Boularbah A. and Dousset S. 1998. Elaboration d'une stratégie d'étude et de suivi de la qualité d'un agrosystème sous contrainte d'apports d'éléments en traces métalliques. Raport final, AIP Ecodynamique des Substances à caractère polluant. INRA, Secteur Environnement Fôret Agriculture. 81 p.

Mullins G.L., Sommers L.E. and Barber S.A. 1986. Modeling the plant uptake of cadmium and zinc from soils treated with sewage sludge. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 50, 1245-1250.

Mylona P.V., Polidoros A.N. and Scandalios J.G. 1998. Modulation of antioxidant responses by arsenic in maize. **Free Radical. Biol. Med.** 25, 576-585.

Myneni S.C.B., Traina S.J., Logan T.J. and Waychunas G.A. 1997. Oxyanion behaviour in alkaline environments: sorption and desorption of arsenate in ettringite. **Environ. Sci. Technol.** 31, 1761-1768.

Nag P., Paul A.K. and Mukherji S. 1981. Heavy metal effects in plant tissues involving chlorophyll, chlorophyllase, Hill reaction activity and gel electrophoretic patterns of soluble proteins. **Ind. J. Exp. Bot.** 19, 702-706.

Naqvi S.M., Vaishnavi C. and Singh H. 1994. Toxicity and metabolism of arsenic in vertebrates. p. 55-93 In Nriagu, J.O. (ed.) Arsenic in the environment. Part II: Human health and ecosystem effects. Wiley-Interscience, New-York, USA.

Neuzil E. 1990. Les oligo-éléments chez l'animal : de l'atomistique à la physiologie. C.R. Acad. Agric. Fr., 76, 61-78.

Nieboer E. and Richardson D.H.S. 1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. **Environ. Pollut.** 3-26.

Noé L., Corbisier P., Bierkens J., Diels L., Spelman N., Vangronsveld J., Clijsters H., Mergeay M. and Van Der Lelie D. 1998. The use of biological test methods to evaluate soft treatment methods for soils polluted with heavy metals. pp. 683 In: Summaries of the 16th World Congress of Soil Science, Volume II, 20-26 august 1998, Montpellier, France.

Öborn I., Jansson G. and Johnsson L. 1995. A field study on the influence of soil pH on trace element levels in spring wheat (*Triticum aestivum*), potatoes (*Slanum tuberosum*) and carrots (*Dancus carota*). **Water Air Soil Pollut.** 85, 835-840.

Oliver D.P., Tiller K.G., Conyers M.K., Slattery W.J., Alston A.M. and Merry R.H. 1996. Effectiveness of liming to minimise uptake of cadmium by wheat and barely grain grown in the field. **Aust. J. Agric. Res.** 47, 1181-1193.

Organisation Mondiale de la Santé: Evaluation de certains additifs alimentaires et des contaminants: mercure, plmob et cadmium. OMS, Genève, 1972, n° 505.

O'Neill P. 1995. Arsenic. p. 105-121 In Alloway B. J. (ed.) Heavy metals in soils, second edition. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.

Oscarson D.W., Huang P.M. and Liaw W.K. 1981. The role of manganese oxidation of arsenite by freshwater lake sediments. **Clays Clay Miner.** 29, 219-225.

Oscarson D.W., Huang P.M. and Hammer U.T. 1983. Oxidation and sorption of arsenite by manganese dioxide as influenced by surface coatings of iron and aluminium oxides and calcium carbonate. **Water Air Soil Pollut.** 20, 233-244.

Page A.L. and Chang A.C. 1978. Trace elements impact on plants during cropland disposal of sewage sludges. p. 91-96 In Proc. Fifth Nat. Conf. on Acceptable Sludge Disposal Techniques. Infromation Transfert Inc., Rockville, Maryland.

Palmer J.P., Williams K.P. and Prosser H.J. 1995. Decontamination of metal-containing soils. p. 883-893 In Van den Brink W.J., Bosman R. and Arendt F. (eds.) Contaminated Soil ' 95. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Pauling L. 1966. Chimie générale. Dunod, Paris. pp. 728.

Peryea F.J. 1991. Phosphate-induced release of arsenic from soils contaminated with lead arsenate. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 55, 1301-1306.

Peryea F.J. and Kammereck R. 1997. Phosphate-enhanced movement of arsenic out of lead arsenate contaminated topsoil and through uncontaminated subsoil. **Water Air Soil Pollut.** 93, 243-254.

Peterson P.J., Benson L.M. and Zieve R. 1981. Metalloids. p. 279-342 In Lepp N.W. (ed.) Effect of heavy metal pollution on plants. Volume 1. Effect of trace metals on plant nutrition. Applied Science Publishers, London, UK.

Philp R.B. 1995. Environmental Hazards and Human Health. Lewis Publishers, new York, pp. 306.

Pierce M.L. and Moore C.B. 1982. Adsorption of arsenite and arsenate on amorphous iron hydroxides. **Water Res.** 16, 1247-1253.

Prasad G. 1994. Removal of arsenic(V) from aqueous systems by adsorption onto some geological materials. p. 133-154 In: Nriagu J.O. (ed.) Arsenic in the environment. Part I: cycling and characterization. John Wiley and Sons, New York.

Ramanathan S., Shi W., Rosen B.P. and Dannert S. 1997. Sensing antimonite and arsenite at the subattomole level with genetically engineered bioluminescent bacteria. **Anal. Chem.** 69, 3380-3384.

Raskin I., Smith R.D. and Salt D. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. **Curr. Opin. Biotechnol.** 8, 221-226.

Rauser W.E. 1987. Changes in glutathione content of maize seedlings exposed to cadmium. **Plant Sci.** 51, 171-175.

Rauser W.E. 1990. Phytochelatins. **Annu. Rev. Biochem.** 59, 61-86.

Rebedea I. and Lepp N.W. 1994. The use of synthetic zeolites to reduce plant metal uptake and phytotoxicity in two polluted soils. p. 81-87 In Adriano D.C., Chen Z.S. and Yang S.S. (eds.) Biochemistry of Trace Elements, Science and Technology Letters, Northwood, UK.

Reddy K.R. and Parupudi U.S. 1997. Removal of chromium, nickel and cadmium from clays by *in-situ* electrokinetic remediation. **J. Soil Contam.** 6, 391-407.

Reed B.E., Carriere P.C., Thompson J.C. and Hatfield J.H. 1996. Electronic (EK) remediation of a contaminated soil at several Pb concentrations and applied voltages. **J. Soil Contam.** 5, 95-120.

Rengel Z. and Hawkesford M.J. 1997. Biosynthesis of a 34-kDa polypeptide in the root-cell plasma membrane of a Zn-efficient wheat genotype increases upon Zn deficiency. **Aust. J. Plant Physiol.** 24, 307-315.

Rivière J.L. 1998. Evaluation du risque écologique des sols pollués. Technique & Documentation, Paris, 230 p.

Roy W.R., Hassett J.J. and R.A. Griffin. 1986. Competitive coefficients for the adsorption of arsenate, molybdate, and phosphate mixtures by soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 50, 1176-1182.

Ruttens A. and Vangronsveld J. 1998. Metal immobilization in and revegetation of metal/metalloid polluted soils. p. 14-136 In Verkleij J.A.C. (ed.) Strategies for rehabilitation of metal polluted soils: in situ phytoremediation, immobilization and revegetation, a comparative study. Progress Report No 4, Environment Research Programme, Contract ENV4-CT95-0083.

Sadiq M. 1997. Arsenic chemistry in soils: an overview of thermodynamic predictions and field observations. **Water Air Soil Pollut.** 93,117-136.

Sandberg G.R. and Allen I.K. 1975. A proposed arsenic cycle in an agronomic ecosystem. p. 214-147 In Woolson E. A. (ed.) Arsenical Pesticides American Chemical Society Symposium, volume 7. American Chemical Society, Washington D.C., USA.

Santos Oliveira J.M. and Freira Ávila E.P. 1995. Avaliação do impacto químico ambiental provocado por uma exploração mineira. Um caso de estudo na Mina de Jales. **Estados, Notas e Trabalhos** 37, 25-50.

Sappin-Didier V. 1995. Utilisation de composés inorganiques pour diminuer les flux de métaux dans deux agrosystemes pollués: étude des mécanismes impliqués par l'emploi d'un composé du fer. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux I, France.

Sauerbeck D.R. and Styperek P. 1985. Evaluation of chemical methods for assessing the Cd and Zn availability from different soils and sources. p. 49-66. In Leschber R. et al. (eds.), Chemical methods for assessing bioavailable metals in sludges and soils. EUR 9538, London, Elsevier.

Sauerbeck D.R. 1991. Plant, element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. **Water Air Soil Pollut.** 57-58, 227-237.

Sauvé S., Cook N., Hendershot W.H. and McBride M.B. 1996. Linking plant tissue concentrations and soil copper pools in urban contaminated soils. **Environ. Pollut.** 94, 153-157.

Sauvé S., Dumestre A., McBride M. and Hendershot W. 1998. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb^{2+} and Cu^{2+}. **Environ. Toxicol. Chem.** 17, 1481-1489.

Schat H. and Kalff M.M.A. 1992. Are Phytochelatins involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain? **Plant Physiol.** 99, 1475-1480.

Schindler P.W. and Sposito G. 1991. Surface complexation at (hydr)oxide surfaces. p. 115-148 In Bolt, G.H., De Boodt M.F., Hayes M.H.B. and McBride M.B. (eds.) Interactions at the soil colloid-soil solution interface. Kluwer academic publishers.

Schneider A. and Morel C. 1999. Relationship between desorbed and isotopically exchanged phosphate. **Soil Sci. Soc. Am. J.** soumis

Schüepp H., Dehn B. and Sticher H. 1987. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhizen und Schwermetalbelastungen. Mycorrhiza and Plant Stress. Angew. Bot. 61, 85-95.

Schwertmann U. and Cornell R.M. 1991. Iron oxides in the laboratory. Preparation and haracterization. VCH, Weinheim, Allemagne. p. 137.

Scott M.J. 1991. Kinetics of adsorption and redox processes on iron and manganese oxides: reactions of As(III) and Se(IV) at goethite and birnessite surfaces. EQL report No. 33, California Institute of Technology, 241 pp.

Scott, J.S. and Morgan J.J. 1995. Reactions at oxide surfaces. 1. Oxidation of As(III) by synthetic birnessite. **Environ. Sci. Technol.** 29, 1898-1905.

Sery A., Manceau A. and Greaves G.N. 1996. Chemical state of Cd in apatite phosphate ores as determined by EXAFS spectroscopy. **Amer. Mineral.** 81, 864-873.

Senesi N. 1992. Metal humic substance complexes in the environment. Molecular and mechanistic aspects by multiple spectroscopic approach. In Adriano D.C. (ed.) Biochemistry of trace metals. Science and Technology Letters, Northwood, USA

Sheppard S.C. 1992. Summary of phytotoxic levels of soil arsenic. **Water Air Soil Pollut.** 64, 539-550.

Šimon T., Mikanová O. and Kubát J. 1998. The effect of addition of inorganic Ni and As compounds on the growth of radish and activities of soil microorganisms. **Rosthinná Výroba** 44, 187-192.

Sinaj S., Frossard E. and Fardeau J.C. 1997. Isotopically exchangeable phosphate in size fractionated and unfractionated soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 61, 1413-1417.

Sinaj S., Frossard E. and Mächler F. 1999. Assessment of isotopically exchangeable zinc in polluted and non polluted soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, soumis.

Singh B.R., Narwal R.P., Jeng A.S. and Almas Å. 1995. Crop uptake and extractability of cadmium in soils naturally high in metals at different pH levels. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 26, 2123-2142.

Smolders E. and McLaughlin M.J. 1996a. Effect of Cl on Cd uptake by Swiss chard in unbuffered and chelator buffered nutrient solutions. **Plant Soil** 179, 57-64.

Smolders E. and McLaughlin M.J. 1996b. Influence of chloride on Cd availability to Swiss chard: a resin buffered solution culture system. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 60, 1443-1447.

Spadini L., Manceau A., Schindler P.W. and Charlet L. 1994. Structure and stability of Cd^{2+} surface complexes on ferric oxides. **J. Colloid Interface Sci.** 168, 73-86.

Sposito G. 1981.The operational definition of the zero point of charge in soils. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 45, 292-297.

Sposito G. 1983. p. 123-170 In Thorton I. (ed.) Applied environmental geochemistry. Academic Press, London.

Staes W. and Swennen R. 1993. Arsenic pollution of soils in the Reppel area (Bree: NE-Belgium). p. 74-71 In Proceeding of the Environmental Platform, 14 may 1993.

Staessen, J., Roels H., Vangronsveld J., Clijsters H., De Schrijver K., De Temmerman L., Dondeyne F., Van Hulle S., Wildemeersch D. and Wilms L. 1995. Preventiemaatregelen voor bodemverontreiniging met cadmium. **Tijdschr voor Geneeskunde** 51, 1387-1395.

Steffens J.C. 1990. The heavy metal-binding peptides of plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 41, 553-575.

Stobart A.K., Griffits W.T., Ameen-Bukarhi I. and Sherwood, R.P. 1985. The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barely. **Physiol. Plant.** 63, 293-298.

Stumm W. 1992. Chemistry of the solid-water interface. Processes at the mineral-water and particle-water interface in natural systems. John Wiley & Sons, New York, 428 pp.

Sun X. and Doner H.E. 1996. An investigation of arsenate and arsenite bounding structures on goethite by FTIR. **Soil Sci.** 161, 865-872.

Suzuki T., Hatsushika T. and Hayakawa Y. 1981. Synthetic hydroxyapatites employed as inorganic cation-exchangers. **J. Chem. Soc. Faraday Trans.** 77, 1059-1062.

Swift R.S. and McLaren R.G. 1991. Micronutrient adsorption by soils and soil colloids. p. 257-292 In Bolt G.H., De Boodt M.F, Hayes M.H.B and McBride M.B. (eds.) Interactions at the Soil Colloid-Soil Solution Interface. NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences, Vol. 190. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Takeuchi Y. and Arai H. 1990. Removal of coexisting Pb^{2+}, Cu^{2+}, and Cd^{2+} ions from waterby addition of hydroxyapatite powder. **J. Chem. Eng. Jpn.** 23, 75-80.

Tamaki S. and Frankenberger Jr. W.T. 1992. Environmental biochemistry of arsenic. p. 79-110 In Reviews of environmental contamination and toxicology, Vol. 124, Springer-Verlag, New-York.

Ter Welle H.F. and Slater E.C. 1967. Uncoupling of respiratory-chain phosphorylation by arsenate. **Biochim. Biophys. Acta** 143, 1-17.

Thanabalasingham P. and Pickering W.F. 1986a. Effect of pH on interaction between As(III) or As(V) and mangnese(IV)oxide. **Water Air Soil Pollut.** 29, 205-216.

Thanabalasingham P. and Pickering W.F. 1986b. Arsenic sorption by humic acids. **Environ. Pollut.** 12, 233-246.

Van Assche F. and Clijsters H. 1986. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1.5-biphosphate carboxylase/oxygenase. **J Plant Physiol.** 125, 355-360.

Van Assche F. and Clijsters H. 1987. Enzyme analysis in plants as a tool for assessing phytotoxicity of heavy metal polluted soils. **Med. Fac. Landbouww Rijksuniv. Gent** 52, 1819-1824.

Van Assche F., Cardinaels C. and Clijsters H. 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-response relantions in Phaseoulus vulgaris L., treated with zinc and cadmium. **Environ. Pollut.** 52, 103-115.

Van Assche F. and Clijsters H. 1990a. Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant Cell Environ.** 13, 195-206.

Van Assche F. and Clijsters H. 1990b. A biological test system for the evaluation of the phytotoxicity of metal-contaminated soils. **Environ. Pollut.** 66, 157-172.

Van Assche F., Vangronsveld J. and Clijsters H. 1990. Physiological aspects of metal toxicity in plants. p. 246-250. In Barcelo J. (ed.), Environmental Contamination, CEP Consultants, Edinburgh.

Van Benschoten J.E., Matsumoto M.R. and William H.Y. 1997. Evaluation and analysis of soil washing for seven lead-contaminated soils. **J. Environ. Eng.** 123, 217-224.

Van der Lelie D., Corbisier P., Baeyens W., Wuertz S., Diels L. and Mergeay M. 1994. The use of biosensors for environmental monitoring. **Res. Microbiol.** 145, 67-74.

Vangronsveld J., Van Assche F. and Clijsters H. 1990.Immobilization of heavy metals in polluted soils by application of a modified alumino-silicate: biological evaluation. In Barcelo J. (ed.), Environmental Contamination. CEP Consultants, Edinburgh.

Vangronsveld J., Cammaer C., Van Assche F. and Clijsters H. 1991. Reclamation of a 'desert like' site in the north east of Belgium: evolution of the metal pollution and experiments *in situ*. p. 58-61. In Farmer J.G. (ed.), 8th International Conference Heavy metals in the Environment. CEP Consultants, Edinbourgh, GB.

Vangronsveld J. and Clijsters H. 1992. A biological test system for the evaluation of metal phytotoxicity and immobilization by additives in metal contaminated soils. p. 117-125 In Merian E. and Haerdi W. (eds.) Metal Compounds in Environment and Life, 4 (Interrelation Between Chemistry and Biology) Science and Technology Letters, Northwood, UK.

Vangronsveld J., Carleer R. and Clijsters H. 1994. Transfer of metals and metalloids from soil to man through vegetables cultivated in polluted gardens: risk assessment and methods for immobilization of these elements in soils. p. 142-145. In Varnavas S.P. (ed.), Environmental contamination, CEP Consultants, Edinburg, GB.

Vangronsveld J., Sterckx J., Van Assche F. and Clijsters H. 1995a. Rehabilitation studies on an old on-ferrous waste dumping ground: effects of revegetation and immobilization by beringite. **Geochem. Expl.** 52, 221-229.

Vangronsveld J., Van Assche F. and Clijsters H. 1995b. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: *in-situ* metal immobilization and revegetation. **Environ. Pollut.** 87, 51-59.

Vangronsveld J., Colpaert J.V. and Van Tichelen K.K. 1996. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. **Environ. Pollut.** 94, 131-140.

Vangronsveld J, Ruttens A. and Clijsters H. 1998. The use of cyclonic ashes of fluidized bed burning coal mine refuse for immobilization of metals in soils. In Sajwan K. S., Keefer R.F. and Alva A.K. (eds.) Trace elements in coal and coal combustion residues. CRC/Lewis Publishers, submitted.

Vangronsveld J. 1998a. Case studies in the field - Arsenic contaminated kitchen gardens. p. 227-228 In Vangronsveld J. and Cunningham S. (eds.) In situ inactivation and phytorestoration of metal-contaminated soils. Springer Verlag and R.G. Landes Company, New-York.

Vangronsveld J. 1998b. Case studies in the field – Zn, Cd, Pb contaminated kitchen gardens. p. 219-225 In Vangronsveld J. and Cunningham S. (eds.) In situ inactivation and phytorestoration of metal-contaminated soils. Springer Verlag and R.G. Landes Company, New-York.

Vangronsveld J., Mench M., Lepp N.W., Boisson J., Ruttens A., Edwards R., Penny C. and Van der Lelie D. 1999. In situ inactivation and phytoremediation of metal/metalloid contaminated soils: field experiments. In Wise D.L., Trantolo D.J., Inyang H.I., Stottmeister U. and Cichon E.J. (eds.) Remediation of hazardous waste contaminated soils, 2nd edition, Marcel Dekker, sous presse.

Verkleij J.A.C. and Schat H. 1996. Fytoremediatie 'in situ': een veelbelovende techniek om verontreinigde bodems et saneren. **Bodem** 146-148.

Waalkens M.P., Rehm S., Perantoni A.O. and Coogan T.P. 1992a. Cadmium exposure in rats and tumours of the prostate. p. 391-400 In Nordberg G.F., Herber R.F.M. and Alessio L. (eds.). Cadmium in the human environment: toxicity and carcinogenicity. IARC Scientific Publications No. 118, Lyon, France.

Waalkens M.P., Rehm S., Sass B. and Ward J.M. 1992b. Induction of tumours of the haematopoietic system by cadmium in rats. p. 401-404 In Nordberg G.F., Herber R.F.M. and Alessio L. (eds.). Cadmium in the human environment: toxicity and carcinogenicity. IARC Scientific Publications No. 118, Lyon, France.

Walsh L.M. and Keeney D.R. 1975. Behaviour and phytotoxicity of inorganic arsenicals in soils. p. 35-52 In Woolson E.A. (ed.) Arsenical pesticides american chemical society symposium, volume 7. American Chemical Society, Washington D.C., USA.

Wang Z. et Rossmann T.G. 1996. The carcinogenicity of arsenic. P. 221-230 In Chang L.W., Magos L. and Suzuki T. (eds.) Toxicology of metals. Lewis Publishers, New York.

Wang P., Qu E., Zhenbin L. and Shuman L.M. 1997. Fractions and availability of nickel in loessial soil amended with sewage or sewage sludge. **J. Environ. Qual.** 26, 795-801.

Wauchope R.D. 1983. Uptake, translocation and phytotoxicity of arsenic in plants. In Ledere W.H. and Fensterheim R.J. (eds.) Arsenic. Van Nostrand Reinhold Company, New-York, USA.

Waychunas G.A., Rea B.A., Fuller C.C. and Davis J.A. 1993. Surface chemistry of ferrihydrite: Part I. EXAFS studies of the geometry of coprecipitated and adsorbed arsenate. **Geochim. Cosmochim. Acta** 57, 2251-2269.

Webb J.L. 1966. Enzyme and metabolic inhibitors, Vol III. Academic Press, New York

Weissenhorn I., Mench M. and Leyval C. 1995a. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage-sludge-amended sandy soil. **Soil Biol. Biochem.** 27, 287-296.

Weissenhorn I. and Leyval C. 1995b. Root colonization of maize by a Cd-sensitive and a Cd-tolerant Glomu mossae and cadmium uptake in sand culture. **Plant Soil** 175, 233-238.

Wessolek G. and Fahrenhorst C. 1994. Immobilization of heavy metlas in a polluted soil of a sewage farm by application of a modified alumino-silicate: a laboratory and numerical displacement study. **Soil Technol.** 7, 221-232.

Woolson E. A., Axley J.H. and Kearny P.C. 1971a. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods, and response of corn (*Zea mays* L.). **Soil Sci. Soc. Amer. Proc.** 35, 101-105.

Woolson E. A., Axley J.H. and Kearny P.C. 1971b. The chemistry and phytotoxicity of arsenic in soils: I. Contaminated field soils. **Soil Sci. Soc. Amer. Proc.** 35, 938-943.

Woolson E.A. 1972. Effects of fertiliser materials and combinations on the phytotoxicity, availability and content of arsenic in corn (maize). **J. Sci. Fd. Agric.** 23, 1477-1481.

Woolson E.A., Axely J.H. and Kearny P.C. 1973. The chemistry and phytotoxicity of arsenic in soils: effects of time and phosphorus. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 37, 254-259.

World Health Organization. 1981. Environmental health criteria 18: Arsenic. WHO, Geneva.

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

Xu Y., Schwartz F. W. and Traina S. J. 1994. Sorption of Zn2+ and Cd2+ on hydroxyapatite surfaces. **Environ. Sci. Tecnol** 28, 1472-1480.

Yamauchi H. and Fowler B.A. 1994. Toxicity and metabolism ofinorganic and methylated arsenic species. p. 35-53 In Nriagu J.O. (ed.) Arsenic in the environment. Part II: Human health and ecosystem effects. Wiley-Interscience, New-York, USA.

ANNEXES

ANNEXE 1

COMPOSITION ELEMENTAIRE DES TROISIEME FEUILLES ET RACINES DU MAIS

La valeur moyenne de deux répétitions et leur intervalle de confiance à 95 % sont donnés dans les tableaux suivants (< l.t.: valeur en dessous de la limite de travail).

CADMIUM (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	19,20	41,25 (6,76)	0,37 (0,01)	23,65 (3,42)
MH			0,39 (0,01)	24,85 (5,97)
MN			0,45 (0,09)	24,4 (0,39)
GA	16,40 (2,35)	39,60 (1,96)	0,28 (0,03)	2,56 (0,89)
B	4,74 (0,77)	37,30 (0,78)	0,54 (0,10)	0,77 (0,01)
GAB	3,17 (0,37)	21,75 (3,04)	0,33 (0,01)	2,82 (2,40)
HA 0,5	1,63 (0,24)			
HA 1	0,88 (0,06)			
HA 5	0,10 (0,01)			
Racines				
NT	98,60 (14,5)	297,50	1,87 (0,33)	40,7 (0,58)
MH			2,10 (0,08)	46,75 (2,45)
MN			2,20 (0,16)	52,95 (6,76)
GA	30,55 (1,67)	175,50	1,94 (0,01)	3,53 (1,29)
B	45,20 (4,90)	214,50	2,88 (0,45)	3,48 (0,08)
GAB	23,50 (0,78)	142,50	1,92 (0,02)	2,25 (0,35)
HA 0,5	16,50 (0,59)			
HA 1	12,80 (1,18)			
HA 5	1,84 (0,13)			

NICKEL (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	0,29 (0,56)	< l.t.	< l.t.	< l.t.
MH			< l.t.	< l.t.
MN			< l.t.	< l.t.
GA	< l.t.	< l.t.	< l.t.	< l.t.
B	< l.t.	< l.t.	< l.t.	< l.t.
GAB	< l.t.	< l.t.	< l.t.	< l.t.
HA 0,5	< l.t.			
HA 1	< l.t.			
HA 5	< l.t.			
Racines				
NT	52,35 (4,80)	18,50 (0,20)	4,55 (0,12)	8,66 (0,89)
MH			6,11 (0,60)	12,1 (0,19)
MN			6,41 (0,45)	10,05 (1,29)
GA	79,20 (13,72)	36,00 (1,37)	11,45 (0,10)	47,15 (4,60)
B	4,05 (2,49)	10,80 (2,17)	7,15 (1,25)	2,19 (0,21)
GAB	13,40 (2,94)	16,85 (0,10)	11,75 (1,27)	6,22 (0,39)
HA 0,5	31,40 (0,20)			
HA 1	28,85 (2,45)			
HA 5	4,76 (1,18)			

CUIVRE (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	10,20	5,77 (1,31)	5,34 (0,12)	13,0 (0,58)
MH			4,38 (0,18)	10,9 (7,65)
MN			5,27 (0,16)	11,2 (0,79)
GA	50,90 (0,78)	10,12 (0,35)	5,43 (1,71)	21,8 (1,57)
B	17,65 (2,84)	20,40 (4,12)	6,60 (1,65)	4,09 (6,04)
GAB	14,55 (6,96)	21,70 (0,98)	5,91 (0,57)	0,37 (0,73)
HA 0,5	13,30 (4,12)			
HA 1	9,80 (4,31)			
HA 5	2,89 (0,77)			
Racines				
NT	414,00 (60,76)	380,00 (1,96)	19,65 (1,27)	236,5 (2,94)
MH			22,50 (0,39)	290,5 (36,26)
MN			24,20 (1,18)	292,0 (19,60)
GA	225,50 (0,98)	376,50 (65,66)	18,20 (2,16)	41,1 (4,70)
B	208,50 (24,50)	448,00 (182,28)	27,80 (6,27)	21,5 (4,31)
GAB	129,50 (2,94)	585,50 (116,62)	19,50 (0,98)	19,2 (0,19)
HA 0,5	227,50 (4,90)			
HA 1	210,50 (16,66)			
HA 5	147,50 (36,26)			

ZINC (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	1770	800,50 (177,38)	17,60 (1,96)	902,5 (269,49)
MH			23,85 (1,47)	1052 (211,68)
MN			26,45 (4,80)	934,5 (38,22)
GA	622 (43,12)	1019,00 (80,36)	24,20 (4,31)	38,75 (2,76)
B	185 (19,60)	701,00 (58,80)	33,70 (4,90)	46,55 (4,80)
GAB	73 (9,31)	328,50 (18,62)	25,65 (2,84)	42,15 (12,83)
HA 0,5	690 (117,60)			
HA 1	267 (54,88)			
HA 5	65 (37,93)			
Racines				
NT	9880 (627,19)	9625,00 (323,39)	46,60 (9,80)	3735 (166,60)
MH			52,55 (8,53)	4495 (205,79)
MN			51,85 (3,82)	4635 (343,00)
GA	2265 (225,40)	8215,00 (1107,38)	54,85 (7,15)	135 (37,24)
B	466,50 (6,86)	4465,00 (911,38)	41,00 (6,66)	155 (47,04)
GAB	585,00 (64,68)	4325,00 (323,39)	39,05 (2,25)	95,95 (17,74)
HA 0,5	3575,00 (303,79)			
HA 1	2055 (166,6)			
HA 5	205,5 (61,74)			

PLOMB (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	5,94	4,87 (1,14)	< l.t.	< l.t.
MH			< l.t.	< l.t.
MN			< l.t.	< l.t.
GA	100,05 (21,46)	11,40 (0,98)	< l.t.	< l.t.
B	6,85 (1,08)	19,95 (0,10)	< l.t.	< l.t.
GAB	4,29 (2,36)	12,85 (0,10)	< l.t.	< l.t.
HA 0,5	1,12 (0,24)			
HA 1	2,68 (2,56)			
HA 5	1,70 (0,31)			
Racines				
NT	402,50 (95,06)	531,50 (12,74)	3,40 (0,66)	81,2 (3,13)
MH			3,77 (0,88)	57,6 (5,49)
MN			3,23 (0,35)	57,3 (21,16)
GA	465,50 (0,98)	605,50 (93,10)	8,33 (2,11)	98,9 (19,79)
B	119,50 (22,54)	771,00 (488,03)	7,77 (7,91)	85,8 (15,88)
GAB	248,50 (18,62)	1065,00 (29,40)	7,23 (1,73)	84,65 (7,75)
HA 0,5	99,70 (24,11)			
HA 1	94,40 (12,94)			
HA 5	76,70 (44,10)			

ARSENIC (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	0,31	0,27 (0,52)	5,89 (1,19)	< l.t.
MH			1,78 (0,56)	< l.t.
MN			1,48 (0,17)	< l.t.
GA	0,44 (0,04)	0,52 (0,28)	4,95 (5,31)	< l.t.
B	0,51 (0,15)	0,53 (0,05)	0,87 (0,29)	< l.t.
GAB	0,76 (0,48)	0,25 (0,19)	0,48 (0,09)	< l.t.
HA 0,5	2,36 (0,69)			
HA 1	1,38 (0,14)			
HA 5	0,63 (0,05)			
Racines				
NT	6,89 (0,23)	12,50 (0,98)	403,0 (29,40)	777,50 (30,38)
MH			328,5 (8,82)	363,00 (72,52)
MN			311,5 (34,30)	586,50 (159,74)
GA	17,50 (2,16)	17,55 (12,05)	79,8 (0,00)	1160,00 (156,80)
B	17,25 (1,27)	49,70 (14,11)	171,0 (31,36)	785,50 (98,98)
GAB	37,40 (13,13)	64,30 (3,92)	59,6 (7,06)	738,50 (32,33)
HA 0,5	51,15 (5,00)			
HA 1	68,10 (3,72)			
HA 5	114,50 (0,98)			

CALCIUM (g kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	2,45	5,03 (0,40)	2,08 (0,00)	2,17 (0,53)
MH			2,48 (0,08)	2,55 (0,24)
MN			3,44 (0,24)	2,26 (0,06)
GA	1,52 (0,20)	4,71 (0,22)	3,51 (0,39)	1,56 (0,04)
B	4,49 (0,31)	5,67 (0,50)	4,64 (1,40)	2,87 (0,42)
GAB	6,63 (2,99)	5,72 (0,60)	4,34 (0,82)	3,19 (0,29)
HA 0,5	3,39 (0,69)			
HA 1	2,16 (0,24)			
HA 5	0,68 (0,23)			
Racines				
NT	1,47 (0,08)	4,84 (0,11)	2,19 (0,99)	2,67 (0,04)
MH			2,91 (0,15)	2,87 (0,18)
MN			3,69 (0,29)	2,92 (0,11)
GA	0,71 (0,07)	4,79 (0,02)	2,33 (0,20)	1,48 (0,08)
B	7,96 (1,12)	9,53 (1,31)	5,75 (0,44)	6,77 (0,57)
GAB	3,98 (0,28)	6,65 (0,08)	4,96 (0,23)	5,2 (0,01)
HA 0,5	3,94 (0,06)			
HA 1	4,06 (0,09)			
HA 5	4,39 (1,74)			

PHOSPHORE (g kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	2,86	1,80 (0,16)	2,17 (0,07)	1,00 (0,19)
MH			1,78 (0,01)	0,99 (0,03)
MN			1,44 (0,02)	0,99 (0,01)
GA	1,92 (0,26)	1,47 (0,14)	1,48 (0,18)	1,28 (0,03)
B	0,82 (0,06)	0,88 (0,06)	1,15 (0,07)	0,73 (0,03)
GAB	0,99 (0,06)	0,82 (0,04)	1,03 (0,00)	0,72 (0,01)
HA 0,5	1,76 (0,12)			
HA 1	3,18 (0,11)			
HA 5	4,66 (0,07)			
Racines				
NT	2,96 (0,32)	2,51 (0,23)	2,15 (0,02)	1,69 (0,06)
MH			2,34 (0,00)	1,73 (0,01)
MN			2,15 (0,04)	1,7 (0,06)
GA	2,22 (0,00)	1,95 (0,05)	1,70 (0,18)	1,41 (0,08)
B	1,06 (0,11)	0,99 (0,08)	1,84 (0,15)	1,03 (0,04)
GAB	0,96 (0,07)	1,01 (0,05)	1,56 (0,00)	1,03 (0,11)
HA 0,5	2,47 (0,06)			
HA 1	4,08 (0,17)			
HA 5	5,89 (0,90)			

FER (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	75,8	53,97 (15,00)	30,25 (1,47)	50,45 (15,08)
MH			36,70 (1,96)	57,85 (20,08)
MN			46,65 (1,67)	57,10 (9,80)
GA	270,5 (53,9)	24,95 (1,47)	52,35 (11,27)	150 (7,84)
B	43,8 (5,88)	31,75 (0,10)	57,10 (11,37)	73,15 (0,10)
GAB	38,35 (2,84)	39,25 (0,88)	54,40 (4,51)	79,35 (20,87)
HA 0,5	35,15 (1,08)			
HA 1	24,65 (5,39)			
HA 5	41,20 (18,82)			
Racines				
NT	643 (72,52)	666 (1,96)	706,50 (181,30)	2895 (49,01)
MH			1755,00 (401,79)	5010 (568,39)
MN			1175,00 (186,20)	4370 (1509,16)
GA	3405 (774,18)	1880 (215,60)	4115,00 (1754,17)	8715 (1420,97)
B	1020 (411,59)	2960 (2018,76)	910,00 (274,39)	3480 (509,60)
GAB	12600 (1959,96)	9415 (9,80)	4295,00 (245,00)	6995 (264,60)
HA 0,5	890 (274,39)			
HA 1	966 (66,64)			
HA 5	830,5 (489,01)			

POTASSIUM (g kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	22,2	26,10 (0,59)	35,10 (0,20)	25,15 (2,65)
MH			38,30 (0,59)	28,05 (4,60)
MN			34,60 (0,59)	24,15 (2,65)
GA	16,75 (2,84)	24,05 (0,88)	32,45 (2,65)	30,60 (0,98)
B	19,00 (1,76)	25,10 (0,20)	39,95 (2,06)	29,00 (2,16)
GAB	23,95 (9,11)	23,05 (0,29)	35,35 (1,86)	34,30 (8,62)
HA 0,5	11,15 (0,10)			
HA 1	9,76 (0,68)			
HA 5	10,60 (0,20)			
Racines				
NT	8,12 (3,61)	8,09 (0,61)	22,75 (1,67)	15,50 (1,37)
MH			23,35 (0,49)	16,85 (0,49)
MN			19,30 (0,78)	17,70 (0,19)
GA	11,25 (0,10)	9,57 (0,11)	21,05 (1,47)	15,45 (0,49)
B	10,75 (0,49)	10,01 (0,97)	23,90 (4,31)	12,70 (0,39)
GAB	10,81 (2,53)	9,17 (0,66)	27,30 (3,33)	14,55 (1,47)
HA 0,5	7,26 (0,05)			
HA 1	7,47 (0,22)			
HA 5	6,56 (0,37)			

MANGANESE (mg kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	231	79,15 (31,26)	17,40 (1,37)	390,00 (186,20)
MH			16,75 (3,63)	465,00 (127,30)
MN			20,80 (3,33)	466,50 (22,53)
GA	1310 (58,80)	493,00 (154,88)	47,75 (4,21)	456,50 (40,18)
B	120 (23,52)	66,50 (9,60)	31,65 (6,76)	53,20 (9,22)
GAB	160.5 (100.94)	130,50 (6,86)	47,60 (2,55)	69,95 (18,32)
HA 0,5	35,5 (5,68)			
HA 1	36,95 (4,41)			
HA 5	5,56 (0,84)			
Racines				
NT	129,00 (19,60)	110,00 (15,68)	33,15 (3,82)	257 (1,95)
MH			33,45 (3,82)	297,5 (8,81)
MN			30,85 (2,45)	286 (1,95)
GA	674,00 (0,00)	814,00 (13,72)	122,50 (34,30)	304,5 (12,74)
B	158,50 (22,54)	94,85 (27,73)	48,20 (8,62)	130 (0,00)
GAB	607,50 (57,82)	363,00 (27,44)	151,00 (29,40)	186,5 (0,98)
HA 0,5	35,40 (20,58)			
HA 1	30,10 (1,57)			
HA 5	23,15 (14,21)			

MAGNESIUM (g kg^{-1} MS)

	Ov1	Ov2	Rep1	Port
Troisième feuille				
NT	1,56	1,19 (0,12)	1,71 (0,12)	1,46 (0,30)
MH			1,81 (0,06)	1,68 (0,06)
MN			2,24 (0,14)	1,48 (0,03)
GA	0,97 (0,14)	1,30 (0,00)	1,90 (0,30)	1,77 (0,03)
B	3,68 (0,39)	3,95 (0,14)	2,75 (0,11)	2,46 (0,71)
GAB	4,01 (1,13)	3,68 (0,14)	2,12 (0,32)	2,81 (0,16)
HA 0,5	1,08 (0,07)			
HA 1	0,93 (0,03)			
HA 5	0,63 (0,02)			
Racines				
NT	0,96 (0,09)	1,15 (0,05)	2,19 (0,01)	2,78 (0,14)
MH			2,91 (0,19)	3,12 (0,03)
MN			3,69 (0,01)	3,22 (0,03)
GA	0,63 (0,00)	1,46 (0,04)	2,33 (0,04)	1,25 (0,00)
B	11,65 (1,27)	10,85 (1,27)	5,75 (0,25)	8,71 (1,22)
GAB	7,39 (0,02)	7,94 (0,73)	4,96 (0,61)	6,14 (0,17)
HA 0,5	0,90 (0,07)			
HA 1	0,89 (0,04)			
HA 5	0,57 (0,11)			

ANNEXE 2

MATIERE FRAICHE ET MATIERE SECHE DES PARTIES AERIENNES, TROISIEMES FEUILLES ET RACINES DU MAIS

La matière fraîche et la matière sèche sont exprimées en g par vase de végétation (valeur moyenne de deux répétitions et leur intervalle de confiance à 95 %)

Matière fraiche (MF) et matière sèche (MS)des parties aériennes

Sol	Overpelt 1	Overpelt 2	Reppel 1	Reppel 2	Port	Ref
MF						
NT	4,12 (0,64)	5,76 (0,26)	19,62 (0,11)	0,49 (0,12)	12,38 (0,71)	26,51 (3,15)
MH			21,41 (0,77)	0,46 (0,08)	12,19 (1,84)	
MN			23,26 (0,61)	0,43 (0,16)	11,83 (0,12)	
GA	4,78 (0,06)	8,38 (0,04)	21,50 (1,85)	0,64 (0,14)	11,79 (0,57)	
B	16,05 (2,33)	16,65 (0,86)	23,53 (1,96)	1,81 (0,02)	18,83 (1,22)	
GAB	13,23 (1,00)	15,19 (0,90)	24,89 (1,61)	3,40 (0,25)	16,79 (2,61)	
HA 0,5	12,80 (1,20)					
HA 1	18,15 (0,29)					
HA 5	10,70 (0,30)					
MS						
NT	0,57 (0,01)	0,76 (0,04)	2,62 (0,18)	0,16 (0,03)	1,64 (0,07)	2,63 (0,34)
MH	0,66 (0,00		2,69 (0,14)	0,14 (0,00)	1,63 (0,36)	
MN			3,23 (0,14)	0,15 (0,07)	1,61 (0,03)	
GA			2,71 (0,28)	0,24 (0,01)	1,29 (0,08)	
B	2,41 (0,35)	1,08 (0,02)	2,92 (0,08)	0,39 (0,04)	2,36 (0,14)	
GAB	1,84 (0,19)	1,93 (0,10)	3,14 (0,13)	0,51 (0,09)	1,99 (0,33)	
HA 0,5	1,86 (0,14)	1,96 (0,24)				
HA 1	2,38 (0,06)					
HA 5	1,35 (0,13)					

Matière fraiche (MF) et matière sèche (MS)des troisièmes feuilles

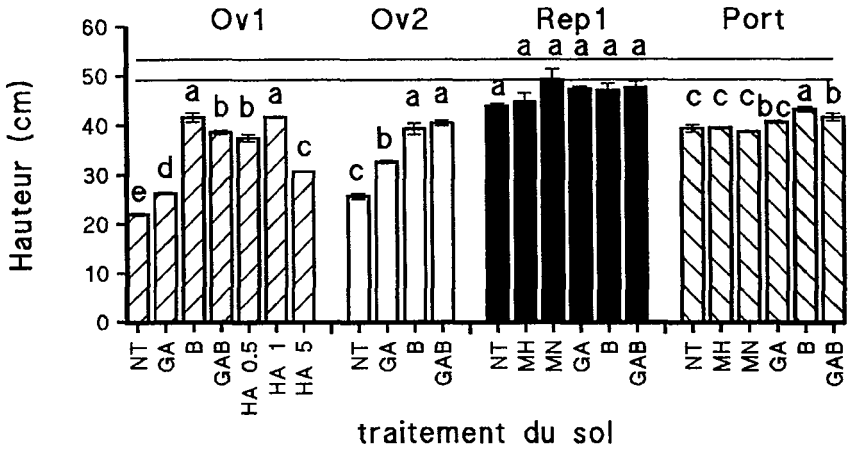
Sol	Overpelt 1	Overpelt 2	Reppel 1	Port	Ref
MF					
NT	0,95 (0,08)	1,31 (0,08)	3,99 (0,07)	2,76 (0,24)	4,35 (0,39)
MH			3,82 (0,42)	2,57 (0,44)	
MN			4,05 (0,45)	2,56 (0,03)	
GA	1,10 (0,08)	1,87 (0,03)	3,69 (0,22)	2,36 (0,07)	
B	3,13 (0,30)	3,05 (0,16)	4,00 (0,05)	3,65 (0,29)	
GAB	2,40 (0,32)	2,72 (0,10)	4,01 (0,14)	3,17 (0,28)	
HA 0,5	2,55 (0,29)				
HA 1	3,38 (0,05)				
HA 5	2,20 (0,10)				
MS					
NT	0,13 (0,02)	0,18 (0,02)	0,57 (0,02)	0,41 (0,04)	0,56 (0,06)
MH			0,52 (0,06)	0,38 (0,11)	
MN			0,57 (0,08)	0,40 (0,02)	
GA	0,18 (0,00)	0,27 (0,01)	0,55 (0,03)	0,32 (0,02)	
B	0,55 (0,07)	0,46 (0,02)	0,59 (0,02)	0,54 (0,05)	
GAB	0,41 (0,08)	0,40 (0,08)	0,59 (0,03)	0,42 (0,05)	
HA 0,5	0,43 (0,03)				
HA 1	0,50 (0,01)				
HA 5	0,32 (0,02)				

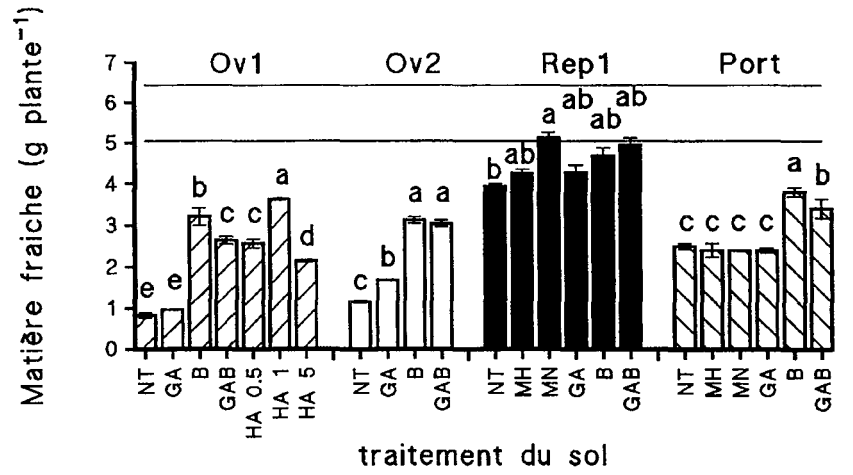
Matière fraiche (MF) et matière sèche (MS)des racines

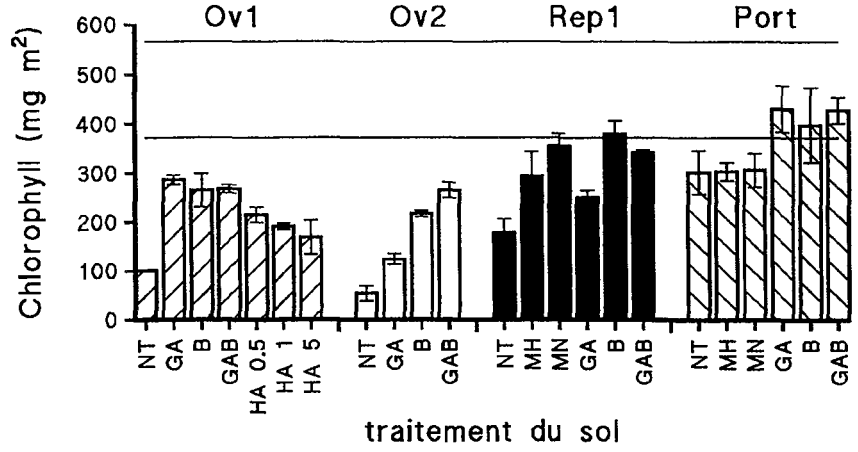
Sol	Overpelt 1	Overpelt 2	Reppel 1	Port	Ref
MF					
NT	1,91 (0,49)	3,84 (0,18)	7,85 (1,40)	6,84 (0,25)	11,95 (1,36)
MH			8,65 (1,22)	6,75 (1,28)	
MN			10,57 (0,35)	5,48 (0,03)	
GA	5,43 (0,08)	5,48 (0,29)	9,61 (2,35)	8,39 (0,42)	
B	10,32 (2,49)	14,55 (1,29)	10,61 (0,09)	14,13 (0,82)	
GAB	11,48 (1,28)	12,64 (0,40)	13,86 (0,34)	12,59 (1,77)	
HA 0,5	8,94 (1,47)				
HA 1	11,54 (0,53)				
HA 5	4,80 (0,69)				
MS					
NT	0,23 (0,09)	0,44 (0,04)	0,70 (0,03)	0,81 (0,07)	0,79 (0,08)
MH			0,69 (0,05)	0,71 (0,13)	
MN			0,88 (0,02)	0,60 (0,02)	
GA	0,48 (0,06)	0,52 (0,00)	0,83 (0,24)	0,85 (0,04)	
B	0,89 (0,19)	1,16 (0,00)	0,85 (0,06)	1,42 (0,23)	
GAB	1,11 (0,26)	1,25 (0,15)	1,04 (0,04)	1,35 (0,16)	
HA 0,5	0,68 (0,10)				
HA 1	0,83 (0,15)				
HA 5	0,35 (0,10)				

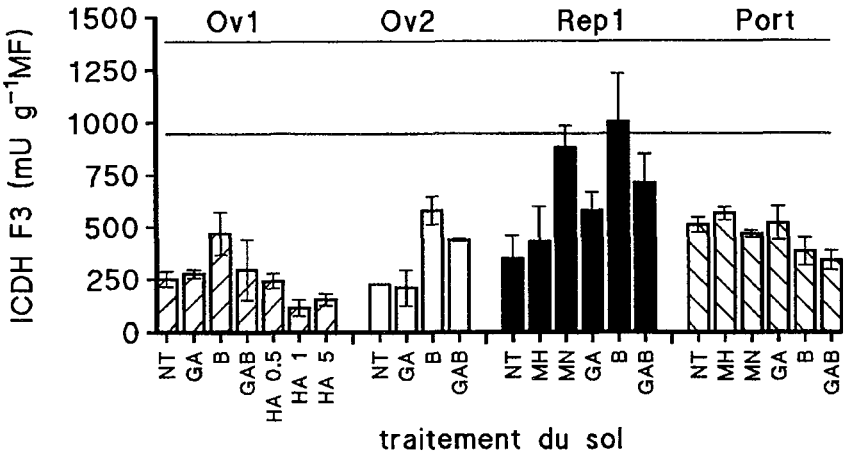
ANNEXE 3

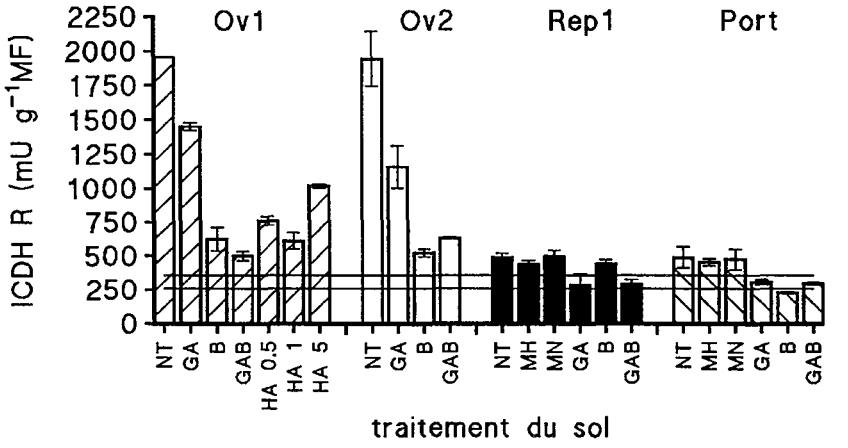
HAUTEUR ET MASSE DES PARTIES AERIENNES, CHLOROPHYLLE DANS F3 ET ACTIVITES ENZYMATIQUES

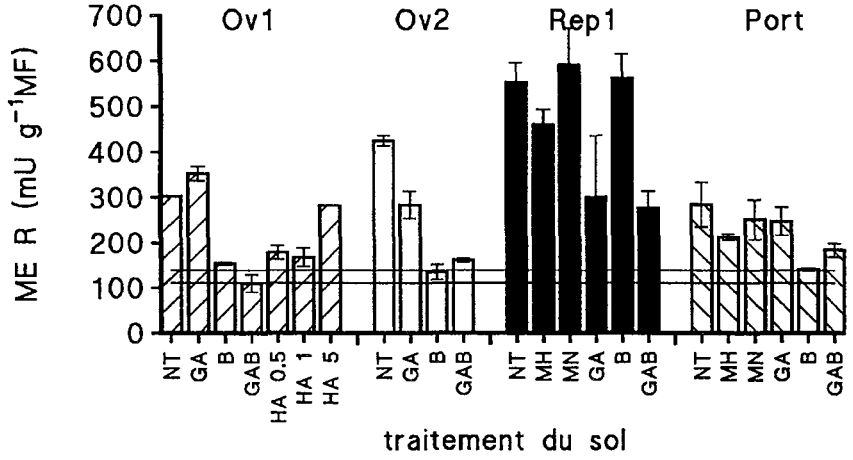


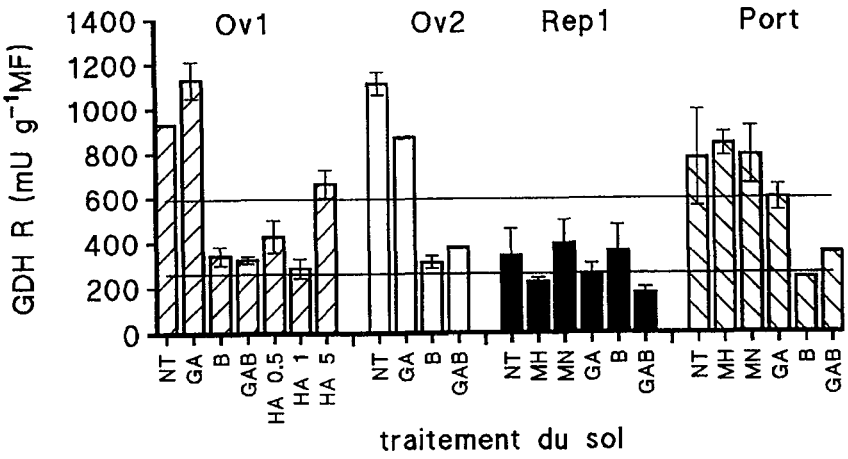


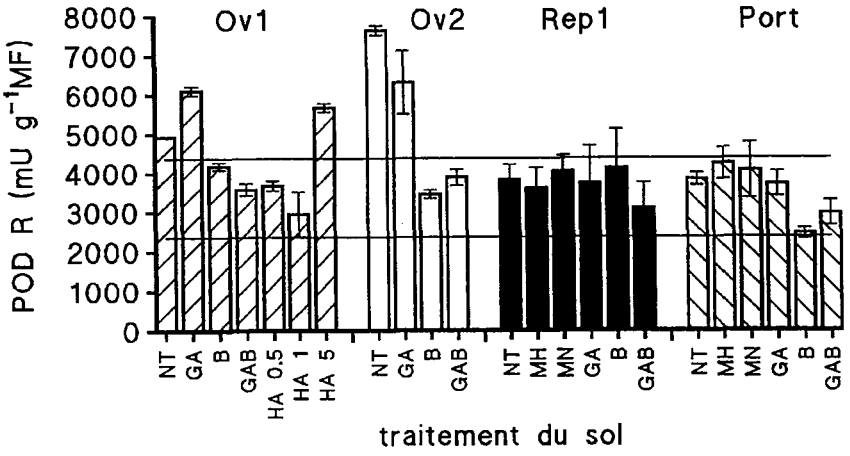


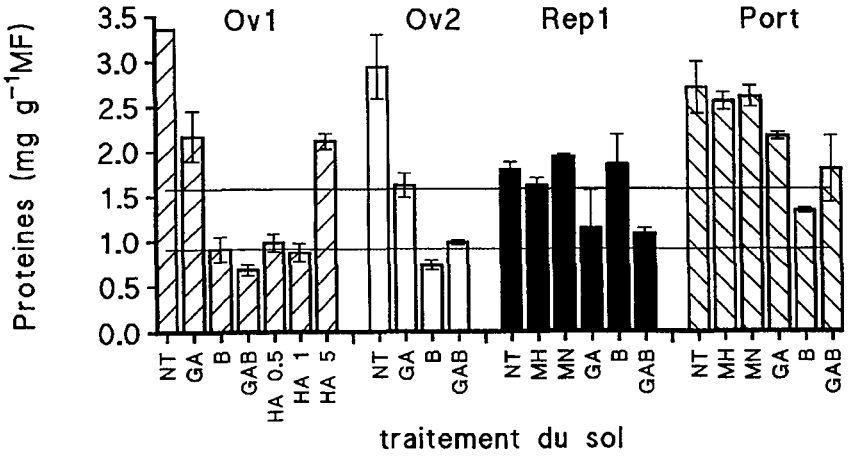

ICDH F3 (mU g-1MF)
1500
1250
1000
750
500
250
0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT GA B GAB HA 0.5 HA 1 HA 5
NT GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
traitement du sol


ICDH R (mU g-1MF)
2250
2000
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT GA B GAB HA 0.5 HA 1 HA 5
NT GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
traitement du sol


ME R (mU g-1MF)
700
600
500
400
300
200
100
0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT GA B GAB HA 0.5 HA 1 HA 5
NT GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
NT MH MN GA B GAB
traitement du sol


GDH R (mU g-1MF)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT
GA
B
GAB
HA 0.5
HA 1
HA 5
MH
MN
traitement du sol


POD R (mU g-1MF)
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT
GA
B
GAB
HA 0.5
HA 1
HA 5
MH
MN
traitement du sol


Proteines (mg g-1MF)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Ov1
Ov2
Rep1
Port
NT
GA
B
GAB
HA 0.5
HA 1
HA 5
MH
MN
traitement du sol

ANNEXE 4

MATIERE FRAICHE ET MATIERE SECHE DES PLANTES DE MAIS ET DE RADIS CULTIVEES SUR LES LYSIMETRES

La matière fraîche et la matière sèche sont exprimées en g par plante (moyenne + intervalle de confiance à 95 %),

Sol	MF	MS	Quantité de plantes
Parties aériennes du maïs cultivé en 1997			
Référence	62,22 (0,96)	5,73 (0,19)	15
Reppel NT	49,21 (1,01)	7,14 (0,71)	15
Reppel GA	49,06 (1,14)	5,46 (0,55)	16
Reppel B	52,73 (1,77)	6,77 (0,79)	16
Reppel GAB	46,43 (2,22)	5,52 (0,40)	16
Parties aériennes du maïs cultivé en 1998			
Référence	81,05 (5,28)	5,96 (0,10)	19
Reppel NT	71,19 (0,40)	5,96 (0,20)	19
Reppel GA	74,91 (1,91)	5,80 (0,06)	19
Reppel B	86,30 (5,63)	5,73 (0,05)	18
Reppel GAB	78,24 (0,97)	6,16 (0,09)	20
Parties aériennes du radis			
Référence	7,01 (0,23)	0,35 (0,011)	90
Reppel NT	6,27 (0,20)	0,30 (0,013)	96
Reppel GA	7,13 (0,10)	0,33 (0,009)	97
Reppel B	6,29 (0,01)	0,32 (0,005)	94
Reppel GAB	6,97 (0,28)	0,32 (0,012)	91
Racines du radis			
Référence	1,95 (0,02)	0,10 (0,001)	90
Reppel NT	3,00 (0,25)	0,14 (0,011)	96
Reppel GA	3,24 (0,11)	0,14 (0,003)	97
Reppel B	2,74 (0,03)	0,13 (0,003)	94
Reppel GAB	3,24 (0,26)	0,15 (0,011)	91

ANNEXE 5

CONCENTRATION EN ELEMENTS NUTRITIFS DANS LES PLANTES DE MAIS ET DE RADIS CULTIVEES SUR LES LYSIMETRES

La concentration est exprimée en g kg^{-1} MS (moyenne + intervalle de confiance à 95 %, < l,t,:valeur en dessous de la limite de travail).

Troisième feuille du maïs cultivé en 1997

Sol	Ca	Fe	Mg	Mn	P	K
Référence	13,19 (3,68)	0,11 (0,02)	4,06 (0,36)	0,13 (0,02)	2,79 (1,33)	33,72 (7,30)
Reppel NT	10,44 (0,49)	0,07 (0,01)	4,59 (0,22)	0,08 (0,05)	1,91 (0,11)	41,38 (0,91)
Reppel GA	11,40 (0,49)	0,08 (0,00)	4,03 (0,42)	0,64 (0,96)	2,54 (0,25)	43,80 (4,60)
Reppel B	13,74 (1,76)	0,08 (0,00)	4,52 (0,30)	0,07 (0,06)	1,88 (0,24)	38,10 (0,42)
Reppel GAB	13,30 (0,75)	0,09 (0,00)	3,90 (0,24)	0,03 (0,01)	1,92 (0,76)	39,80 (4,98)

Racines du maïs cultivé en 1997

Sol						
Référence	3,63 (0,22)	0,14 (0,06)	1,47 (0,05)	< l,t,	1,50 (0,30)	21,99 (3,88)
Reppel NT	2,09 (0,06)	0,31 (0,06)	1,03 (0,04)		1,37 (1,05)	24,10 (4,97)
Reppel GA	1,80 (0,00)	0,49 (0,02)	0,94 (0,10)		1,48 (0,06)	26,57 (0,81)
Reppel B	3,23 (0,25)	0,44 (0,06)	1,40 (0,27)		1,12 (1,03)	25,81 (4,85)
Reppel GAB	3,40 (1,57)	0,28 (0,22)	1,45 (0,53)		1,09 (0,47)	22,49 (3,32)

Parties aériennes du radis

Sol						
Référence	7,57 (1,26)	39,67 (10,57)	3,29 (0,52)	< l,t,	5,92 (0,82)	57,09 (0,48)
Reppel NT	5,98 (0,29)	48,07 (8,43)	2,83 (0,08)		4,67 (0,19)	83,13 (3,14)
Reppel GA	5,27 (0,54)	51,61 (5,55)	2,61 (0,21)		4,90 (0,33)	83,88 (3,97)
Reppel B	6,36 (0,65)	44,42 (8,74)	2,43 (0,27)		4,97 (1,03)	85,62 (3,21)
Reppel GAB	5,37 (0,19)	49,40 (5,51)	2,23 (0,04)		4,89 (0,25)	84,62 (4,17)

Racines du radis

Sol						
Référence	43,31 (4,61)	73,19 (2,42)	7,94 (1,31)	0,04 (0,00)	6,47 (0,57)	26,04 (1,45)
Reppel NT	38,13 (7,87)	107,92 (79,93)	7,78 (2,56)	0,03 (0,01)	4,19 (0,97)	52,39 (3,65)
Reppel GA	32,72 (3,21)	133,03 (18,55)	6,18 (0,69)	0,02 (0,00)	5,36 (0,10)	63,34 (0,26)
Reppel B	37,14 (2,41)	86,11 (2,10)	5,17 (0,92)	0,03 (0,00)	4,56 (0,11)	56,81 (8,43)
Reppel GAB	33,43 (3,86)	112,14 (30,09)	4,78 (0,22)	0,02 (0,00)	4,85 (0,50)	59,37 (8,54)

ANNEXE 6

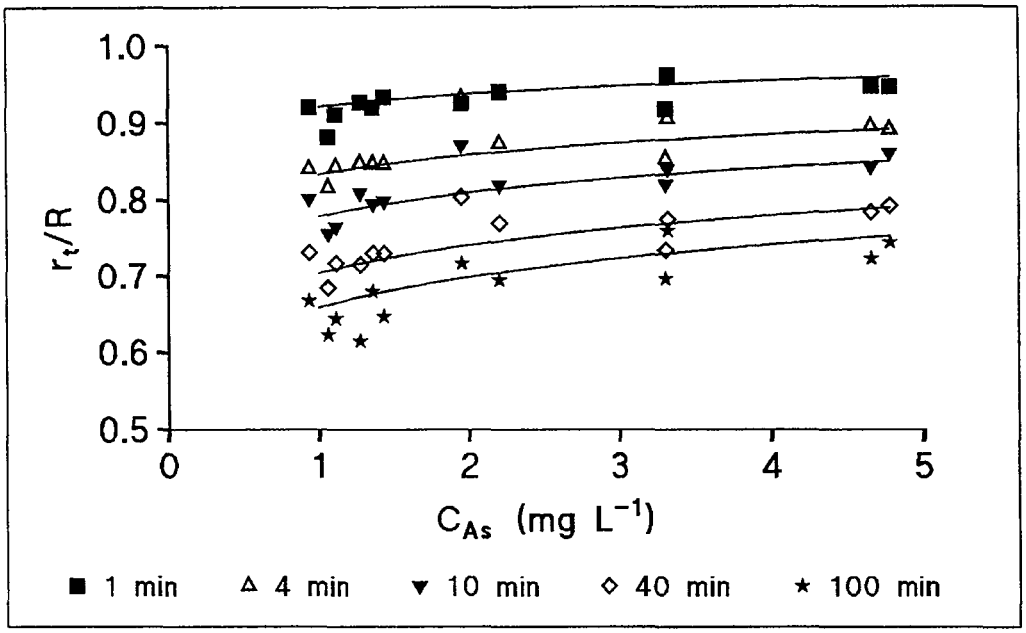


Figure 1 : Evaluation de la proportion de radioactivité restant en solution (r_t/R) dans le sol des lysimètres 3 et 4 (sol non traité) en fonction du temps et de la concentration en solution. Valeurs expérimentales (symboles) et celles calculées par l'équation 6.6 (linges).

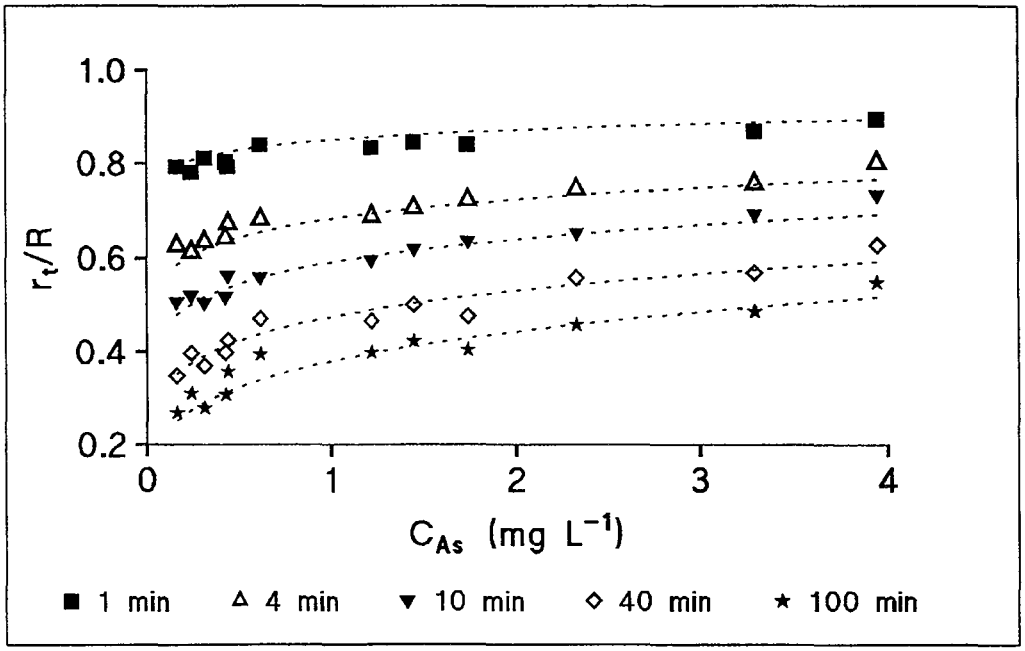


Figure 2 : Evaluation de la proportion de radioactivité restant en solution (r_t/R) dans la solution du sol des lysimètres 9 et 10 (sol traité avec la grenaille d'acier + béringite) en fonction du temps et de la concentration en solution. Valeurs expérimentales (symboles) et celles calculées par l'équation 6.6 (linges).

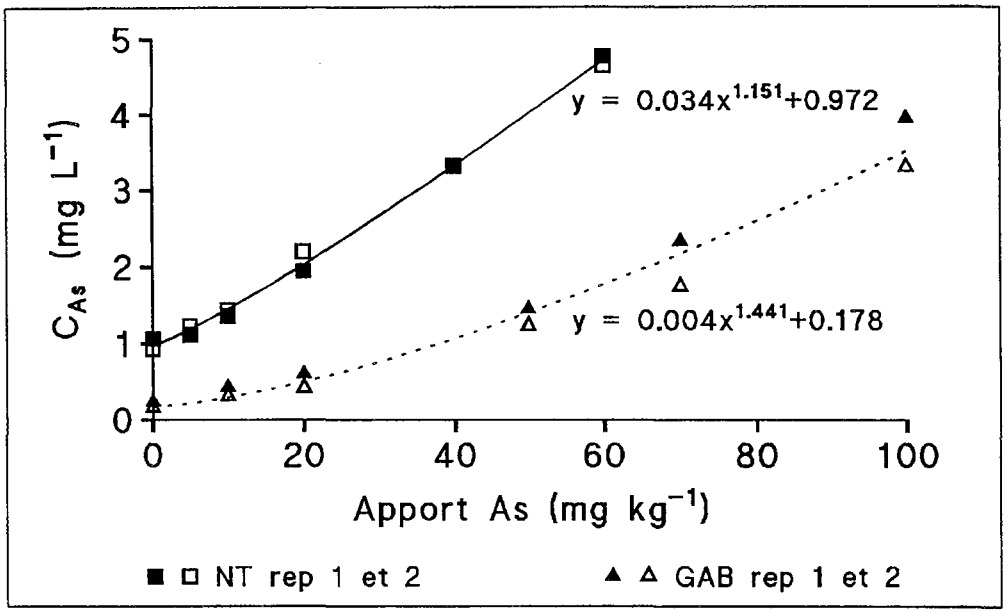


Figure 3 : Evolution de la concentration en arsenic dans la solution (C_{As}) du sol en fonction de l'apport d'As dans le sol non traité (NT) et le sol traité avec la grenaille d'acier + béringite (GAB).

INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE
DE LORRAINE

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

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :
Monsieur FROISSARD Emmanuel, Professeur, E.T.H.Z. Lindau (Suisse),
Monsieur MANCEAU Alain, Directeur de Recherches, L.G.I.T.-I.R.I.G.M. Grenoble.

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

Madame GRUPPEN-BOISSON Jolanda

NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 5 4 5 0 1
VANDŒUVRE CEDEX

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une thèse intitulée :
"Réhabilitation de sols pollués en éléments traces par des amendements minéraux. Faisabilité et durabilité d'après la mobilité des éléments et la phytotoxicité du sol."

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : **"SCIENCES AGRONOMIQUES"**

Fait à Vandoeuvre le, **26 Mars 1999**
Le Président de l'I.N.P.L.
J. HARDY

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE NANCY

TEL. 33/03.83.59.59.59
FAX. 33/03.83.59.59.55

Réhabilitation de sols pollués en éléments traces par des amendements minéraux. Faisabilité et durabilité d'après la mobilité des éléments et la phytotoxicité du sol.

RESUME: Nous avons testé l'hypothèse d'une diminution de l'exposition des végétaux aux éléments traces par une baisse de leur concentration en solution, suite à l'apport des amendements minéraux au sol. Six amendements ont été testés : grenaille d'acier (GA), béringite (B), leur combinaison (GAB), hydroxyapatite (HA) et deux oxydes de fer (maghémite: MH, magnétite: MN). Quatre sols étudiés sont issus de sites industriels pollués en métaux et en As, et un d'un site agricole pollué en As. Nous avons évalué l'effet des amendements sur la mobilité des éléments traces (extraction), leur accumulation dans la plante (vases de végétation et lysimètres), la phytotoxicité du sol (basée sur paramètres morphologiques et métaboliques du maïs) et l'échange isotopique d'As. Tous les amendements, sauf les oxydes de fer, diminuent les quantités de métaux extractibles et leur accumulation dans le maïs cultivé en vases de végétation. B, GAB et HA sont les plus efficaces et leur effet est généralisable. Cependant, l'accumulation dans la plante augmente parfois à cause d'un meilleur fonctionnement des racines. Tous les amendements (sauf HA) diminuent l'extractabilité d'As et son accumulation dans les plantules de maïs. En lysimètres (sol agricole pollué en As), GA, B et GAB diminuent l'accumulation d'As dans le maïs de 68, 48 et 77%. Cet effet est durable pendant au moins un an. Seuls GA et GAB diminuent l'accumulation dans le radis. La cinétique d'échange d'ions As montre que les amendements ne diminuent pas le stock d'As disponible. Ils diminuent la concentration en solution en ralentissant le transfert sol-solution. Pour le maïs, l'accumulation d'As est déterminée par la concentration en solution, pour le radis par la quantité rapidement échangeable. La phytotoxicité du sol diminue avec l'apport de B et GAB aux sols industriels et de GA et GAB au sol agricole. Leur apport diminue l'accumulation des éléments traces dans le maïs et B augmente celle des éléments nutritifs (Ca et K).

Rehabilitation of trace element polluted soils by mineral additives. Feasibility and sustainability based on the evaluation of element mobility and soil phytotoxicity.

ABSTRACT: We tested the hypothesis that the exposition of plants to trace elements decreases by a lower solution concentration, after the application of mineral soil additives. Six additives were tested: steel shots (SS), beringite (B), their combination (SSB), hydroxyapatite (HA) and two iron oxides (maghemite: MH, magnetite: MN). Five soils come from metal and arsenic polluted industrial sites, one comes from an As polluted agricultural site. We evaluated the effect of the additives on the mobility of trace elements (extraction), their accumulation in plants (pot and lysimeter experiments), the soil phytotoxicity (based on morphological and metabolic parameters of maize) and the isotopic exchange of As. All additives, except the iron oxides, decrease the amount of metals extracted and their accumulation in maize (pot experiment). B, SSB and HA are most efficient and have a general effect. However, in some cases the accumulation in plants increases because of a higher activity of maize roots. All additives (except HA) decrease the mobility of As and its accumulation in maize. In the lysimeter experiment (agricultural As polluted soil), SS, B and SSB decrease the As accumulation in maize with 68, 48 and 77%. This decrease is sustainable for at least one year. The kinetics of the As exchange makes clear that the additives do not decrease the stock of available As. They decrease the As concentration in solution by a slower soil-solution transfer. The As accumulation in maize is determined by the solution concentration of As, the accumulation in radish by the stock of quickly exchangeable As. Soil phytotoxicity decreases by the addition of B and GAB to the industrial soils and of GA and GAB to the agricultural soil. Their addition decreases the accumulation of trace elements in maize and B increase the one of nutrients (Ca and K).

Mots-Clés : élément trace, métal, arsenic, amendement minéral, immobilisation, réhabilitation, mobilité, disponibilité, sol pollué, maïs, radis, phytotoxicité, cinétique d'échange isotopique, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, grenaille d'acier, béringite, hydroxyapatite, maghémite, magnétite.

INRA, Centre de Recherches de Bordeaux, Station d'Agronomie, 71 av. Edouard-Bourleaux, VILLENAVE D'ORNON Cedex