



HAL
open science

Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*

Christophe Schwartz

► **To cite this version:**

Christophe Schwartz. Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*. Sciences de l'ingénieur [physics]. Institut National Polytechnique de Lorraine, 1997. Français. NNT : 1997INPL117N . tel-01751119

HAL Id: tel-01751119

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01751119v1>

Submitted on 29 Mar 2018

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

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



AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

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

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

97INPL117

Institut National Polytechnique de Lorraine
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
Laboratoire Sols et Environnement associé à l'Institut National de la Recherche Agronomique

THESE

présentée en vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

en

Sciences Agronomiques

par

Christophe SCHWARTZ

**Phytoextraction des métaux des sols pollués
par la plante hyperaccumulatrice
*Thlaspi caerulescens***

soutenue le 24 octobre 1997

devant un Jury composé de :

- Jean Louis MOREL, Professeur, ENSAIA-INRA/INPL
- Alan J. M. BAKER, PhD, Reader in Environmental Science, Université de Sheffield
- Gabriel BITTON, Professeur, Université de Floride
- Pierre CHASSIN, Directeur de Recherche, INRA Bordeaux
- Jean Claude FARDEAU, Ingénieur de Recherche, Docteur ès Sciences, CEA
- Isabelle [obscured] la Recherche, SITA
- Jacque [obscured]
- Patrick [obscured]



Service Commun de la Documentation
 INPL
 Nancy-Brabois

- Président
- Rapporteur
- Rapporteur
- Rapporteur
- Rapporteur
- Examineur
- Examineur
- Examineur

13600 33473

97 INPL 17 N

[M] 1997 SCHWARTZ, C.

Institut National Polytechnique de Lorraine
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
Laboratoire Sols et Environnement associé à l'Institut National de la Recherche Agronomique

THESE

présentée en vue de l'obtention du titre de
Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine
en
Sciences Agronomiques
par
Christophe SCHWARTZ

**Phytoextraction des métaux des sols pollués
par la plante hyperaccumulatrice
*Thlaspi caerulescens***

soutenue le 24 octobre 1997

devant un Jury composé de :

- | | |
|---|------------|
| Jean Louis MOREL, Professeur, ENSAIA-INRA/INPL | Président |
| Alan J. M. BAKER, PhD, Reader in Environmental Science, Université de Sheffield | Rapporteur |
| Gabriel BITTON, Professeur, Université de Floride | Rapporteur |
| Pierre CHASSIN, Directeur de Recherche, INRA Bordeaux | Rapporteur |
| Jean Claude FARDEAU, Ingénieur de Recherche, Docteur ès Sciences, CEA | Rapporteur |
| Isabelle VENDEUVRE, Directeur Adjoint de la Recherche, SITA | Examineur |
| Jacques CERCELET, Directeur, INGEROP | Examineur |
| Patrick JACQUEMIN, Ingénieur, Ademe | Examineur |

INPL
Nancy-Brabois
Service Commun de la Documentation

Mes remerciements iront à Madame Isabelle VENDEUVRE (Sita) pour avoir été une Présidente de Comité de Pilotage attentive et constructive, Madame Myriam BENKHAI (Fonds Recherche Développement Innovation, Suez-Lyonnaise des Eaux) pour sa confiance, Monsieur Jean BEBIN (Suez-Lyonnaise des Eaux) pour avoir partagé son expérience, Monsieur Jacques CERCELET (Ingerop) pour ses analyses pertinentes et ses encouragements, Monsieur André GIRARD (Agro-Développement) pour son suivi scientifique, Messieurs Richard MODOLO et Jacques VILLEMAGNE (Geoclean) pour leur intérêt et Monsieur Stephan MUZIKA (EPML-GELFI) pour son soutien et son amitié. Que Madame Nathalie GONTHIEZ, Messieurs René GOUBIER et Patrick JACQUEMIN de l'Equipe Sites et Sols pollués de l'Ademe soient remerciés pour avoir suivi mon travail ainsi que Madame Eliane JALLOT pour le suivi administratif.

Mes remerciements iront également au Dr Roger R. REEVES et à Pascal ADMANT pour les longues heures de prospection que nous avons passées ensemble et les réflexions qu'elles ont suscitées; Isabelle FEIX et Denis SAVANNE de l'Ademe pour les nombreuses idées échangées et les encouragements formulés; les agriculteurs et industriels (Agro-Développement, Bail Industries, Geoclean, Service des Voies Navigables du Nord) qui m'ont permis d'échantillonner des terres et des boues; James ROUILLER (CNRS-CPB) pour sa disponibilité et son amitié; Henri Philippe GUIMONT et le personnel du Domaine Expérimental de la Bouzule sans lesquels une partie de ce travail n'aurait pas été possible; Monsieur Jacques PIERSON, Président de l'EPML pour son soutien et sa confiance.

J'exprime toute mon amitié à l'ensemble des membres du Laboratoire Sols et Environnement et en particulier à mes amis Jean Yves GRIMAL, Claude CHAÎNEAU et Seït SHALLARI qui ont partagé mon bureau et mes interrogations, Ali BOULARBAH, adopté au laboratoire, qui a toujours su être philosophe, Antonio BISPO pour ses encouragements et sa collaboration, Madeleine LEROUVILLOIS pour sa sympathie, sa patience et son soutien, Louis FLORENTIN pour l'expérience qu'il a su me transmettre et le temps qu'il m'a consacré. J'aurais une attention toute particulière pour Bernard COLIN et Stéphane COLIN dont le savoir-faire a permis de tenir, dans la bonne humeur, un programme de travail chargé. Je remercie les stagiaires Catherine MIART, Christelle ROTHENFLUG, Stéphane SAUMIER, Alain RAKOTO, Emilie GERARD, Karen PERRONNET, Stéphanie GREBIL, Marc Olivier HARDY, Christophe HARMAND et Julien HEMMER qui, à des degrés divers, ont tous efficacement participé à ce travail.

Mes proches ont très largement bénéficié de mes enthousiasmes et de mes doutes. C'est à Florence et à mes parents que je dédie ce travail.

SOMMAIRE

Introduction générale

CHAPITRE 1

Etude bibliographique

La gestion des sols pollués par les métaux : risques écotoxicologiques et voies de décontamination

| | |
|--|---------------|
| <i>1. Les éléments en traces dans les agrosystèmes et les écosystèmes urbains et industriels</i> | <i>3</i> |
| 1.1. Sources de métaux dans les sols | 6 |
| 1.1.1. Fond géochimique | 6 |
| 1.1.2. Retombées atmosphériques..... | 6 |
| 1.1.3. Déchets et produits dérivés..... | 7 |
| 1.2. Localisation des métaux le long du profil de sol..... | 9 |
| 1.3. Destinée des métaux du sol..... | 9 |
| 1.3.1. Exportation par les récoltes de plantes cultivées..... | 10 |
| 1.3.2. Lessivage vers les horizons profonds du profil..... | 10 |
| 1.3.3. Accumulation | 10 |
| 1.3.4. Entraînement par érosion..... | 10 |
| 1.4. Problèmes spécifiques à quelques métaux | 12 |
| 1.4.1. Cadmium | 12 |
| 1.4.2. Chrome | 12 |
| 1.4.3. Cuivre..... | 13 |
| 1.4.4. Mercure | 13 |
| 1.4.5. Nickel | 13 |
| 1.4.6. Plomb..... | 14 |
| 1.4.7. Zinc..... | 15 |
| 1.5. Etat et réactivité des métaux dans les sols..... | 15 |
| <i>2. Les risques liés à la présence de métaux dans les sols</i> | <i>16</i> |
| 2.1. Définition du risque et notion de biodisponibilité..... | 16 |
| 2.2. Cibles des métaux : les organismes (en particulier l'homme) et les écosystèmes | 17 |
| 2.3. Mesures et suivi des risques écotoxicologiques et sanitaires | 18 |
| 2.4. Réduction des risques..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Les voies de décontamination des sols pollués par les métaux | 19 |
| 3.1. Voies physico-chimiques | 20 |
| 3.1.1. Méthodes physiques par évacuation | 20 |
| 3.1.2. Méthodes physiques par piégeage de la pollution..... | 20 |
| 3.1.3. Méthodes chimiques | 21 |
| 3.1.4. Méthodes thermiques | 21 |
| 3.2. Voies biologiques | 22 |
| | |
| 4. La phytoextraction..... | 24 |
| 4.1. Distribution géographique et écologie des plantes hyperaccumulatrices..... | 24 |
| 4.2. Réponse des végétaux à la présence de métaux dans les sols | 25 |
| 4.2.1. Mécanismes de tolérance | 25 |
| 4.2.2. L'hyperaccumulation | 26 |
| 4.2.3. Métaux et hyperaccumulation..... | 27 |
| 4.3. Mécanismes de l'hyperaccumulation des métaux..... | 29 |
| 4.3.1. Prélèvement de métaux par les racines des plantes | 29 |
| 4.3.2. La rhizosphère des métalphytes | 30 |
| 4.3.3. Translocation et accumulation des métaux | 30 |
| 4.4. Aptitude des plantes à la croissance et au développement sur des sols pollués..... | 32 |
| 4.5. Un modèle de métalphyte pour la phytoremédiation : <i>Thlaspi caerulescens</i>..... | 33 |
| | |
| 5. Conclusion | 34 |

CHAPITRE 2

Matériel et méthodes

| | |
|---|-----------|
| 1. Matériel..... | 35 |
| 1.1. Espèces végétales..... | 35 |
| 1.1.1. Gîtes métallifères dans les Vosges..... | 35 |
| 1.1.2. Site de Viviez | 36 |
| 1.1.3. Site de Mortagne du Nord..... | 36 |
| 1.1.4. Espèces végétales utilisées..... | 38 |
| 1.2. Terres et boues utilisées..... | 40 |
| | |
| 2. Méthodes communes à l'ensemble des expérimentation..... | 47 |
| 2.1. Cultures en vases de végétation..... | 47 |
| 2.1.1. Obtention de plantules | 47 |
| 2.1.2. Récolte et mesures | 47 |
| 2.2. Analyses..... | 48 |
| 2.2.1. Caractérisation physico-chimique des terres et des boues | 48 |
| 2.2.2. Test microbiologique de toxicité des sols..... | 48 |
| 2.2.3. Végétaux..... | 49 |
| 2.3. Analyses statistiques..... | 49 |

CHAPITRE 3

Comportement de *Thlaspi caerulescens* sur divers matériaux pollués

| | |
|--|-----------|
| 1. Aptitude de <i>Thlaspi caerulescens</i> à la germination..... | 50 |
| 1.1. Matériel et méthodes | 50 |
| 1.1.1. Plantes | 50 |
| 1.1.2. Terres | 50 |
| 1.2. Méthode | 50 |
| 1.3. Résultats | 51 |
| 1.3.1. Tests de germination pour des doses croissantes de métaux..... | 51 |
| 1.3.2. Germination sur différentes terres et boues | 52 |
| 1.4. Discussion..... | 53 |
| | |
| 2. Croissance et développement de <i>Thlaspi caerulescens</i>..... | 53 |
| 2.1. Matériel et méthodes | 53 |
| 2.2. Production de biomasse | 55 |
| 2.3. Morphologie des parties aériennes..... | 55 |
| | |
| 3. Métaux dans le système sol-boue-plante..... | 56 |
| 3.1. Métaux dans la plante..... | 56 |
| 3.2. Evolution du pH et des teneurs des métaux extractibles des terres et des boues | 57 |
| 3.3. Discussion..... | 61 |

CHAPITRE 4

Réponse de *Thlaspi caerulescens* à la fertilisation et à la présence de plantes compagnes

| | |
|--|-----------|
| 1. Fertilisation azotée | 62 |
| 1.1. Matériel et méthodes | 62 |
| 1.2. Résultats | 63 |
| 1.2.1. Morphologie de <i>T. caerulescens</i> | 63 |
| 1.2.2. Production de biomasse..... | 67 |
| 1.2.3. pH des sols..... | 68 |
| 1.2.4. Prélèvement des métaux par <i>T. caerulescens</i> | 68 |
| 1.3. Discussion..... | 72 |
| 1.4. Conclusion | 74 |
| | |
| 2. Fertilisation phosphatée..... | 74 |
| 2.1. Matériel et méthodes | 75 |
| 2.2. Résultats | 75 |
| 2.2.1. Caractéristiques morphologiques de <i>T. caerulescens</i> | 75 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.2. Production de biomasse de <i>T. caerulea</i> | 76 |
| 2.2.3. Production de biomasse du colza..... | 76 |
| 2.2.4. Extraction des métaux par <i>T. caerulea</i> et le colza..... | 77 |
| 2.2.5. Teneurs du P dans <i>T. caerulea</i> | 79 |
| 2.2.6. Evolution des métaux dans la terre polluée..... | 79 |
| 2.3. Discussion..... | 81 |
| 3. Comportement de <i>T. caerulea</i> en présence de plantes compagnes..... | 82 |
| 3.1. Matériel et méthode..... | 83 |
| 3.2. Résultats..... | 83 |
| 3.2.1. L'effet sol..... | 83 |
| 3.2.2. L'effet association végétale..... | 84 |
| 3.2.3. Combinaison des effets sol et association végétale..... | 84 |
| 4. Conclusion..... | 87 |

CHAPITRE 5

Réponse du système racinaire de *Thlaspi caerulea* à l'origine la teneur et la localisation des métaux du sol

| | |
|---|------------|
| 1. Matériel et Méthodes..... | 89 |
| 1.1. Terres..... | 89 |
| 1.2. Plante..... | 89 |
| 1.3. Rhizotrons..... | 89 |
| 1.4. Culture..... | 91 |
| 1.5. Mesures..... | 92 |
| 2. Résultats..... | 92 |
| 2.1. Production de biomasse aérienne..... | 92 |
| 2.2. Développement du système racinaire sur des terres industrielles..... | 94 |
| 2.3. Développement du système racinaire sur une terre agricole contaminée artificiellement par ZnSO ₄ | 96 |
| 2.4. Cinétique de croissance du système racinaire en présence d'inclusions de terres polluées dans une terre agricole..... | 96 |
| 2.5. Rapport parties aériennes / racines..... | 98 |
| 2.6. Modifications de pH dans la rhizosphère..... | 103 |
| 2.7. Extraction des métaux..... | 103 |
| 3. Discussion..... | 105 |
| 4. Conclusion..... | 107 |

CHAPITRE 6

Phytoextraction de Cd et Zn par *Thlaspi caerulescens* en conditions de plein champ

| | |
|--|------------|
| 1. Phytoextraction de Cd et Zn d'un sol agricole amendé par une boue d'épuration urbaine chargée en métaux..... | 109 |
| 1.1. Dispositif expérimental..... | 109 |
| 1.2. Conduite des cultures | 110 |
| 1.3. Récolte et analyses | 110 |
| 1.4. Résultats..... | 112 |
| 1.4.1. Production de biomasse..... | 112 |
| 1.4.2. Extraction des métaux..... | 116 |
| 1.4.3. Teneurs des métaux et classes de poids des plantes..... | 119 |
| 1.5. Discussion..... | 122 |
| | |
| 2. Phytoextraction de Cd et Zn d'un sol de friche industrielle de cokerie.... | 123 |
| 2.1. Dispositif expérimental..... | 123 |
| 2.2. Récolte et analyses | 124 |
| 2.3. Résultats..... | 127 |
| 2.3.1. Production de biomasse..... | 127 |
| 2.3.2. Extraction des métaux..... | 130 |
| 2.3.3. Teneur du Zn dans les eaux de percolation..... | 131 |
| 2.3.4. Relations entre les teneurs des métaux et les classes de poids des plantes | 131 |
| 2.4. Discussion..... | 133 |
| | |
| 3. Phytoextraction du Zn du sol d'une ancienne fonderie de Zn..... | 134 |
| 3.1. Conditions expérimentales | 134 |
| 3.2. Résultats..... | 134 |
| 3.2.1. Production de biomasse..... | 134 |
| 3.2.2. Extraction de Zn..... | 136 |
| 3.2.3. Discussion | 137 |
| | |
| 4. Conclusion | 138 |

CHAPITRE 7

Discussion générale

Connaissance du système sol-plante hyperaccumulatrice et applications à la phytoextraction

| | |
|--|------------|
| 1. Fonctionnement du système sol-plante hyperaccumulatrice..... | 139 |
| 1.1. Conditions nécessaires à la phytoextraction..... | 139 |
| 1.1.1. Installation et croissance des plantes hyperaccumulatrices | 139 |
| 1.1.2. Exploration du milieu par les racines | 140 |
| 1.1.3. Mobilité des métaux..... | 141 |
| 1.1.4. Extraction des métaux..... | 142 |
| 2. Phytoextraction des métaux des sols pollués..... | 143 |
| 2.1. Simulations de phytoextraction | 144 |
| 2.1.1. sols agricoles amendés par des boues d'épuration urbaine | 144 |
| 2.1.2. sol de friche industrielle | 145 |
| 2.2. Propositions d'itinéraires techniques pour la phytoextraction des sols et des boues pollués par les métaux | 147 |
| 2.3. Domaines de faisabilité de la phytoextraction..... | 149 |
| 2.4. Contribution de la phytoremédiation à la diminution des risques liés à la présence de métaux dans les sols et les boues..... | 149 |
| 3. Perspectives d'optimisation des filières de phytoremédiation | 153 |

Conclusion générale

Références bibliographiques

Résumé - Summary

Avant Propos

Cette recherche a débuté en octobre 1994. Elle s'est déroulée dans le Laboratoire Sols et Environnement associé à l'Institut National de la Recherche Agronomique de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. Elle a été réalisée dans le cadre d'une bourse Ademe co-financée par la Société Ingerop et a bénéficié de soutiens financiers du Fonds Recherche Développement Innovation de la Société Suez-Lyonnaise Des Eaux, de l'Etablissement Public de la Métropole Lorraine (EPML) et du Ministère de l'Environnement.

Les travaux ont été suivis par un Comité de Pilotage formé de représentants des Sociétés Agro-Développement, Geoclean, Ingerop, Sita, Suez-Lyonnaise Des Eaux (Direction de la Recherche et Fonds Recherche Développement Innovation), de l'Ademe et de l'EPML-GELFI.

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Le traitement des sols pollués par les métaux (Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn, ...) constitue un problème complexe et difficile à résoudre. Il peut être réalisé par le confinement des sites ou par des procédés physico-chimiques mais leur coût et la production, en général, d'un résidu stérile limitent ces approches à une très faible proportion de terrains généralement les plus contaminés. La présence diffuse ou localisée de métaux dans les sols représente aussi un risque potentiel pour les écosystèmes et la santé humaine. Les méthodes biologiques ont été largement développées par l'utilisation de microorganismes dégradant les pollutions organiques. Pour les métaux, une approche nouvelle a été proposée, s'appuyant sur l'utilisation de végétaux qui pourraient contribuer à stabiliser les sols pollués et à extraire la pollution. Il s'agirait d'utiliser des plantes hypertolérantes et hyperaccumulatrices de métaux pour gérer les sols pollués. Il est alors apparu l'idée de valoriser cette particularité en utilisant ces végétaux adaptés aux milieux riches en métaux toxiques comme des outils de décontamination des sols. Ces plantes étudiées par les botanistes systématiciens et des géologues en prospection de gisements se développent préférentiellement et quasi exclusivement sur des sites métallifères naturels où la pression de sélection entraîne la disparition des autres espèces végétales. Les friches industrielles constituent des milieux fortement anthropisés présentant un fonctionnement écologique particulier et dans lesquels peuvent être présents des végétaux tolérants aux polluants métalliques. Si la majorité des plantes tolérantes accumulent les métaux dans leur système racinaire et qu'une fraction minimale atteint les parties aériennes, les plantes hyperaccumulatrices peuvent contenir de 10 à 500 fois plus de métaux dans leurs tiges et leurs feuilles que les espèces normales. La maîtrise de la culture des hyperaccumulateurs en vue de leur utilisation comme outil de dépollution des sols pollués par les métaux nécessite un effort de recherche dans quatre domaines principaux : la compréhension des mécanismes physiologiques de l'hyperaccumulation métallique, le recensement des espèces utilisables avant qu'elles ne disparaissent, la domestication des hyperaccumulateurs *i.e* l'adaptation de la méthode à chaque situation édaphique, climatique ou à la nature de la pollution et enfin l'amélioration génétique des performances des plantes hyperaccumulatrices sauvages.

Ce travail est destiné à contribuer aux trois premiers axes de recherche cités. Le premier objectif est de mieux connaître le fonctionnement de *Thlaspi caerulescens*, hyperaccumulateur de Zn et co-accumulateur de Cd dans des milieux pollués différents de son milieu d'origine et quand il est soumis à des pratiques agronomiques classiques en vue d'améliorer la production de biomasse et l'extraction des métaux. Le deuxième objectif est de tester la faisabilité de la technique de phytoextraction des métaux de différents matériaux pollués.

Dans ce but, un premier chapitre présente l'état des connaissances sur la dynamique des métaux dans les sols et les méthodes de gestion des sols pollués. Une attention particulière est portée aux plantes hyperaccumulatrices et à leur potentiel en tant qu'outil de dépollution biologique des sols.

Dans un deuxième chapitre, sont décrits les matériels, sols et végétaux, ainsi que les principaux protocoles et outils méthodologiques mis en œuvre au cours de la thèse et communs à l'ensemble du travail.

Un troisième chapitre est consacré à l'étude de la capacité de *T. caerulescens* à s'implanter sur divers matériaux pollués. Il s'agit notamment de suivre la croissance de la plante hyperaccumulatrice et son aptitude à extraire les métaux de différents matériaux comme une terre agricole faiblement polluée, des terres issues de sols industriels ou encore une boue de curage de cours d'eau polluée par les métaux.

Le quatrième chapitre présente les conséquences des pratiques agronomiques sur le développement de la plante hyperaccumulatrice. L'effet de la fertilisation azotée et phosphatée sur la production de biomasse de *T. caerulescens* et sur la phytoextraction de Zn et Cd est étudié. L'association de *T. caerulescens* avec une plante cultivée et un hyperaccumulateur de nickel est réalisée dans l'optique de tester l'influence de cultures mixtes sur la phytoextraction.

Un cinquième chapitre traite de l'aptitude du système racinaire de *T. caerulescens* à coloniser les sols contaminés. Des rhizotrons permettent de suivre le développement du système racinaire et l'accumulation des métaux sous diverses conditions de pollution reproduisant l'hétérogénéité et la variabilité des formes de la pollution métallique des sols.

Le sixième chapitre est l'étude de l'installation et de la croissance de *T. caerulescens* ainsi que de l'extraction des métaux dans les conditions du terrain. Deux expériences sont rapportées, l'une s'inscrivant dans le cadre des effets des épandages de boues d'épuration sur la qualité des sols et l'autre dans celui de la gestion des sols de friches industrielles présentant des pollutions multiples.

Enfin, le septième chapitre est la synthèse des connaissances acquises sur le fonctionnement de *T. caerulescens* dans les sols pollués et sur leurs applications pour la phytoextraction des métaux. Répondant à des besoins et à une demande du monde industriel, l'accent est mis sur les possibilités et le cadre de l'application de la phytoextraction ainsi que sur les limites de cette approche. La discussion est orientée vers la contribution de la phytoextraction à la diminution des risques liés à la présence de métaux dans les sols et les boues. Enfin, nous dégagons les perspectives de recherche pour l'amélioration de la phytoextraction.

CHAPITRE 1

Etude bibliographique

**La gestion des sols pollués
par les métaux :
risques écotoxicologiques
et voies de décontamination**

Les vingt dernières années ont montré à de nombreuses reprises la nécessité de protéger les sols contre les pollutions. Cependant, les réglementations sur la protection des sols, si elles existent, ne sont venues qu'après celles sur l'air ou l'eau potable. La pollution des sols n'a été prise en considération qu'après le constat qu'un sol ne peut pas indéfiniment absorber et détoxifier des quantités illimitées de déchets de l'agriculture, de l'industrie et plus généralement de l'activité humaine. Cette limitation du pouvoir épurateur des sols peut avoir pour conséquences des flux de polluants vers les eaux de surface ou souterraines et vers la chaîne alimentaire. Les métaux peuvent être transférés via les végétaux pour se retrouver dans les animaux et éventuellement altérer la santé humaine et le fonctionnement des écosystèmes. La connaissance des flux de métaux est donc indispensable afin de définir les teneurs en métaux écologiquement acceptables et de développer des méthodes permettant de réduire ces flux et de décontaminer les milieux pollués. Après avoir utilisé, dans la première partie de ce chapitre, l'appellation "éléments en traces" qui regroupe les métaux et certains éléments non métalliques (arsenic, sélénium, ...), nous allons privilégier le terme "métaux".

1. Les éléments en traces dans les agrosystèmes et les écosystèmes urbains et industriels

Les sols contaminés en raison de l'activité industrielle et de l'agriculture intensive couvrent environ 23 millions d'hectares sur la planète (Sombroek, 1995). Aux Etats-Unis, il y a plus de 1200 sites Superfund recensés et 50 000 sites sont présumés contaminés par des multipollutions organiques et métalliques (Russel *et al.*, 1992). Approximativement la moitié des sites du Département Américain à l'Energie sont contaminés avec des métaux et des radionucléides toxiques. Cependant, la majorité des sites contaminés se retrouvent en Europe avec une surface estimée à 21 millions d'hectares (Batjes & Bridges, 1993 ; Sombroek, 1995). Au Royaume-Uni, un inventaire indique environ 300 sites pollués d'une surface totale de 10 00 hectares alors que la Chambre des Communes annonce 50 000 à 100 000 sites d'une surface totale de 100 000 hectares (Bridges, 1991). En France, le Ministère de l'Environnement a fait procéder au recensement d'environ 700 sites pollués anciennement appelés "points noirs". Des estimations indiquent plusieurs milliers de sites présumés. En 1983, des estimations indiquaient déjà qu'un million d'hectares de sols en France présenteraient des risques élevés de contamination par accumulation de métaux (Godin, 1983). Les éléments en traces ne sont pas biodégradables et persistent dans l'environnement aquatique et terrestre. Ils sont rejetés dans l'environnement à partir d'activités industrielles (extraction minière, production d'énergie, fonderie de métaux, pigments de peintures, tanneries de cuir,...), des activités urbaines (production de déchets, trafic routier,...) et d'activités agricoles (utilisation de pesticides, utilisation d'engrais, de composts et de boues d'épuration urbaine, ...) (Adriano, 1986 ; Vogel *et al.*, 1992 ; Ross,

1994). Extraits de la géosphère, les éléments en traces sont soumis à des flux au sein de cycles biogéochimiques. Ils peuvent être tantôt indispensables aux organismes végétaux et animaux, tantôt toxiques (Tableau 1). S'ils sont tous toxiques à forte concentration, certains sont indispensables à faible concentration.

Tableau 1. Caractère indispensable ou toxique d'éléments en traces vis-à-vis des organismes biologiques en fonction de leur nature et de leur concentration *source: Alloway, 1990*

| | Cd | Cr | Cu | Hg | Ni | Pb | Se | Zn |
|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Indispensable à faible concentration | | | | | | | | |
| Végétaux | | | • | | • | | | • |
| Animaux | | • | • | | • | | • | • |
| Toxique à forte concentration | | | | | | | | |
| Végétaux | • | • | • | • | • | • | | • |
| Animaux | • | • | • | • | • | • | • | • |

Le sol est un compartiment essentiel des écosystèmes naturels et agricoles. Sa contamination par des éléments en traces pose, d'une part, des problèmes de contamination de la chaîne alimentaire (eau, végétaux et animaux) ou même de l'ingestion directe de particules de terre par des individus et surtout des enfants (Sheppard & Evenden, 1992 ; Thornton *et al.*, 1995). D'autre part, la contamination limitée à un site peut s'étendre sous forme de pollutions diffuses par érosion éolienne et/ou hydraulique souvent accrues en cas de faible couvert végétal (Adriano, 1986). L'importance relative en concentrations de différents modes de contaminations de sols est donnée par le tableau de synthèse de la page suivante (Tableau 2). La prise en compte de bases de données nationales et étrangères permet d'avoir des valeurs représentatives des problèmes susceptibles d'être rencontrés.

1.1. Sources de métaux dans les sols

Les métaux présents dans les sols sont issus, soit de phénomènes naturels, soit de l'activité humaine. Les phénomènes naturels impliqués dans l'enrichissement des sols en métaux sont le fond géochimique ou contamination naturelle à proximité de gisements miniers due à la composition chimique de la roche-mère et des formations superficielles, le cycle biogéochimique des éléments qui sont absorbés par des racines, assimilés par les plantes et restitués plus tard au sol par la décomposition des racines ou des débris de parties aériennes, et enfin les transferts pédologiques verticaux par migration vers les horizons profonds et les nappes phréatiques et les transferts pédologiques latéraux par lessivage latéral et ruissellement. Les phénomènes anthropiques qui entraînent l'augmentation des teneurs des métaux des sols sont les apports de boues de stations d'épuration (Lottermoser & Morteani, 1993 ; Chassin & Juste, 1997), d'engrais (surtout phosphatés) (Bramley, 1990), de produits phytosanitaires, de lisiers, de composts urbains ou d'eaux résiduaires agro-industrielles, les rejets atmosphériques à

Tableau 2. Teneurs des éléments en traces dans les sols et les boues (mg kg⁻¹ MS)

| SOLS SOUS INFLUENCE AGRICOLE / BOUES | Cd | Cr | Cu | Hg | Ni | Pb | Se | Zn |
|--|-----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|------------|
| teneurs de sols sur différentes roches mères (Alloway, 1990) | | | | | | | | |
| marnes | 0,13 | 90 | 45 | 0,45 | 68 | 22 | 0,5 | 95 |
| grès | 0,01 | 20 | / | / | 2 | 8 | / | 25 |
| calcaires | 0,16 | 11 | 4 | 0,03 | 15 | 5 | 0,19 | 23 |
| granites | 0,09 | 12 | 13 | 0,03 | 7 | 32 | 0,04 | 50 |
| basaltes | 0,1 | 168 | 90 | 0,02 | 134 | 3,5 | 0,09 | 100 |
| Teneurs sols: différentes sources | | | | | | | | |
| teneurs moyennes des sols | 0,08-0,53 | 2-220 | 13-30 | 0,03-0,8 | 19-100 | 2,0-44 | 0,01-2 | 50-90 |
| teneurs naturelles des sols | | | | | | | | |
| fourchette normale | 0,01-1 | 2,0-50 | 1,0-20 | / | 2,0-50 | 0,1-20 | / | 3,0-50 |
| sols riches en métaux | <200 | <20000 | <22000 | / | <10000 | <4000 | / | <20000 |
| teneurs naturelles des sols | | | | | | | | |
| fourchette normale | -0,5 | 5,0-100 | 2,0-60 | 0,04-0,4 | 2,0-100 | 0,1-150 | / | 25-200 |
| sols riches en métaux | <800 | <4000 | <2000 | <20 | <8000 | >10000 | / | >1% |
| teneurs sols agricoles | | | | | | | | |
| valeurs communes | 0,2-1,0 | 70-100 | 20-30 | 0,03-0,06 | 50 | 10-100 | 0,5 | 50 |
| valeur critique | 3,0-8,0 | 75-100 | 60-125 | 0,3-5 | 100 | 100-400 | 5,0-10,0 | 70-400 |
| valeurs extrêmes | 0,01-2,4 | 5-1500 | 2-250 | 0,01-0,5 | 2-1000 | 2-300 | 0,01-5 | 10-900 |
| maximum "normaux" | 0,7 | 150 | 100 | 0,3 | 80 | 100 | 10 | 300 |
| Norme AFNOR Sols | 2 | 150 | 100 | 1 | 50 | 100 | 10 | 300 |
| teneurs de boues (Allemagne) | | | | | | | | |
| moyenne (5700 échantillons) | 4,6 | 131 | 349 | 3,1 | 52,7 | 202 | / | 1446 |
| valeur minimale | 0,01 | 1 | 5 | 0,01 | 1 | 2 | / | 11 |
| valeur maximale | 190 | 25800 | 9221 | 144,4 | 4342 | 14840 | / | 23900 |
| % d'échantillons > norme | 1,6 | 1,1 | 2,1 | 0,5 | 2,1 | 1,1 | / | 4,0 |
| teneurs de boues (France) | | | | | | | | |
| maximum acceptable dans les boues | <1-3410 | 8-40600 | 50-8000 | 0,1-55 | 6-5300 | 29-3600 | 1,0-10 | 91-4900 |
| maximum d'apport annuel (kg/ha) | 8,0-30 | 200-1200 | 500-3000 | 5,0-25 | 30-500 | 300-1200 | 14-100 | 1000-10000 |
| | 0,01-0,17 | 0,4-33 | 1-9,3 | 0,008-1,2 | 0,045-2,3 | 0,3-33 | 0,06-0,17 | 2,5-18,6 |
| Norme AFNOR Boues | | | | | | | | |
| Limite | 40 | 2000 | 2000 | 20 | 400 | 1600 | 200 | 6000 |
| Référence | 20 | 1000 | 1000 | 10 | 200 | 800 | 100 | 3000 |
| Sols agricoles | | | | | | | | |
| apports massifs boues (20 sites UK) | 64 | 6000 | 770 | / | 333 | 938 | / | 1748 |
| Sols agricoles + boues ADEME | 0,14 | 59 | 19 | / | 30 | 48 | / | 62 |
| Sols agricoles + boues | | | | | | | | |
| 150 échantillons Bas-Rhin | 0,34 | 43 | 21 | 0,1 | 30 | 38 | 0,2 | 76 |
| 18100 échantillons allemands | 0,40 | 24 | 15 | 0,1 | 14 | 35 | / | 67 |
| SOLS SOUS INFLUENCE INDUSTRIELLE | | | | | | | | |
| Sol de cokerie (0-20 cm) | | | | | | | | |
| (zone des sous produits - Lorraine) | | | | | | | | |
| moyenne (Dechelette, 1990) | 1,37 | 151 | 59 | / | 61 | 193 | / | 698 |
| Sols en périphérie d'une fonderie de cuivre (Ouest de la Pologne) | | | | | | | | |
| (Rebele et al., 1993) | | | | | | | | |
| profondeur (cm) | 0>10 | 0,89 | / | 2352 | / | / | 228 | / |
| | 10>20 | 0,83 | / | 2353 | / | / | 944 | / |
| | 20>50 | 0,31 | / | 88 | / | / | 19 | / |
| | 50>80 | 0,20 | / | 61 | / | / | 20 | / |
| COMPARAISON AGRICOLE / INDUSTRIEL | | | | | | | | |
| Apport anthropiques | | | | | | | | |
| (Allemagne, 1985) g/ha/an | | | | | | | | |
| agricole | 3,0-16 | / | / | / | 20-110 | 110-290 | / | 180-1800 |
| urbain/industriel | 4,0-37 | / | / | / | 37-290 | 365-1100 | / | 365-1100 |
| maximum zones urbaines et industrielles | 1100 | / | / | / | 4380 | 14600 | / | 328500 |

proximité de voies de communication majeures et de centres industriels par une gestion passée de l'activité ne prenant pas en compte les aspects environnementaux (traitement de surface, fonderies, ...) (Lovett, 1994 ; Seaward & Richardson, 1989 ; Harrisson & Johnston, 1995), les apports massifs et localisés de polluants lors d'accidents par exemple, et enfin les transferts latéraux de surface par ruissellement sur des axes routiers par exemple.

1.1.1. Fond géochimique

La teneur en métaux des sols est fonction, d'une part de la nature de la roche mère et des minéraux qui la constituent et, d'autre part, du type d'altération qu'elle subit lors de la pédogenèse (Pédro & Delmas, 1970 ; Fetzer *et al.*, 1991). Les métaux sont présents à l'état naturel dans les roches à des concentrations de l'ordre du mg kg⁻¹ de matière sèche (MS) ou du µg kg⁻¹ MS. Ils peuvent être progressivement ou brutalement mobilisés par des processus naturels pour être redistribués en concentrations plus faibles dans les sols. Par exemple, les teneurs du nickel (Ni) sont particulièrement élevées sur roche-mères marneuses ou calcaires du Lias (Ruppert & Schmidt, 1987). Une étude réalisée dans le cadre du programme ASPITET (Baize, 1993) donne les gammes des teneurs totales en mg kg⁻¹ de sol, exception faite des sols notoirement pollués, qui s'étendent de 1 à 430 pour Cd, de 1 à 500 pour Cu, de 1 à 1 500 pour Cr, de 1 à 4 800 pour Ni, de 1 à 7 000 pour le Pb et de 1 à 38 000 pour Zn.

1.1.2. Retombées atmosphériques

Les métaux peuvent être redistribués de façon intense par l'activité industrielle (Kabata Pendias & Pendias, 1986 ; Alloway, 1990 ; Scherer, 1990 ; Jones *et al.*, 1992 ; Rebele *et al.*, 1993 ; Kafka & Kuras, 1994 ; Lovett, 1994). Les flux de métaux se font alors sous forme de rejets atmosphériques, d'effluents ou de déchets vers les sols des sites industriels ou vers la périphérie de ces sites (Bullock & Gregory, 1991). Les retombées atmosphériques sont la source essentielle de métaux en périphérie des sites industriels et au voisinage des villes (Tableau 3). Zn, Pb et Cu sont apportés aux sols à raison de plusieurs kg ha⁻¹ an⁻¹. Les retombées atmosphériques sont considérées comme le "bruit de fond" de l'enrichissement en métaux des sols. Une étude réalisée en périphérie d'un site sidérurgique en Allemagne (Sarre) a montré un enrichissement en Pb, Zn et Cd des sols de surface (0-20 cm) (Scherer, 1990).

Tableau 3. Augmentation des teneurs des métaux de sols à proximité d'un centre métallurgique

| Teneur "normale" (mg kg ⁻¹) | Situation Eloignement du centre métallurgique | | | | |
|---|--|------|------|------|------|
| | 1 km | 2 km | 3 km | 4 km | 6 km |
| Pb 30 | 30 X | 15 X | 6 X | 4 X | 3 X |
| Hg 0,03 | 20 X | - | 6 X | - | - |
| Cd 0,5 | 20 X | - | - | 3 X | - |

source: Godin, 1983

Des teneurs de 1 940 mg Cu kg⁻¹, 386 mg Zn kg⁻¹, 4,7 mg Cd kg⁻¹ et 774 mg Pb kg⁻¹ ont été mesurées dans des sols voisins d'une mine de cuivre en Corée du Sud (Jung & Thornton, 1994). Heindrichs et Mayer (1977) constatent que l'apport atmosphérique de Cu en Allemagne est en moyenne de 224 g ha⁻¹ an⁻¹. Si les métaux présents dans les racines des plantes proviennent du sol, les métaux présents dans ou sur les feuilles sont majoritairement issus de retombées atmosphériques (Voutsas *et al.*, 1996). Les aérosols urbains et en particulier routiers contiennent généralement d'importantes quantités de métaux et peuvent présenter une source significative de pollution pour les sols (Hewitt & Rashed, 1991 ; Lebreton & Thévenot, 1992 ; Münch, 1993 ; Sanka *et al.*, 1995). Pour une route en service depuis 1961 au trafic moyen de 3 200 véhicules par jour, les teneurs de Cd et de Pb sont 5 fois plus élevées que celles d'avant la mise en service de la route. Les teneurs de Cr, Ni et Zn augmentent de facteurs 2 à 4. Les concentrations observées directement au voisinage de la route sont de 2 mg Cd kg⁻¹, 64 mg Cr kg⁻¹, 34 mg Cu kg⁻¹, 0,12 mg Hg kg⁻¹, 32 mg Ni kg⁻¹, 245 mg Pb kg⁻¹, 241 mg Zn kg⁻¹. On observe une décroissance exponentielle du niveau de contamination depuis la route vers la périphérie. Ces dépôts atmosphériques de polluants peuvent avoir un effet toxique sur les plantes (Seaward & Richardson, 1989).

1.1.3. Déchets et produits dérivés

En Europe, environ 30 % des 6 millions de tonnes de boues de stations d'épuration produites sont valorisées en agriculture. En France, cette proportion approche les 50 % (Juste *et al.*, 1995). Les problèmes soulevés sont nombreux (ANRED, 1988 ; Schönberger, 1990 ; Baltzer, 1993 ; Wiart et Verdier, 1994). Les teneurs en métaux des boues et par voie de conséquence des sols réceptacles sont à surveiller (Tableaux 4 et 5) (Valdares *et al.*, 1983 ; McGrath & Lane, 1989 ; McBride, 1995 ; Logan *et al.*, 1997). Des épandages répétés entraînent une augmentation des teneurs en Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd et Hg des sols (Tableau 6) et ces métaux limitent quelquefois l'utilisation des boues. Le risque potentiel de contamination de la chaîne alimentaire n'est pas à négliger. La pollution par le Cd est de première importance car cet élément est accumulé par les plantes, puis viennent le Pb et le Hg. Le Zn, le Cu, le Ni et le Cd peuvent également être accumulés dans les graines de céréales (Kabata Pendias & Pendias, 1996), pouvant entraîner un risque pour la santé humaine. Les métaux peuvent s'accumuler dans les sols surtout lors d'épandages incontrôlés ou massifs de boues urbaines, certes minoritaires par rapport aux épandages agricoles raisonnés. Toutefois, la matière organique des boues de stations d'épuration peut immobiliser les métaux du sol (Alexandre & Ott, 1979). Cette immobilisation pourrait intéresser des métaux présents à forte concentration dans des sols de friches industrielles où des apports de boues seraient susceptibles de représenter une étape de réhabilitation. Néanmoins, il existe un risque de minéralisation de la matière organique des boues pouvant s'accompagner de la production de substances complexantes ou acides favorisant la mobilisation des métaux (Gomez *et al.*, 1982) et leur transfert vers la chaîne alimentaire.

Tableau 4. Métaux dans les sols agricoles et les boues d'épuration urbaines*source: Juste et al., 1995 ; Ferguson, 1990 ; Kloke, 1980*

| | Cd | Cr | Cu | Hg | Ni | Pb | Zn |
|---|-------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| Teneurs dans les sols (mg kg⁻¹) - sols non contaminés | | | | | | | |
| moyenne | 0,23 | 29 | 20-30 | 0,03 | 20 | 24 | 3,0-50 |
| valeurs extrêmes | 0,05-1,00 | 3-66 | 8-40 | 0,01-1 | 0,3-44 | 3-85 | 2-279 |
| Sol + boues | 0,29 | 42 | 55 | 0,1 | 25 | 40 | 68 |
| Teneurs dans les boues (mg kg⁻¹ MS) | | | | | | | |
| moyenne | 4,5 | 64 | 896 | 2,1 | 135 | 107 | 2910 |
| valeurs extrêmes | - | - | 180-8100 | 4-12 | 25-5500 | 2-1500 | 600-11000 |
| Teneurs maximales admissibles dans les sols (France - norme NFU 44041) | | | | | | | |
| sols (mg kg ⁻¹) | 2 | 150 | 100 | 1 | 50 | 100 | 300 |

Tableau 5. Concentrations moyennes des métaux de boues de stations urbaines françaises (1992-1994, en mg kg⁻¹ MS)*source : Juste et al., 1995*

| | Cd | Cr | Cu | Hg | Ni | Pb | Zn |
|-------------------|-----|------|------|-----|-----|------|------|
| Nombre de données | 224 | 235 | 236 | 227 | 236 | 234 | 237 |
| Moyenne | 5,3 | 80 | 334 | 2,7 | 39 | 133 | 921 |
| Norme Référence | 20 | 1000 | 1000 | 10 | 200 | 800 | 3000 |
| Norme Limite | 40 | 2000 | 2000 | 20 | 400 | 1600 | 6000 |

Tableau 6. Estimation de l'augmentation en 50 ans des teneurs des métaux des sols dans le cas d'un épandage de boues de stations d'épuration

| Augmentation en 50 ans par rapport à une teneur moyenne du sol | Métaux concernés dans le cas d'un épandage agricole de boues de stations d'épuration |
|--|--|
| très importante >5X | Hg (12X) |
| importante > 100 % | Cd, Cu, Zn |
| moyenne 20-100 % | Pb |
| notable 5-20 % | Ni, Cr, B |
| faible 1-5 % | Mn, Co, As |

source: Godin, 1983

Les contaminants des sols à surveiller particulièrement sont en première priorité Hg, Pb, Cd avec un risque élevé de transfert de Cd aux plantes et en seconde priorité Zn, Cu, Ni avec le risque d'atteindre les seuils de toxicité vis-à-vis des végétaux par des apports trop élevés et trop fréquents de boues. Les boues d'épuration peuvent également contenir des métaux précieux. En Allemagne, les boues d'épuration contiennent de 280 à 56 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS d'or et jusqu'à 10 - 26,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS de platine (Lottemoser, 1994). D'autres types d'enrichissements de sols en métaux peuvent avoir lieu. Les sols peuvent être le réceptacle de déchets industriels (déchets miniers ou déchets pétroliers (Ni de boues de raffinage) par exemple. Ces types de déchets sont

souvent stockés directement sur des friches industrielles. Il y a absence d'informations exhaustives et fiables concernant la pollution des sites industriels en France. On compte 20 000 ha de friches industrielles, surtout dans le Nord et la Lorraine. Il n'existe toutefois que peu de renseignements sur la nature et le niveau de pollution des sols. Des boues de curage de ports et de cours d'eau peuvent également apporter des métaux aux sols. Par exemple, dans le Nord, près de 4 000 km de cours d'eau doivent être curés chaque année. Les 200 000 t de MS de boues sont apportées sur les sols avoisinants. Les teneurs en Zn, Pb et Cd peuvent respectivement atteindre 55 000, 3 000 et 25 mg kg⁻¹ MS (Six, 1988 ; Darmendrail *et al.*, 1991).

1.2. Localisation des métaux le long du profil de sol

La contamination des sols peut être détectée par une méthode de comparaison verticale. Il y a très souvent une accumulation en surface des métaux issus d'apports extérieurs. Une concentration en métaux qui diminue en allant vers la profondeur du profil de sol traduit une pollution anthropique (Vogel *et al.*, 1992). Pour les sols agricoles, la discontinuité est très nette au dessous de l'horizon cultivé. Il peut cependant y avoir une remontée d'éléments issus du fond géochimique par l'intermédiaire de la végétation et de l'activité racinaire (Domergues et Védy, 1992).

1.3. Destinée des métaux du sol

1.3.1. Exportation par les récoltes de plantes cultivées

Dans le cas d'apports de boue d'épuration urbaine, le compartiment des métaux exporté par les récoltes n'est jamais supérieur à 1% de l'apport de métaux par les boues (Tableau 7). Il peut alors être considéré comme étant négligeable. Dans le cas du jardinage amateur, il ne faut néanmoins pas négliger le transfert possible de métaux depuis des sols de jardins vers des végétaux consommés (Schumacher *et al.*, 1993 ; Schwartz, 1993 ; Schwartz *et al.*, 1997).

Tableau 7. Quantités cumulées de métaux exportées par les cultures successives issues de dispositifs de longue durée amendés par des apports de boues d'épuration urbaine (en % de la quantité totale de métal apportée par les boues)

| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
|--|------|------|------|------|------|------|
| Market Garden (Angleterre) 20ans | 0,28 | 0,03 | 0,16 | 0,37 | 0,06 | 0,57 |
| Couhins (France) 9 ans | 0,02 | 0,22 | 0,10 | 0,05 | 0,00 | 0,19 |

source : Juste *et al.*, 1995

1.3.2. Lessivage vers les horizons profonds du profil

Le sol a un fort pouvoir mobilisateur. Dans les sols agricoles, les métaux se localisent surtout dans les 15 premiers cm du profil. Un enrichissement dans la couche 15-40 cm peut être dû à un mélange avec la couche superficielle lors du travail du sol. Pour des sols sableux il peut y avoir enrichissement jusqu'à 60-80 cm, surtout pour Zn, Cd, Ni et Cu. Mais les quantités lessivées ne dépassent pas 10 % de la quantité de métal totale dans le profil. Ce compartiment du devenir des métaux est donc considéré comme peu important, voire négligeable. Il faudra toutefois considérer les risques de lessivage en cas d'acidification des sols ou de transferts particuliers le long de fentes de retrait par exemple. Certains sols industriels présentent une très forte hétérogénéité de la répartition des métaux sur le profil (Figure 1).

1.3.3. Accumulation

Le compartiment des métaux accumulés dans les sols représente un défaut très important pouvant atteindre 70 % dans le bilan après apport de boues d'épuration urbaines (Tableau 8). Il est d'autant plus important que les apports de boues sont massifs et qu'une longue période suit l'interruption des apports de la réalisation du bilan. Les métaux, peu mobiles dans les sols sauf à pH acide, ne présentent que de faibles risques de lessivage ou d'accumulation dans les plantes aux doses d'épandage pratiquées (Ferguson, 1990). Il est toutefois probable qu'à long terme, des enrichissements sensibles en métaux puissent être observés dans les sols. McGrath (1987) a montré que des teneurs anormales de Zn, Cu, Ni, Cd et Cr ont persisté dans le sol de surface d'un essai, 20 ans après application de boues. Des symptômes aigus de phytotoxicité, surtout dus à des excès de Zn ont été observés.

Tableau 8. Quantités cumulées de métaux apportées par des boues d'épuration urbaines retrouvées dans les sols de dispositifs de longue durée (% de la quantité totale d'éléments incorporée) *source : Juste et al., 1995*

| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Market Garden (Angleterre) 20ans | 40 | 42 | 32 | 40 | 42 | 35 |
| Couhins (France) 9 ans | 45 | 60 | 64 | 57 | 25 | 40 |

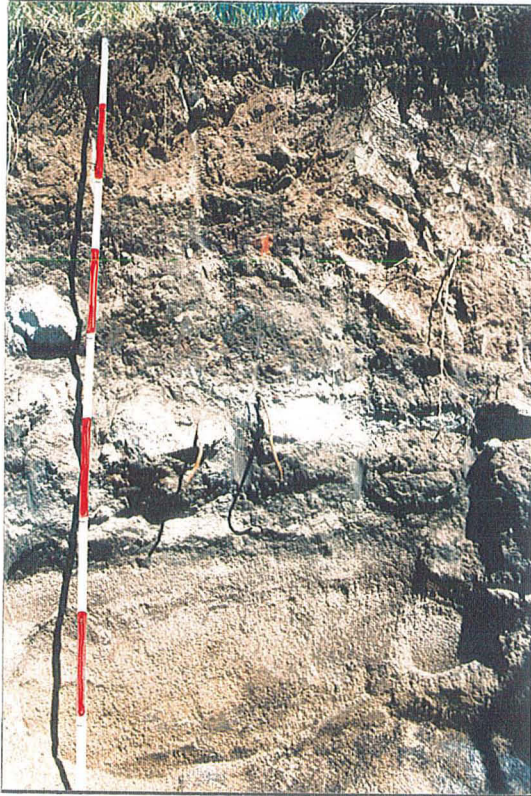
1.3.4. Entraînement par érosion

Les défauts du bilan des métaux présents dans les sols s'expliquent souvent par une exportation hors des parcelles par érosion éolienne ou hydrique (Juste *et al.*, 1995).

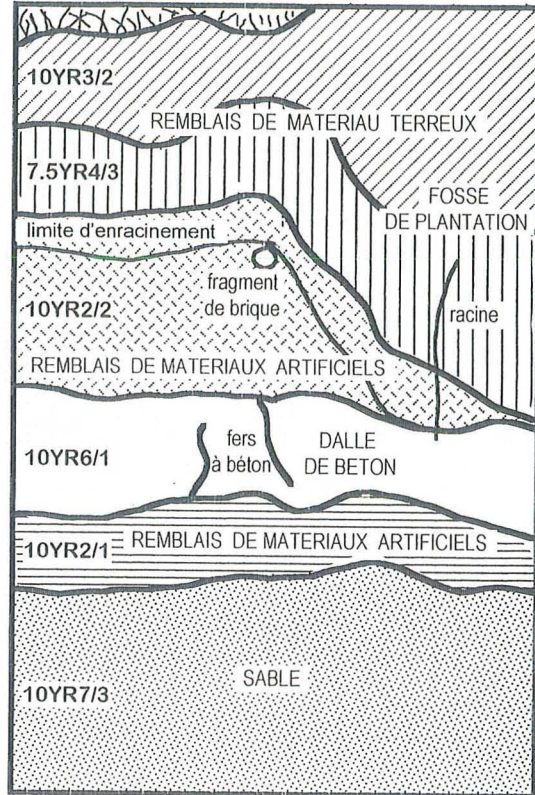
Figure 1. Exemple de profil de sol industriel (Schwartz *et al.*, 1997)

Activité initiale: aciéries et usines métallurgiques - crassier - talutage de crassier

photographie du profil



croquis du profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ % | Fe ‰ | | CaCO ₃ % | | Cd élément | Cu total | Ni total | Pb total | Zn total |
|-------------|-----|--------------------|------|------|--------|--------|-------|---|------|-------|-------|------|------------------------------------|---------|-------|------------------------|-------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | | total | libre | total | actif | | | | | |
| 0 - 25 | 8,1 | 24,8 | 29,6 | 45,8 | 1,92 | 0,160 | 12,0 | 38,8 | 1,29 | 0,261 | 0,093 | 14,2 | 0,390 | 35,2 | 19,5 | 4,7 | - | 0,885 | 40,5 | 31,9 | 261,2 | 348 |
| 25 - 45 | 8,4 | 15,4 | 21,8 | 62,8 | 0,97 | 0,071 | 13,7 | 30,7 | 1,27 | 0,308 | 0,074 | 9,8 | 0,108 | 28,2 | 16,7 | 3,3 | - | 0,384 | 17,8 | 23,4 | 113,8 | 179 |
| 45 - 90 | 8,6 | 8,0 | 19,5 | 72,5 | 6,58 | 0,146 | 45,1 | 46,1 | 8,46 | 4,128 | 0,403 | 29,0 | 1,590 | 63,2 | 36,9 | 15,0 | 3,7 | 41,09 | 126 | 43,0 | 8460 | 10600 |
| 90 - 110 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 110 - 135 | 9,3 | 1,3 | 1,0 | 97,7 | 0,91 | 0,012 | 75,8 | 11,1 | 0,37 | 0,265 | 0,027 | 1,4 | 0,019 | 5,0 | 2,5 | 8,2 | 0 | 0,044 | <2,0 | <2,0 | 11,5 | 24,7 |
| > 135 | 8,8 | 1,4 | 2,9 | 95,7 | 0,73 | 0,005 | 146,0 | 42,0 | 1,51 | 3,231 | 0,557 | | 0,017 | 5,9 | 2,9 | 12,2 | 1,0 | <0,02 | <2,0 | <2,0 | 6,2 | 20,8 |

Remarques:

- zone de reverdissement
- hétérogénéité des matériaux - reblais de matériaux terreux et fosse de plantation
- reblais de déchets de l'activité industrielle (laitier, fines...)
- variabilité horizontale et verticale des matériaux et de leur qualité (C, P, Cd, Cu, Pb et Zn enrichis dans l'horizon 45-90 cm)
- limitation du développement racinaire aux matériaux terreux qui présentent une fertilité physico-chimique équivalente à celle d'un sol cultivé sans enrichissement notable en élément trace
- transition brutale matérialisée par une dalle de béton d'anciennes fondations susceptible de modifier la circulation de l'eau et des éléments dans le profil

1.4. Problèmes spécifiques à quelques métaux

1.4.1. Cadmium

Le cadmium (Cd) est un métal rare, 67^{ème} élément par ordre d'abondance dans la lithosphère. Le Cd n'est essentiel pour aucune fonction biologique et est hautement toxique (Bernard & Lauwerys, 1984 ; Yost, 1984). Le Cd est géochimiquement fortement associé au Zn. La production d'une tonne de Zn pur s'accompagne obligatoirement de celle de 3 à 4 kg de Cd pur. Pour les sols non contaminés, on admet que la concentration moyenne de Cd se situe vers 0,2 mg kg⁻¹ de sol sec. Cette valeur moyenne traduit imparfaitement la diversité des données qui sont liées principalement à la nature de la roche-mère (sols sur roches éruptives: 0,1 - 0,3 mg kg⁻¹ - roches métamorphiques: 0,1 - 1 mg kg⁻¹ - formations sédimentaires: 0,3 - 11 mg kg⁻¹). D'après Kabata Pendias et Pendias (1986), la majorité des teneurs supérieures à 0,5 mg kg⁻¹ reflètent une influence anthropique sur le statut du Cd dans les sols de surface. Le Cd est assez mobile dans la plupart des sols. Sa mobilité, essentiellement fonction du pH (très mobile à pH 4,5 - 5,5) et du potentiel redox (Herms & Brümmer, 1977), est supérieure à celle du Zn et inférieure à celle du Ni. A l'échelle de la totalité du territoire, la contribution des boues résiduaires à la pollution cadmiée des sols est de 2 à 5 %, alors que la contribution de la fertilisation minérale est de 54 à 58 % et celle de l'atmosphère de 39 à 41 % (CECAD, 1992). Il existe un déficit pour ce qui concerne la connaissance à long terme de l'évolution de la biodisponibilité de Cd après arrêt de l'apport de boues. On sait cependant qu'il y a une augmentation des formes échangeables de Cd après application de boues urbaines. Les teneurs en Cd sont élevées dans les sols de surface voisins de mines de Pb et de Zn et plus particulièrement près de fonderies (Valerio *et al.*, 1995). Le pH du sol est le facteur qui influence le plus le transfert de Cd à la plante. Cependant, des résultats contradictoires montrent que si le Cd devient plus mobile dans certains sols alcalins, c'est en raison de la formation de complexes ou de chélates. Il faut noter que le prélèvement de Cd anthropique par l'épinard est 3 fois plus important que celui de Cd du fond géochimique.

1.4.2. Chrome

Le chrome (Cr) naturellement présent dans les sols est hérité de la roche-mère. La teneur moyenne des sols mondiaux est de 54 mg kg⁻¹, mais les sols formés sur serpentinite peuvent en contenir jusqu'à 40 000 mg kg⁻¹. Les augmentations de teneur en surface sont dues aux émissions atmosphériques de l'industrie du fer et de l'acier ou de l'épandage de déchets industriels et urbains. Le Cr est très peu mobile à l'état d'oxydation III dans les sols mais peu être prélevé par les plantes en faible quantité (Sharma *et al.*, 1995). L'apport d'une boue urbaine dans un sol revient à augmenter la quantité de composés de Cr généralement réduit à l'état d'oxydation III sous forme d'hydroxydes et de complexes organo-métalliques. Cet état se maintient d'autant plus facilement que le sol se situe à des valeurs de pH comprises entre 5 et 8. Les apports de chaux, de phosphates et de matière organique sont considérés comme des

traitements efficaces pour réduire la toxicité des chromates dans des sols pollués. Aussi, des contaminations par Cr_{VI} peuvent être traitées par l'ajout de matières organiques réductrices, suivi d'un chaulage approprié au maintien dans le sol de composés de Cr_{III} stables et peu mobiles. Il existe peu de données expérimentales sur la mobilité et la forme dominante de Cr dans les sols calcaires à pH élevé, amendés par les boues. La question devrait être étudiée dans le cas d'épandage agricole de boues industrielles très chargées en Cr provenant du tannage des peaux et des industries des déchets de peaux tannées (Juste *et al.*, 1995).

1.4.3. Cuivre

Le cuivre (Cu) est assez bien réparti dans le profil de sol. Il se fixe préférentiellement sur la matière organique, les oxydes de Fe, de Mn et les argiles minéralogiques. La localisation en surface du Cu résulte d'actions anthropiques : pollutions atmosphériques générées par la combustion de sources d'énergie fossiles provenant des zones industrielles et urbaines, pratiques culturales dans les vignobles et les vergers (fongicides à base de CuSO₄), épandage de boues d'épuration. En Angleterre, les apports moyens annuels de Cu par l'atmosphère sont de 100-480 g ha⁻¹. En contrepartie, l'assimilation par les cultures est de 50-100 g ha⁻¹. Dans les sols agricoles la teneur totale en Cu varie en moyenne de 1 à 70 mg kg⁻¹ de sol. Cependant le Cu extractible varie de 0,1 à 10 mg kg⁻¹ selon le réactif utilisé. Ceci reflète l'importance de la liaison de complexation Cu-matière organique dans la biodisponibilité du métal. La nature et la durée de vie des complexes Cu-matière organique déterminent le degré de biodisponibilité du métal, en particulier après épandage de boues urbaines. La pollution par Cu peut atteindre 3 500 mg kg⁻¹ si elle est d'origine industrielle et 1 500 mg kg⁻¹ si elle est d'origine agricole (Juste *et al.*, 1995).

1.4.4. Mercure

De nombreuses espèces chimiques du mercure (Hg) sont volatiles et susceptibles de donner lieu, après réoxydation, à des retombées atmosphériques qui se produisent souvent très loin des lieux d'émission (Malm *et al.*, 1995). En périphérie de zones industrielles, les retombées sont en moyenne de 200 à 600 mg ha⁻¹ an⁻¹. Longtemps les intrants agricoles (fongicides, produits de protection des semences) ont apporté du Hg dans un ordre de grandeur d'1 g ha⁻¹ an⁻¹. Le Hg est fortement retenu dans la phase solide. Il faut toutefois remarquer que dans la plupart des sols, la particularité essentielle du Hg est son aptitude à la méthylation. La moitié de la quantité de Hg appliquée au sol peut être perdue par volatilisation. L'état des lieux relatif à l'estimation du niveau moyen en Hg des sols demeure largement incomplet. L'acquisition d'informations sur la biodisponibilité de Hg est un préalable indispensable pour une première évaluation du risque de dissémination de Hg lié à l'épandage des boues résiduelles et à l'activité industrielle.

1.4.5. Nickel

Contrairement au nickel (Ni) provenant de la roche-mère, celui d'origine exogène (boues, industrie) est facilement mobilisable et est donc susceptible de migration au sein du profil. La

concentration moyenne de Ni dans les sols est de 40 mg kg⁻¹. Cependant, les concentrations peuvent atteindre 100 à 7 000 mg kg⁻¹ dans des sols de serpentines développés sur des roches ultramafiques (péridotites, pyroxénites) et des roches mafiques (gabbros, basaltes) (McIlveen & Negusanti, 1994). La mobilité et la biodisponibilité du Ni issu de boues ou de sels est souvent supérieure à celle d'autres métaux. Il peut y avoir des antagonismes avec le Cu et le Zn lors du prélèvement de Ni par la plante (Cataldo *et al.*, 1978). L'information relative à la mobilité actuelle ou possible de Ni issu du fond géochimique est insuffisante. Il faut remarquer que la valeur maximale de Ni dans les sols donnée par la norme (50 mg kg⁻¹ de sol sec) (AFNOR, 1985) est très proche du fond géochimique dans le grand Nord-Est de la France. Les épandages de boues y sont donc souvent compromis.

1.4.6. Plomb

En raison du caractère ubiquiste et ancien de la contamination par le plomb (Pb) issu de retombées atmosphériques, il est difficile de définir la part du fond géochimique (Bruckert *et al.*, 1979). Il est cependant admis que les sols non perturbés par des apports anthropiques contiennent de 10 à 30 mg kg⁻¹ alors que ceux affectés par une contamination diffuse en zones éloignées des centres urbains ou industriels en renferment de 30 à 100 mg kg⁻¹. Des valeurs supérieures à 110 mg kg⁻¹ traduisent la proximité directe d'une source émettrice (Schoof *et al.*, 1995). On notera que de nombreux sols de vignes, de vergers ou de maraîchage qui ont été traités par des pesticides à base de Pb, renferment en général des teneurs supérieures à 120 mg kg⁻¹. Des teneurs de 100-500 mg kg⁻¹ sont considérées comme potentiellement toxiques par certains auteurs (Kabata Pendias & Pendias, 1986). On peut citer des valeurs de près de 900 mg kg⁻¹ pour de très vieux vergers. Le Pb est l'un des micropolluants métalliques le moins mobile du sol. Dans la gamme de pH de 5 à 9 et à des concentrations totales molaires identiques, le Pb est 100 fois moins mobile que le Cd. De plus, la grande affinité de la matière organique pour le Pb explique l'accumulation préférentielle de ce métal dans l'horizon de surface des sols. Cette accumulation intéresse surtout le Pb d'origine anthropique. Le rapport de la concentration du métal dans l'horizon 0-15 cm à sa concentration dans l'horizon 30-45 cm peut varier de 4 à 20 dans les sols soumis à des retombées atmosphériques importantes alors qu'il est compris entre 1,2 et 2 dans les zones éloignées de toute source contaminante notable. Lors de l'application de fortes quantités de boues, il a quelquefois été constaté un déplacement du métal vers la profondeur du profil. Ceci traduit une probabilité non nulle de mobilité et de risque. Concernant les sols et compte tenu de la faible biodisponibilité de Pb, les teneurs maximales de 50 mg kg⁻¹ préconisées par certains pays semblent sévères et peuvent conduire à interdire l'épandage de boues sur de nombreuses portions du territoire comme la périphérie des axes routiers et des centres urbains. Les très faibles mobilité et biodisponibilité du Pb amènent à conclure qu'il représente un facteur de risque assez négligeable lors de l'épandage de boues. On doit toutefois considérer que la faible mobilité du métal conduit à son accumulation dans l'horizon de surface, ce qui peut le rendre sensible aux phénomènes de transport particulaire intervenant lors de

l'érosion. Ces phénomènes peuvent également se produire à partir de sites industriels comme des fonderies de Pb par exemple.

1.4.7. Zinc

Le zinc (Zn) est un élément essentiel à la vie animale et végétale qui devient phytotoxique à fortes doses (comme le Ni et le Cu). Les concentrations totales moyennes de Zn sont de 17-125 mg kg⁻¹ dans les sols de surface. Le Zn est facilement adsorbé sur les composants minéraux et organiques, ce qui conduit à une accumulation dans les horizons de surface de la plupart des sols. La balance de Zn dans les sols de différents écosystèmes montre que les entrées atmosphériques du métal dépassent les sorties par lessivage et production de biomasse. Des fonderies de Zn peuvent polluer les sols en périphérie d'usine jusqu'à des valeurs dépassant 1000 mg Zn kg⁻¹. Des enrichissements superficiels ont été observés jusqu'à plusieurs dizaines de km en périphérie de fonderies. On retrouve des enrichissements en Zn dans des sols de jardins potagers en raison d'arrosages répétés avec de l'eau de pluie ayant transité par des gouttières galvanisées (Schwartz, 1994). Coulaud et McNeilly (1992) ont observé des teneurs de Zn élevées atteignant 3 800 mg kg⁻¹ au pied de pylônes électriques galvanisés. L'apport de boues de stations d'épuration modifie la distribution du Zn dans le sol en augmentant les formes solubles et échangeables. Le Zn est considéré comme assez facilement soluble, comparé aux autres métaux du sol. Il est très mobile et disponible dans les sols légers acides. La solubilité et la biodisponibilité du Zn sont inversement corrélées avec la saturation en calcium (Ca) et en composés du phosphore (P) dans les sols.

1.5. Etat et réactivité des métaux dans les sols

Les métaux du sol se trouvent en équilibre dynamique entre différents compartiments (Juste, 1988 ; Morel, 1996). Le concept de compartiment prend en compte les notions de site de fixation et celle de spéciation des métaux. Dans le sol, les métaux peuvent se retrouver sous forme soluble, insoluble, complexés ou non à des minéraux ou à des ligands organiques. Les métaux peuvent être complexés ou inclus dans les composés humiques. Les complexes sont formés grâce à la propriété qu'ont de nombreux ions, surtout des métaux, d'attirer et de grouper autour d'eux des ions ou des molécules appelés ligands. Les métaux peuvent être échangeables à partir des argiles et des composés humiques. Les cations métalliques fixés par le complexe absorbant sont susceptibles d'être remplacés par d'autres cations venant de la solution du sol. Les métaux peuvent être "camouflés" dans des minéraux primaires et secondaires ce qui les rend non différenciables. Une fraction des métaux est adsorbée sur les phases hydroxyles de Fe, Al et Mn. Le cation métallique est fixé sur le complexe absorbant représenté par l'ensemble des colloïdes (argiles, humus, oxydes et hydroxydes de Fe, Al et Mn) dotés de charges négatives susceptibles de les retenir sous une forme échangeable. La fixation se fait par différents types de liaisons d'énergie plus ou moins forte. Les métaux peuvent également être sequestrés dans des résidus biologiques issus des tissus animaux et végétaux morts. Une faible partie des métaux est

dans la solution du sol. Ils sont appelés solubles. Ils sont libres dans la solution du sol et peuvent être absorbés par la plante ou adsorbés par le complexe absorbant. Le concept de mobilité est essentiel pour comprendre le statut des métaux dans les sols. La répartition des métaux des sols n'est pas fixe dans le temps. Des échanges ont lieu entre les différents compartiments à des vitesses variables. Ces échanges dépendent des conditions de milieu (pH, aération, température, conditions d'oxydo-réduction, ...). La mobilité d'un élément est l'aptitude de cet élément à passer dans les compartiments du sol où il est de moins en moins énergiquement retenu, le compartiment ultime étant représenté par la phase liquide, ou dans certains cas l'atmosphère du sol. S'ils sont mobiles, les métaux peuvent être transférés du sol vers les racines des plantes ou vers d'autres compartiments de l'écosystème. La mobilité peut influencer l'activité biologique et la fertilité des sols (Domergues & Védy, 1992). La solubilité et la toxicité des métaux varient selon la forme physico-chimique du métal liée aux propriétés fondamentales du sol. Le pH peut être considéré comme le facteur principal intervenant dans la mobilité des métaux (Morel *et al.*, 1994). Sous forme cationique (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}), les métaux sont plus mobiles à pH acides et lorsque le pH d'un sol augmente (après chaulage par exemple), la biodisponibilité de ces éléments diminue (Alloway, 1990). Ainsi, Ni est plus accessible quand le pH diminue et donc son accumulation par la plante augmente (Homer *et al.*, 1991). Il existe des antagonismes entre éléments. Les plantes peuvent être exposées simultanément à des polluants variés. L'influence de la multipollution est alors différente de celle des éléments pris séparément. Sur maïs ou blé, le P induit par exemple des déficiences foliaires et racinaires en Zn (Khan & Zende, 1977). Chez *Alyssum*, l'accumulation de Ni apparaît comme une adaptation à la déficience en P des serpentines (Gabbrielli *et al.*, 1988). Les conditions climatiques (froid, raccourcissement de la photopériode) peuvent impliquer une diminution du développement racinaire et/ou de la mobilité des métaux.

2. Les risques liés à la présence de métaux dans les sols

Des données sur le risque pour la santé humaine consécutifs à une ingestion de Cd, Pb ou Hg ont été obtenues par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (1996) cité par Chassin *et al.* (1997). Ces auteurs indiquent que pour Pb, les principaux apports proviennent de la consommation des céréales, des légumes, des produits laitiers et des boissons pour des parts respectives d'environ 14, 22, 14 et 27 %. Les origines sont équivalentes pour Cd. Le Cd est présent naturellement dans certains sols à des teneurs allant de 1,4 à 22 mg kg⁻¹. Il peut par exemple être prélevé par des végétaux comme le radis en quantité suffisante pour représenter un risque pour la santé humaine (Lund *et al.*, 1981).

2.1. Définition du risque et notion de biodisponibilité

L'évaluation du risque présenté par la pollution métallique des sols est une question complexe. Elle implique la prise en considération de différents facteurs comme l'intensité de la pollution et la forme chimique du ou des métaux polluants. De nombreux termes comme risque, danger,

nuisance, aléas, dommage, évaluation du risque sont utilisés pour qualifier un site. Lorsqu'on parle de risque, il faut distinguer l'exposition au danger et ses conséquences. L'évaluation des risques repose sur les principes de l'évaluation de l'exposition de cibles et de l'évaluation de la toxicité des composés présents. A la notion de risque est liée une notion statistique. Son évaluation consiste en effet à calculer la probabilité pour la population de recevoir une certaine dose de polluant ou d'être en contact avec lui à partir d'une pollution du milieu. Cette notion de probabilité s'applique à la cible et aux nuisances qu'elle peut subir une fois la pollution constatée. Quels sont les effets possibles d'une exposition à une substance ? Pour cela, il faut connaître ou estimer des inconnues comme par exemple la quantité exacte de polluant déversé ou la courbe dose-réponse de ce polluant envers les personnes. Les méthodes d'évaluation du risque sont nombreuses. Elles consistent souvent en une analyse du mode de défaillance d'un système et des effets induits. On recherche tous les événements susceptibles de mettre un système hors d'état. Cet inventaire est suivi d'une étude aussi exhaustive que possible des différentes successions des causes par lesquelles ces événements peuvent produire la défaillance du système. La probabilité de chaque mode de défaillance doit être étudiée. On établit des courbes de défaillance ou un arbre des causes qui décrit les composantes du système et qui montre comment le dysfonctionnement de chaque composante perturbe le fonctionnement général. Grâce à cette analyse, on détermine le risque de panne du système entier, dans des conditions données, à partir de la probabilité de panne de chaque composante. Dans notre cas, une panne peut être le transfert de métaux vers l'écosystème ou l'homme, pouvant affecter sa santé. Pour être transféré d'un compartiment à un autre, le métal doit être mobile et pour être assimilé par un organisme vivant il doit être biodisponible. La biodisponibilité est en relation directe avec la mobilité des métaux. La biodisponibilité d'un élément est son aptitude à être transféré d'un compartiment quelconque du sol vers un organisme vivant dans ou sur ce dernier (plante, microorganismes, ...). Pour les plantes on parle de phytodisponibilité. A ce titre, les interactions sol/plante au niveau de la rhizosphère sont fondamentales. Elles influencent le comportement et la biodisponibilité des métaux dans le sol (Morel, 1985 ; Morel *et al.*, 1986). La mobilisation et le transport des métaux des surfaces racinaires vers l'intérieur de racines sont influencés par les exsudats racinaires. Ils entraînent des changements de propriétés physico-chimiques dans la rhizosphère, des phénomènes d'acidification, de chélation, de précipitation ou encore de solubilisation (Morel *et al.*, 1986, 1987 ; Mench & Martin, 1991). L'extraction des métaux par les plantes varie en fonction du type de sol et du mode de culture, des espèces végétales et de la densité du système racinaire (Alloway, 1990), du type de métal et de sa concentration et de la nature des exsudats racinaires (Mench & Martin, 1991).

2.2. Cibles des métaux : les organismes (en particulier l'homme) et les écosystèmes

Le sol est le principal réceptacle des métaux. C'est un lieu d'accumulation et une source de métaux. Les voies de dispersion ou vecteurs des métaux sont multiples. Les cibles sont

l'homme et les écosystèmes. De nombreux travaux ont privilégié les risques de contamination de la chaîne alimentaire via les transferts sol- plante. Il faut également considérer les transferts sol-animal, sol-homme, sol-atmosphère, ou sol-eau si l'on veut évaluer les principaux impacts de l'accumulation des métaux dans les sols à moyen et à long terme (Chassin & Juste, 1997). Les principaux scénarios d'exposition possibles pour l'homme sont l'ingestion d'eau ou de sol contaminés, l'inhalation de poussières ou encore l'ingestion de végétaux souillés ou ayant accumulé des métaux.

2.3. Mesures et suivi des risques écotoxicologiques et sanitaires

La contamination des sols est une question très complexe lorsqu'on veut définir les seuils et les types de contamination inacceptables (Bridges, 1991). Une certaine confusion a entraîné un grand nombre de valeurs seuils réglementaires en fonction des pays ou même des Régions ou Etats au sein d'une même Nation (Dzombak *et al.*, 1993). Ces normes ou directives édictées au cas par cas sont forcément fragmentaires, incohérentes ou incomplètes (Sheppard *et al.*, 1992). Pour les métaux apportés par les boues urbaines aux sols agricoles, McBride (1995) met en question les valeurs limites préconisées par l'US EPA. En France, un guide méthodologique pour "l'évaluation simplifiée des risques et le classement des sites" a été édité par le Ministère de l'Environnement pour aider à la mise en œuvre de la politique nationale de traitement des sites pollués définie par la circulaire du 3 décembre 1993. Ce guide présente la procédure permettant de hiérarchiser les urgences et de définir les priorités d'interventions entre les sites. Actuellement, la majorité des démarches d'évaluation des risques reposent sur une méthode basée sur des modèles théoriques proposée par l'US EPA. Dans un premier temps il faut définir un modèle conceptuel décrivant le comportement de l'agent causal ou stresser, l'exposition des populations cibles et les effets potentiels. Dans un second temps, il est nécessaire de sélectionner des paramètres d'évaluation qui soient des indicateurs pertinents. Puis il faut sélectionner des paramètres de mesure permettant de documenter si possible de manière quantitative la réponse probable pour chaque paramètre d'évaluation. Enfin, nous pouvons déterminer le risque. L'analyse de la pollution peut se faire par voie chimique en association ou non avec des méthodes écotoxicologiques. L'analyse chimique comporte des restrictions. Elle est non exhaustive (on se fixe au départ une liste des substances à doser et à rechercher) et globale (pas d'information sur la forme sous laquelle les polluants se trouvent). Il est alors difficile d'établir des prédictions sur les effets combinés des polluants. Des méthodes d'extractions chimiques simples et rapides ont été développées. Leur but est de simuler les phénomènes qui régulent la biodisponibilité des métaux (Lebourg *et al.*, 1996). La deuxième voie possible d'évaluation des risques est la voie écotoxicologique (Taradellas *et al.*, 1996). Elle comporte quatre phases qui sont la définition de la nature de la pollution, la mesure du niveau de concentration, la connaissance de la sensibilité des organismes exposés et la durée d'exposition. Cette dernière peut être courte avec des concentrations élevées qui entraînent la mort de l'organisme testé : on parle de toxicité aiguë. La durée d'exposition peut être courte et entraîner

une toxicité chronique ou à long terme. Dans ce cas, l'accumulation des polluants dans les tissus peut être mutagène. Des batteries de tests peuvent être employées. Il n'existe pas de batterie standard pour tous les types de polluants. Le test biologique le plus direct se fait avec une plante. Le transfert des métaux du sol aux plantes peut être mesuré après une culture. Ce test a pour avantage d'intégrer l'ensemble des paramètres qui influent sur l'assimilation des métaux. Les essais en vases de végétation ont pour inconvénient d'être longs et coûteux. L'évaluation des risques est une manière de gérer les problèmes environnementaux de plus en plus incontournable à l'avenir, étant donné qu'elle permet d'intégrer la demande sociale et les connaissances scientifiques pour aboutir à des décisions appropriées (Babut, 1997).

2.4. Réduction des risques

Lorsqu'un diagnostic est établi et les risques écotoxicologiques et sanitaires évalués, et avant d'envisager une filière de décontamination, il conviendra de décider si des actions curatives de réhabilitation s'imposent ou non. Trop souvent l'objectif est d'atteindre un état environnemental de référence défini sur la bases des teneurs totales des métaux. En Europe, les objectifs de décontamination sont donnés par des Directives qui indiquent des seuils de concentrations liés à la toxicité des métaux (CEC, 1986 ; AFNOR, 1985). Aux Etats-Unis, la notion de norme tend à être supplantée par l'estimation du risque en rapport avec l'utilisation ultérieure du sol. Ce n'est que la prise en compte de la mobilité et de la biodisponibilité des polluants qui permet d'évaluer le risque lié à la présence de métaux dans les sols. Dans un agrosystème donné ces critères de mobilité et de biodisponibilité varient en fonction de l'espèce et de la variété végétale mais aussi en fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol comme la teneur en argile, en matière organique ou le pH. Si la pollution et la dangerosité d'un site sont établies et si toutes les conditions juridiques et financières sont réunies, on peut envisager une décontamination. Nous allons décrire les principales voies de mise en sécurité ou de décontamination des sols pollués par les métaux.

3. Les voies de décontamination des sols pollués par les métaux

La décontamination de sols pollués par les métaux est devenue une nécessité (Varallyay *et al.*, 1993). Le traitement des sols de sites pollués ne consiste pas systématiquement en une décontamination ou une disparition des polluants. Les sols pollués peuvent par exemple suivre la filière de traitement des déchets et produits polluants. Dans ce cas, les sols sont extraits et traités dans des centres spécialisés pour les déchets industriels. Pour diverses raisons techniques et économiques, la solution de l'extraction des sols suivie de leur traitement n'est pas toujours applicable. On peut alors faire appel à des techniques de mise en sécurité des sites par un confinement au moyen d'une couverture ou de barrières verticales étanches. Ces barrières ont pour objectif d'empêcher les flux de substances polluantes dans l'environnement. Chaque site pollué constitue un cas particulier auquel des techniques de réhabilitation spécifiques doivent être appliquées. Nous allons décrire les principaux procédés opérationnels ou en développement

applicables aux métaux (Bridges, 1991 ; Nyer, 1993 ; Goubier, 1994 ; Chapuis & Roudier, 1995; Lecomte, 1995). Différentes actions sont menées ou envisageables face à l'accroissement des surfaces polluées et au danger potentiel que celles-ci représentent. Des techniques permettent l'immobilisation des métaux par stabilisation. D'autres techniques de décontamination mettent en œuvre des procédés physico-chimiques ou des procédés biologiques. Dans cette dernière catégorie, l'utilisation de plantes supérieures ou phytodécontamination, fait l'objet de la recherche entreprise.

3.1. Voies physico-chimiques

Le principe des traitements de dépollution des sols par voie physico-chimique consiste à extraire et transférer les substances polluantes dans un liquide ou un gaz (Hg) qui fait ensuite l'objet d'un traitement.

3.1.1. Méthodes physiques par évacuation

Le principe des méthodes physiques par évacuation repose sur l'extraction par voie physique des métaux du sol où ils se trouvent. L'objectif de ces méthodes est l'extraction du sol contaminé de son milieu mais non des produits contaminants du sol. S'il y a effectivement un assainissement du milieu excavé, le site ne pourra certainement plus être le support d'une vie, sauf si des matériaux terreux exogènes sont rapportés. Il faudra que les terres contaminées extraites soient stockées sous contrôle, lavées, concentrées ou dépolluées. Ces méthodes sont donc essentiellement à appliquer dans l'urgence ou de façon préliminaire à une méthode de traitement complémentaire. L'excavation consiste à extraire les terres contaminées de leur milieu pour qu'elles subissent un traitement sur site, hors du site ou qu'elle fasse l'objet d'un stockage. Le pompage de l'eau est une opération d'extraction ou de lavage des sols qui peut être réalisée *in situ*. Le liquide de lavage est injecté dans le sol puis collecté, pompé et traité après avoir traversé la zone de sol à traiter. Lors du lavage, les sols contaminés subissent un tri granulométrique puis un lavage dont le but est de transférer les métaux dans une phase liquide. Cette phase liquide peut ensuite être traitée. L'extraction des polluants gazeux ou extraction des substances polluantes par volatilisation n'est adaptée qu'à certains métaux volatils (Hg par exemple).

3.1.2. Méthodes physiques par piégeage de la pollution

Les méthodes physiques par piégeage de la pollution sont souvent considérées comme des solutions transitoires d'inertage. En effet, elles ne font qu'immobiliser les contaminants sur place en les confinant ou en les stabilisant. Nous verrons plus loin que les végétaux peuvent jouer ce rôle. Une technique de stabilisation peut consister à introduire dans le sol une substance, de la grenaille d'acier (Sappin-Didier & Gomez, 1994) ou de la béringite (Mench *et al.*, 1994a et b), qui n'altère pas les propriétés de la terre et ne modifie pas sa fertilité tout en réduisant les transferts des métaux toxiques en diminuant leur solubilité (Didier *et al.*, 1993 ;

Ruby *et al.*, 1994). On pourra simultanément réduire les effets de l'érosion hydrique ou éolienne (Bridges, 1991). Ces techniques peuvent être complémentaires du confinement.

3.1.3. Méthodes chimiques

Les méthodes chimiques ou électrochimiques mettent en œuvre l'action d'un acide ou d'une électrolyse pour extraire ou transformer les polluants. Elles sont basées sur des principes réactionnels. La mobilisation et l'extraction sont réalisées grâce à des agents extractants (acides, EDTA,...) qui peuvent être utilisés pour extraire les métaux des sols (Allen & Chen, 1993). Néanmoins, un lavage avec HCl entraîne une déstructuration du sol (Tuin & Tels, 1990). Les réactions chimiques sont essentiellement utilisées pour le Cr. Une réaction d'oxydo-réduction peut en effet transformer le Cr^{6+} en Cr^{3+} moins toxique. Des méthodes électriques peuvent également contribuer à la décontamination de sols pollués par les métaux (Hicks & Tondorf, 1993). Un gradient hydraulique couplé à un gradient électrique peut être efficace pour l'extraction des métaux d'un milieu poreux (Khan *et al.*, 1994). En augmentant le voltage, l'extraction est plus efficace. Les conditions de pH faibles pour la mobilisation de Pb n'ont été obtenues que pour une intensité de 200 volts. Les métaux extraits précipitent au niveau de la cathode. Après mobilisation et extraction par des agents chélatants ou des acides, les métaux peuvent être récupérés par électrochimie (Allen & Chen, 1993 ; Thöming & Calmano, 1995).

3.1.4. Méthodes thermiques

Le principe des méthodes thermiques est de porter le matériel pollué à haute température pour le détruire, l'extraire ou au contraire l'immobiliser. Les traitements thermiques sont majoritairement appliqués aux polluants organiques comme les hydrocarbures et produits dérivés. La présence de métaux volatils (Hg, Cd, Pb) peut constituer une contre-indication. L'incinération utilise différents types d'installations. Le four tournant est le plus souvent employé puis le lit fluidisé ou le four à infrarouge. L'incinération se réalise à des températures de 400 à plus de 1000 °C. Le procédé est complété par une incinération des gaz et poussières post combustion à une température plus ou moins élevée (900 à 1300 °C) en fonction de la nature des polluants à détruire. Les gaz résiduels doivent faire l'objet d'un traitement par neutralisation ou dépoussiérage. L'incinération ne détruit pas les métaux qui se retrouvent dans les effluents gazeux lorsqu'ils sont volatilisables (Zn, Cd ou Pb) ou concentrés dans les résidus solides de la combustion. Ces cendres devront faire l'objet d'une élimination appropriée. Un autre type de traitement, la désorption thermique, est suivi d'un traitement des gaz par condensation et filtration et peut être appliqué à la décontamination des sols contaminés par des métaux volatils comme le Hg. La vitrification est une méthode thermique applicable *in situ* qui consiste à transformer par élévation de température (pyrolyse à environ 2000 °C) un sol contaminé en un matériau inerte fondu. Les métaux sont incorporés au verre sous une forme chimiquement stable, avec une très faible quantité d'élément lixiviable. Cette technique présente l'inconvénient de fortement compromettre le développement végétal sur un matériau stérile et

imperméable. Le coût de la vitrification a été estimé à 140-290 US dollars par mètre cube (Bridges, 1991).

3.2. Voies biologiques

Nous avons vu que les techniques de dépollution habituellement mises en œuvre sont basées sur l'extraction physico-chimique des métaux (lavage acide, électro-osmose, ...) ou sur l'immobilisation *in situ* des métaux (vitrification, confinement, ...). Toutes ces techniques nécessitent du personnel spécialisé et des équipements spécifiques. C'est pour cela que ces procédés sont coûteux et uniquement appropriés à la décontamination de petites zones où la pression de réutilisation est forte. De plus, ces techniques affectent l'activité biologique du matériau traité et en dégradent la structure. Ainsi on obtient un matériau stérile à partir d'un sol. Les voies biologiques de décontamination des sols sont basées sur le métabolisme et l'activité des organismes vivants. Ces organismes peuvent être des bactéries, des champignons ou des végétaux supérieurs. La dépollution biologique des sols pollués par les métaux est une voie difficile mais prometteuse comme l'évoque de nombreux auteurs : "The hard stuff : metals in bioremediation" (Summers, 1992) ; "Decision making - Is bioremediation a viable option ?" (Fiorenza *et al.*, 1991). La dégradation microbiologique est une technique de réhabilitation des sols pollués qui n'est bien sûr pas applicable aux sols pollués par les métaux. La biolixiviation fait intervenir des microorganismes vivants qui permettent d'extraire des métaux de milieux où ils sont insolubles (Berthelin, 1983 ; Gadd, 1990). L'utilisation de communautés bactériennes naturellement présentes sur des sites miniers en est un exemple. Ainsi, les bactéries *Thiobacillus* et *Sulfolobus* permettent d'extraire le Cu de la pyrite grâce à des phénomènes d'oxydation du Fe et du S (Summers, 1992). Dans la biosorption, les microorganismes peuvent jouer un rôle dans les phénomènes de mobilité et de fixation des métaux par adsorption, complexation ou accumulation (Tobin *et al.*, 1994). Des travaux ont été menés sur l'optimisation de la fixation des métaux par des mycéliums d'*Aspergillus niger* et de *Rhizopus arrhizus* (Deneux-Mustin *et al.*, 1994) ou sur des bactéries gram positives pour le Cd (Boularbah *et al.*, 1992). Enfin, la biovolatilisation concerne essentiellement le Hg. Cet élément est volatilisé après réduction dans le sol par des microorganismes ou des enzymes extracellulaires. Actuellement, il n'existe pas de technique de décontamination de faible coût qui serait appropriée à la décontamination de sols faiblement contaminés tout en leur conservant leur fertilité après l'extraction des métaux. L'implantation d'un couvert de plantes hyperaccumulatrices serait susceptible de remédier aux deux principaux problèmes d'accumulation des métaux dans les sols et de leur transport par érosion. Baker (1994) et Felix (1995) traitent de l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices pour extraire des métaux d'horizons de surface de sols, comme par exemple des sols ayant subi des épandages de boues de stations d'épuration. La réhabilitation "verte" emploie des plantes endémiques de sites métallifères. Ces plantes ont la propriété d'accumuler des métaux comme Zn ou Ni à des concentrations supérieures à 2% dans la matière sèche des parties aériennes. Elles sont dites hyperaccumulatrices. Les premières expériences menées consistaient à conduire

des cultures suivies de récoltes afin d'extraire les métaux des sols. Les parcelles expérimentales étaient constituées de sols agricoles que l'on voulait amener aux limites légales de teneurs en métaux. L'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après traitement. La technique serait d'un coût faible (50 000 à 70 000 US dollars pour la phytoremédiation contre 450 000 US dollars pour une excavation suivie d'un stockage (Salt *et al.*, 1994), agréable dans le paysage (reverdissement, fleurissement) et offrirait la possibilité de récupérer les métaux extraits. Une flore spontanée et tolérante s'installe sur les sols miniers ou de friches industrielles riches en métaux. Cette flore a fait l'objet de nombreuses descriptions (Lambinson & Auquier, 1963 ; Ernst, 1974 ; Brooks *et al.*, 1977 ; Brooks *et al.*, 1987 ; Baker, 1981, 1984, 1987 ; Baker *et al.*, 1988, 1991, 1994 ; Baker & Brooks, 1989). Si l'aire de dispersion de cette flore est exclusivement limitée à des terrains riches en métaux, les plantes sont appelées métallophytes. Elles sont appelées pseudo-métallophytes si on les retrouve également en dehors de ces sites. Sont nommées hyperaccumulateurs (Brooks *et al.*, 1977), les plantes qui contiennent plus de 0,1% Ni dans leurs tissus ou hypermanganésophores et hypernickelophores (Jaffré, 1980), les plantes qui contiennent respectivement plus de 1% Mn et Ni dans leurs tissus (Morrison *et al.*, 1980). En général, les plantes hyperaccumulatrices ont la capacité d'accumuler de façon non vitale des métaux à des concentrations supérieures à la norme physiologique (Baker *et al.*, 1991 ; 1993). Les diverses applications de la phytoremédiation sont la phytostabilisation, la phytoextraction et la phytovolatilisation (Cunningham & Berti, 1993 ; Raskin *et al.*, 1994 ; Cunningham & Lee, 1995). Une voie de remédiation de sites pollués par Pb est la phytostabilisation ou l'inactivation de Pb du sol en amendant et en revégétalisant le sol afin de prévenir l'érosion (Chaney & Ryan, 1994 ; Berti & Cunningham, 1994 ; Cotter Howells, 1996). Cette technique montre qu'une méthode biologique peut remplir la fonction d'une méthode physique par piégeage de la pollution. L'érosion et l'adhésion des particules de sol aux plantes sont des processus qui mettent surtout en jeu les particules les plus fines qui transportent de façon majoritaire les métaux et surtout Pb (Sheppard & Evenden, 1992). La stabilisation par un couvert végétal peut être associée à une immobilisation des métaux par incorporation de béringite au sol (Mench *et al.*, 1994 ; Vangronsveld *et al.*, 1995). La phytostabilisation est prometteuse pour deux éléments toxiques, le Cr et le Pb. La phytoextraction est une deuxième constituante de la phytoremédiation sur laquelle les chercheurs se sont investis depuis le début de cette décennie. La phytoextraction utiliserait des plantes capables de prélever des métaux toxiques et de les accumuler dans leurs parties aériennes. Ces plantes seraient ensuite récoltées, incinérées. Les cendres pourraient être mises en décharge ou recyclées en métallurgie. Les calculs de rendement de la phytoextraction sont essentiellement faits par rapport à l'élément total (Kumar *et al.*, 1995 ; Salt *et al.*, 1995 ; Chaney *et al.*, 1997). La phytoextraction des métaux peut également se faire sur des liquides par rhizofiltration (Dushenkov *et al.*, 1995 ; Farrel, 1996). Enfin, une troisième composante de la phytoremédiation est la phytovolatilisation des éléments non métalliques comme le Se ou métalliques comme le Hg par les plantes puis leur relargage sous forme méthylée dans

l'atmosphère (Terry *et al.*, 1992 ; Bañuelos *et al.*, 1993). Si ce phénomène permet une dilution du polluant dans l'écosystème et un éventuel apport de Se à des organismes carencés, il faut prendre en compte le risque d'exposition par inhalation. Certains éléments peuvent être accumulés par les racines des plantes et transformés en éléments volatils comme le diméthylsélénide (Terry *et al.*, 1992) ou HgO (Rugh *et al.*, 1996). De nombreuses plantes hyperaccumulatrices de Se peuvent volatiliser le diméthylsélénide ou le diméthyldisélénide. Une contamination simultanée par le S ou une salinité trop élevée inhibent habituellement ce processus dans les sols riches en Se (Bell *et al.*, 1992). De très fortes teneurs de B ou une salinité excessive peuvent tuer la majorité des plantes. C'est pourquoi l'intégration dans les rotations de plantes volatilisant le Se ou accumulant le Se dans la biomasse aérienne avec la possibilité de commercialisation comme complément minéral pour animaux, sont des approches alternatives pour le traitement des eaux d'irrigation issues de drainages qui sont beaucoup plus chargées en B et en sulfates que les eaux habituellement utilisées pour l'irrigation (Bañuelos *et al.*, 1993).

4. La phytoextraction

L'état des lieux sur la contamination des sols par les métaux nous a montré que les sols sont un réceptacle majeur pour les métaux. Quelle que soit leur origine, ils ne sont pas biodégradables et persistent pour de longues périodes dans les sols. S'ils peuvent migrer vers les nappes phréatiques ou être transférés vers les plantes, il faut envisager une décontamination. La recherche s'est attachée à la toxicité des métaux envers les plantes de grande culture, leur accumulation dans les tissus végétaux et leur transfert vers la chaîne alimentaire. Certaines plantes sont décrites comme étant hyperaccumulatrices de métaux (Baker *et al.*, 1994). Les sols de sites métallifères, fortement enrichis en métaux toxiques, sont le support de ces métallobytes qui ont longtemps attiré l'intérêt des botanistes. Certaines ont la capacité d'accumuler de fortes concentrations de métaux dans leurs tissus. Ainsi *T. caerulea* peut accumuler le Zn à des concentrations allant jusqu'à 3 % de la matière sèche foliaire. L'utilisation de ces plantes comme un outil de décontamination ou phytoextraction reste cependant une technique qui demeure un sujet de recherche.

4.1. Distribution géographique et écologie des plantes hyperaccumulatrices

Les plantes hyperaccumulatrices ont été initialement étudiées à des fins d'exploration minière (Duvigneaud & Denaeys-De-Smet, 1963 ; Brooks *et al.*, 1977 ; Reeves & Brooks, 1983 ; Cellini Legittimo *et al.*, 1995). Historiquement, les botanistes se sont d'abord intéressés à la flore des serpentines. Les serpentines sont des substrats infertiles et toxiques présentant une forte pression sélective (Proctor & Woodell, 1971 ; Proctor, 1971a,b) et sur lesquelles se développent les espèces d'*Alyssum* dites métallobytes (Baker, 1981). Les caractéristiques principales des sols de serpentine sont de fortes concentrations en Ni, en Cr et en Co liées à la

roche mère (Reeves & Brooks, 1983), une faible teneur en nutriments (N, P, K) et en Ca, avec un ratio Mg/Ca proche de 10 (Gabbrielli *et al.*, 1989). Leur pH est compris entre 5,4 et 7,2. Ils présentent une faible profondeur (Menezes de Sequeira, 1968 ; Gabbrielli *et al.*, 1990). La plupart des métalophytes ont été trouvées sur ces sols riches en nickel. La première plante hyperaccumulatrice mise en évidence était *Alyssum bertolinii* sur serpentines en Italie (Minguzzi & Vergnano, 1948 cités par Baker & Brooks, 1989). Depuis, plus de 240 espèces ont été recensées surtout parmi les Brassicaceae, les Violaceae, les Flacourtiaceae, les Cunoniaceae et les Euphorbiaceae (Baker *et al.*, 1994). Elles ont été trouvées dans sept régions distinctes du globe comme la Nouvelle-Calédonie, l'Ouest de l'Australie, le Sud de l'Europe, l'Asie Mineure, Cuba, le Nord de la Californie, l'Oregon, le Zimbabwe, la Zambie ou la République du Congo (ex Zaïre) (Brooks & Malaisse, 1990 ; Reeves *et al.*, 1996). Sous climat tempéré, les Brassicaceae sont prédominantes avec les genres *Alyssum* et *Thlaspi*. *Alyssum* présente environ 50 espèces d'hyperaccumulatrices présentes en Europe (Brooks & Radford, 1978 ; Brooks *et al.*, 1979).

4.2. Réponse des végétaux à la présence de métaux dans les sols

La réponse du végétal à des concentrations en métaux dans le sol normalement phytotoxiques varie en fonction des propriétés du sol (chimiques : pH, teneur en matière organique, potentiel rédox... et physiques : structure, texture...). Cette réaction dépend aussi du métal et de sa concentration ainsi que de l'espèce végétale elle-même (Baker, 1981 ; McGrath *et al.*, 1993) (Tableau 9).

Tableau 9. Concentration de métaux dans les parties aériennes de plantes
(mg kg⁻¹ MS) source: Kabata Pendias et Pendias, 1986

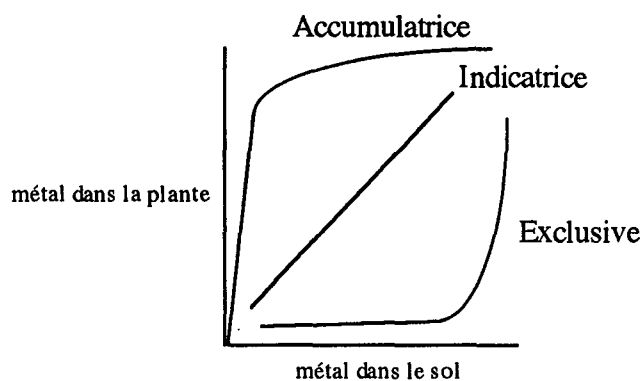
| | élément essentiel | teneur normale | critique pour les plantes sensibles | excessif ou toxique | tolérable pour les plantes de grande culture | métallophytes |
|----|----------------------|-------------------|---|------------------------|--|---------------|
| Cd | - | 0,05-0,2 | 5-10 | 5-30 | 3 | > 100 |
| Cr | - | 0,1-0,5 | 1-2 | 5-30 | 2 | |
| Cu | 2-5 | 5-30 | 15-20 | 20-100 | 50 | |
| Hg | - | - | 0,5-1 | 1-3 | - | |
| Ni | - | 0,1-5 | 20-30 | 10-100 | 50 | > 1 000 |
| Pb | - | 5-10 | - | 30-300 | 10 | > 1 000 |
| Zn | 10-20 | 27-150 | 150-200 | 100-400 | 300 | > 10 000 |

4.2.1. Mécanismes de tolérance

En 1971, Lyon *et al.* affirmaient qu'il n'y a certainement pas de mécanisme universel qui puisse expliquer la survie de plantes très différentes sur des sols de serpentines en Nouvelle Zélande. Néanmoins, les végétaux qui se maintiennent sur des terrains chargés en métaux ont développé des mécanismes de tolérance (Simon & Lefèbvre, 1977 ; Macnair, 1989), qui font appel aux

deux processus suivants : l'exclusion et l'accumulation (Baker, 1981 ; Baker & Walker, 1990). L'exclusion se traduit par la réduction de l'absorption racinaire et la diminution de transfert des racines vers les parties aériennes. Ceci a été montré pour le Pb chez le radis (Lane & Martin, 1980) ou pour le Cd chez le pois (Leita *et al.*, 1992). La concentration du métal est maintenue basse jusqu'à une valeur critique. A partir de cette valeur, il y a une pénétration exponentielle du métal dans la plante conduisant à sa mort. Les mécanismes ioniques ne sont pas encore connus avec certitude. Les hypothèses d'une oxydation des cations à proximité des racines ou de la formation d'un sel soluble (métal-phosphate) qui modifieraient les possibilités de translocation sont avancées. L'accumulation s'effectue après le passage de la barrière endodermique des racines. L'essentiel de l'accumulation des métaux survient dans les tiges. Les métaux sont concentrés dans les parties aériennes de la plante que les concentrations des métaux soient faibles ou élevées dans le sol. Enfin, certaines plantes sont indicatrices. Le prélèvement et le transport des métaux sont linéaires. La concentration du métal dans la plante reflète celle du sol. Les stratégies mises en œuvre par les plantes vis-à-vis des métaux sont donc de trois types. Elles peuvent être indicatrices, exclusives ou encore accumulatrices (Figure 2).

Figure 2. Réponse des plantes à la présence de métaux dans le sol (Baker, 1981)



4.2.2. L'hyperaccumulation

Si la transformation et l'accumulation de métaux par des microorganismes ou par des plantes aquatiques est envisageable, nous considérons ici plus particulièrement l'accumulation de métaux par des plantes terrestres. Les plantes interagissent activement avec les éléments toxiques du sol. Elles peuvent ainsi métaboliser des polluants organiques (Bell, 1992 ; Chaineau *et al.*, 1995, 1996). Dans le cas des polluants minéraux, certaines plantes transfèrent la majorité des métaux prélevés vers leurs parties aériennes. Ainsi, le tabac est reconnu pour accumuler le Cd dans ses feuilles (Mench *et al.*, 1989). Sur sol métallifère (naturels) ou sol artificiellement enrichi en métaux (pollutions), les plantes hyperaccumulatrices présentent des concentrations en métaux dans leurs tissus qui ne sont pas proportionnelles aux concentrations en métaux du

substrat sur lequel elles se développent (Brooks *et al.*, 1977) (Tableau 10), et même fréquemment supérieures (McGrath *et al.*, 1993).

Tableau 10. Teneurs de Ni dans les plantes sur roche ultramafique (mg kg⁻¹ MS)

| | |
|---------------------------|-------------|
| Plante "normale" | < 15 |
| Plante accumulatrice | environ 100 |
| Plante hyperaccumulatrice | > 1000 |

(Brooks *et al.*, 1977)

En général, les métallophytes contiennent des teneurs de l'ordre du pourcent d'un métal dans la MS foliaire (x % de Zn ou de Mg ; 0,x % de Cu, de Co, de Pb ou de Ni ; 0,0x % de Cd) (Baker & Brooks, 1989 ; Baker *et al.*, 1994) (Tableau 11). *Thlaspi caerulescens* peut, dans certaines conditions, accumuler 3 % de Zn dans la MS foliaire. *Alyssum bertolonii* peut accumuler 0,2 % de Ni dans les racines et plus de 1 % dans la matière sèche foliaire (Gabbrielli *et al.*, 1991).

Tableau 11. Prélèvement de métaux par *Thlaspi alpestre* (mg kg⁻¹ MS) (Baker, 1993)

| | Cd | Pb | Zn |
|--------------------------------------|------|-------|-------|
| Teneurs des métaux dans les feuilles | 254 | 365 | 13555 |
| Teneurs des métaux dans les sols | 153 | 14028 | 9022 |
| coefficient de transfert | 1,66 | 0,03 | 1,5 |

Dans la grande majorité des cas dans le monde végétal, les métaux extraits sont concentrés dans les racines. Une faible quantité est transférée aux parties aériennes. Les métallophytes sont des exceptions à cette règle. Les hypothèses d'explication du phénomène d'hyperaccumulation sont la tolérance aux métaux, la résistance à la sécheresse, les compétitions avec des plantes voisines, ou encore le prélèvement des métaux en tant que mécanisme de défense contre les herbivores et les pathogènes. Il est prouvé que l'hyperaccumulation de Ni chez *Streptanthus polygaloides* est une défense (Boyd & Martens, 1992 ; Boyd *et al.*, 1994a et b ; Martens & Boyd, 1994).

4.2.3. Métaux et hyperaccumulation

Cadmium

D'après Kloke *et al.* (1984), les teneurs toxiques de Cd pour les plantes sensibles sont de 5-10 mg kg⁻¹ MS et les teneurs critiques sont de 10-20 mg kg⁻¹. L'hyperaccumulation du Cd semble être un phénomène rare dans le règne végétal. Uniquement une espèce est connue pour hyperaccumuler le Cd dans ses feuilles (>0,01 % soit 100 mg kg⁻¹ Cd dans la MS) (Baker *et al.*, 1994). Cependant, des hyperaccumulateurs d'autres métaux comme le Zn par exemple, sont capables de prélever plus de Cd que des plantes non-accumulatrices. Cette co-accumulation a été observée pour différentes espèces incluant les genres *Thlaspi* (Reeves, 1988), *Colochortus* et *Alyssum* (Homer *et al.*, 1991). Ce phénomène est attribué à un système non spécifique de détoxification métallique. Une plante est dite hyperaccumulatrice de Cd pour des concentrations

supérieures ou égales à 0,01% des concentrations en Zn chez un hyperaccumulateur de Zn (Vázquez *et al.*, 1992).

Chrome

L'hyperaccumulation de Cr n'a pas été formellement démontrée malgré des résultats de Wild (1974) (Baker & Brooks, 1989). Néanmoins, l'efficacité de la réduction du Cr⁶⁺ en Cr³⁺ par des plantes à système racinaire très profond a été démontrée. On passe ainsi d'un élément toxique à un élément très peu soluble dont le risque environnemental est réduit (James, 1996).

Cuivre et cobalt

L'hyperaccumulation du Cu et du Co est actuellement réduite à la flore de la République du Congo (ex Zaïre) au Sud de l'Afrique centrale et au Zambie (Baker & Brooks, 1989). Vingt quatre hyperaccumulateurs de Cu et 26 de Co sont actuellement recensés.

Nickel

Sebertia acuminata (sève bleue) est un arbre poussant sur les sols de serpentine de Nouvelle Calédonie dont le latex contient plus de 20 % de Ni (Jaffré *et al.*, 1976). L'hyperaccumulation maximale de Ni relevée dans la littérature est de 29 400 mg kg⁻¹ de MS chez *Alyssum argenteum* (Reeves *et al.*, 1983), soit 2,94 % du poids sec. D'autre part, des espèces hyperaccumulatrices comme *Alyssum serpyllifolium* peuvent se développer sur des sols ayant des concentrations de Ni supérieures à 3 000 mg kg⁻¹ (Brooks *et al.*, 1979). De même, *Alyssum troodii* peut survivre sur des sols 5 fois plus concentrés en Ni et Co que la normale des serpentines (Vergnano Gambi *et al.*, 1982 ; Homer *et al.*, 1991). En comparaison, les teneurs moyennes des Graminées en Ni sont de 0,1-1,7 mg kg⁻¹ de MS (Kabata Pendias & Pendias, 1986). Les plantes hyperaccumulatrices de Ni font parti de familles ayant la propriété de produire des acides organiques complexant le Ni. La majorité du Ni absorbé par *Alyssum* est lié aux acides malique et malonique.

Plomb

Les teneurs en Pb habituellement relevées dans des plantes non hyperaccumulatrices sont de 0,1-10 mg kg⁻¹ MS sur sol non pollué. L'Ambrosie commune et le Chanvre sont des plantes accumulatrices de Pb. L'Ambrosie accumule 700 mg Pb kg⁻¹ MS foliaire et jusqu'à 2 000 mg Pb kg⁻¹ MS des tiges. Quatre espèces sont connues comme étant hyperaccumulatrices de Pb (Baker *et al.*, 1994) : *Armeria maritima* (Mill.) Willd. var. *halleri* (Wallr) Roth. (Allemagne, Harz), *Thlaspi rotundifolium* Gaudin subsp. *cepaefolium* (Wulf.) Rouy et Fouc., *Thlaspi alpestre*, *Alyssum wulfenianum* Schlecht et *Polycarpha synandra* F. Muell. (Australie). La phytoextraction du Pb est difficile. Même si certaines plantes peuvent accumuler le Pb, elles requièrent de faibles teneurs en phosphate et un pH du sol bas. L'apport d'agents chélatants

peut solubiliser le Pb et éviter sa précipitation par les ions phosphate dans les racines (Huang & Cunningham, 1996).

Zinc

L'accumulation de Zn à des niveaux supérieurs à 1 000 mg kg⁻¹ dans la plante est très répandue. On estime que trois quarts des métalphytes européennes connues sont des hyperaccumulateurs de Zn (Reeves *et al.*, 1983 ; Reeves, 1988). Cette hyperaccumulation correspond à des concentrations supérieures à 10 000 mg Zn kg⁻¹ dans les tissus végétaux. Cette concentration peut atteindre 3% du poids sec de la plante (Baker *et al.*, 1991 ; Baker *et al.*, 1993). En comparaison, le seuil supérieur de toxicité du Zn pour des plantes non hyperaccumulatrices est de 100-500 mg kg⁻¹ MS. Les Graminées présentent en moyenne des teneurs de 12-47 mg kg⁻¹ MS. Le Zn est hyperaccumulé par au moins 18 espèces (Baker *et al.*, 1994) dont *Thlaspi calaminare* Lej. (Allemagne), *Thlaspi caerulescens* L. (testée pour l'extraction de Zn de sols pollués), *Thlaspi ochroleucum*, *Viola calaminaria* Lej., *Cardaminopsis halleri*, *Haumaniastrum katagense*, *Alyssum tenium*, *Alyssum lesbiacum* et *Alyssum murale*. L'inventaire des plantes hyperaccumulatrices ainsi que les degrés d'accumulation des métaux est régulièrement effectué (Tableau 12).

Tableau 12. Nombre de plantes hyperaccumulatrices connues en 1995

| Métal | Critère de concentration % de MS foliaire | nombre d'espèces | nombre de familles représentées |
|-----------|--|------------------|------------------------------------|
| cadmium | > 0,01 | 1 | 1 |
| cobalt | > 0,1 | 26 | 12 |
| cuiivre | > 0,1 | 24 | 11 |
| plomb | > 0,1 | 5 | 3 |
| manganèse | > 1,0 | 8 | 5 |
| nickel | > 0,1 | > 300 | 35 |
| zinc | > 1,0 | 18 | 5 |

source: Baker, 1995, (communication personnelle)

4.3. Mécanismes de l'hyperaccumulation des métaux

4.3.1. Prélèvement de métaux par les racines des plantes

Le prélèvement des métaux par les plantes dépend du type de sol et de l'espèce végétale (Cataldo & Wildung, 1978). Les racines exercent une forte influence sur leur environnement direct, la rhizosphère, en y libérant des composés organiques et minéraux. Ces composés sont appelés exsudats racinaires. Ce terme générique vaut pour une large gamme de composés allant de l'ion H⁺ à des molécules complexes de fort poids moléculaire. La rhizosphère est un site primordial pour la nutrition des plantes. Tout élément transféré à la surface racinaire par diffusion et flux de masse est sujet à des processus de mobilisation-immobilisation dans la rhizosphère (Morel, 1985 ; Curl & Truelove, 1986).

4.3.2. La rhizosphère des métalphytes

La rhizosphère des métalphytes est très mal connue. Quelques travaux sont actuellement menés afin de caractériser les exsudats racinaires des plantes hyperaccumulatrices et les phénomènes d'acidification (Bernal *et al.*, 1994). La microflore associée aux métalphytes n'a pas encore été suffisamment étudiée. Cependant, un grand nombre de bactéries résistantes au Ni ont été recensées dans un sol support d'hyperaccumulateurs (Schlegel *et al.*, 1991).

4.3.3. Translocation et accumulation des métaux

Pour pouvoir accumuler des quantités importantes d'un métal toxique dans ses tissus, une plante doit développer des mécanismes de défense. Cette hypertolérance repose sur le fait qu'un élément n'est toxique pour un organisme que si elle s'insère dans son métabolisme. Les hyperaccumulateurs mettent en œuvre une stratégie de séquestration qui rend l'élément biologiquement indisponible bien que présent dans la plante. Les métaux présents dans les racines sont transportés et répartis dans les différentes parties de la plante. L'hyperaccumulation ne supprime pas la toxicité des métaux, mais représente une détoxification interne avec localisation cellulaire des métaux. Le métal est complexé par une molécule organique et stocké dans des vacuoles (Baker, 1981 ; Vázquez *et al.*, 1992). L'hyperaccumulation n'est pas spécifique et absolue. Elle présente un large spectre d'extraction métallique dans le cadre de contaminations multiples (Baker *et al.*, 1993). Ainsi, le genre *Alyssum* présente une capacité de co-accumulation de Ni et de Co (Homer *et al.*, 1991). Même s'il y a compétition entre les éléments Ni, Co et Zn au niveau racinaire chez *Alyssum bertolonii*, le mécanisme de prélèvement reste le même (Gabbrielli *et al.*, 1991). Le système de détoxification interne est donc non spécifique. L'hyperaccumulation de certains métaux comme le Ni semble corrélée à l'accumulation d'acide organique dans les plantes (Tableau 13).

Tableau 13. Concentration d'acide citrique dans les feuilles par rapport à la concentration de nickel dans la plante chez *Homalium* spp, *Serbertia acuminata* et *Alyssum*.
(en mg kg⁻¹ de MS) (Lee *et al.*, 1978)

| | |
|---------------------------|--|
| 0 < [Ni] plante < 100 | 1 000 < [A.citrique] feuilles < 4 000 |
| 100 < [Ni] plante < 1 000 | 4 000 < [A.citrique] feuilles < 8 000 |
| [Ni] plante > 1 000 | 8 000 < [A.citrique] feuilles < 20 000 |

Dans le genre *Alyssum*, notamment chez *Alyssum bertolonii* et *Alyssum argenteum*, l'accumulation et le mécanisme de tolérance au Ni semblent fortement corrélés à l'accumulation d'acide malique et d'acide malonique (Lee *et al.*, 1978 ; Pancaro *et al.*, 1978 ; Gabbrielli *et al.*, 1981). L'accumulation d'acides organiques est maximale sur serpentine, mais diminue sur sol peu pollué. Cette corrélation positive Ni-acide organique doit être mise en parallèle avec une corrélation négative Ca-Ni. En effet, l'accumulation de Ca diminue quand l'accumulation du végétal en Ni augmente (Gabbrielli *et al.*, 1981). Le Ca semble diminuer les effets du Ni chez

une plante excluante : *Silene italica* L. (Pancaró, 1988) et semble diminuer l'élongation racinaire chez les hyperaccumulateurs (Gabbrielli *et al.*, 1990). Ainsi, le Ca pourrait servir de régulateur du prélèvement de Ni. Les serpentines sont très déficientes en Ca, mais très chargées en Mg et en Ni (Pancaró *et al.*, 1978 ; Gabbrielli *et al.*, 1981). Chez *Alyssum bertolonii*, les mécanismes de concentration des métaux sont fondés sur la formation d'un complexe métallique, métal-acide organique, ayant pour rôle l'aide au transport et à la translocation des métaux dans les jeunes plants (Lee *et al.*, 1977 ; Gabbrielli *et al.*, 1991). Ce complexe organo-métallique identifié comme étant un complexe Ni-acide citrique (Lee *et al.*, 1977) semble non spécifique aux métaux. Le Ni, le Co et le Zn se lient indépendamment à l'acide citrique chez *Alyssum bertolonii* (Gabbrielli *et al.*, 1991). Le complexe semble également non spécifique aux hyperaccumulateurs (Lee *et al.*, 1977). La synthèse d'acide organique et du complexe seraient une réponse au transport de cations, notamment Ca^{2+} , dans la vacuole (Lee *et al.*, 1978). L'utilisation de 3 variétés d'*Alyssum serpyllifolium*, deux hyperaccumulatrices et une non hyperaccumulatrice a permis de mettre en évidence les différences de synthèse d'acide malique, d'acide malonique (majoritaires chez les hyperaccumulateurs) et d'acide citrique d'une variété à l'autre (Brooks *et al.*, 1981). Pour la compréhension du phénomène, deux notions sont à retenir. Les trois acides organiques rentrent dans le cycle de l'acide citrique. Le Ni est un inhibiteur enzymatique toxique (Brooks *et al.*, 1981). L'analyse du contenu des feuilles d'*Alyssum serpyllifolium* met en évidence la prépondérance du Ni sous forme de complexe polaire soluble dans les vacuoles. De plus, il y a une faible quantité de Ni dans les mitochondries (siège de l'activité enzymatique) et les microsomes. Le Ni se retrouverait dans la mitochondrie par contamination depuis le matériel vacuolaire. En effet, la concentration de Ni est si élevée dans les hyperaccumulateurs que l'on ne peut imaginer une exclusion vacuolaire complète. Des ruptures cellulaires doivent exister. En première approche, l'hyperaccumulation serait alors une capacité à maintenir une basse concentration cytoplasmique en métal (Vázquez *et al.*, 1992). Dans la mitochondrie, le Ni engendre un blocage du cycle de l'acide citrique par une désactivation enzymatique. Il y a alors augmentation de la concentration en l'acide organique précédent cette étape du cycle. Ainsi, l'acide malique déshydrogénase est désactivée, entraînant peut-être une augmentation de la concentration d'acide malique dans les vacuoles. Celle-ci augmentant, l'acide malique va se complexer au Ni diffusé dans les vacuoles depuis les mitochondries. Le blocage du cycle serait levé par un mécanisme régulateur contrôlant la toxicité du Ni par lequel les plantes sont capables de s'adapter aux facteurs défavorables du sol. L'acide malonique qui a une action inhibitrice sur la succinique déshydrogénase serait formé par carboxylation de l'acétate sous l'action du Ni (Brooks *et al.*, 1981). Le malate serait la forme de transport du métal dans le plasmalème et la malonate la forme d'accumulation vacuolaire (Pancaró *et al.*, 1978). Krämer *et al.* (1996) ont démontré que le Ni extrait des feuilles d'espèces hyperaccumulatrices d'*Alyssum* est chélaté avec du malate et du citrate. Dans l'exsudat du xylème, l'histidine chélate environ 40 % du Ni total. Presque toute l'histidine présente dans les exsudats est chélatée avec le Ni. La manière dont $\text{Ni}(\text{histidine})_2$, Ni^{2+} ou des chélates comme $\text{Ni}(\text{histidine}, \text{malate})$ sont transférés au xylème

par un transporteur membranaire demeure inconnue. L'apport d'histidine à la solution nutritive a augmenté la tolérance au Ni et son transport vers les parties aériennes d'*Alyssum montanum*, une espèce non hyperaccumulatrice. Chez *T. caerulescens*, l'accumulation de Cd, de Cu et de Fe est réalisée dans les parois cellulaires et dans l'espace intercellulaire de l'épiderme et dans les cellules parenchymateuses du cortex. Le Zn est compartimenté en périphérie des vacuoles des cellules épidermiques et sous-épidermiques en liaison avec des phytochélatines (Vázquez *et al.* 1992). L'hypertolérance aux métaux a été confirmée par des travaux sur la chélation des métaux et leur compartimentation vacuolaire (Vázquez *et al.* 1992 ; Ortiz *et al.*, 1995). La démonstration la plus directe utilisait des vacuoles isolées de protoplastes de cellules de tabac qui ont accumulé des teneurs élevées de Cd et Zn (Vogeli-Lange & Wagner, 1990). Il n'est pas acquis actuellement que l'hypertolérance des hyperaccumulateurs soit due à une amplification de ce mécanisme. Toutefois, des travaux indiquent la compartimentalisation vacuolaire du Zn dans les feuilles de l'hyperaccumulateur *T. caerulescens* (Vázquez *et al.*, 1992, 1994). Dans le cas de *Brassica juncea*, Cd est accumulé préférentiellement dans les trichomes à la surface des feuilles (Salt *et al.*, 1995). Brune *et al.* (1994) indiquent le rôle de la localisation vacuolaire de Zn chez l'orge dans la détoxification. *Minuartia verna* et *Silene vulgaris* cultivés sur un sol industriel ont des teneurs de Zn et Pb très différentes dans leurs racines et leurs parties aériennes. Sieghardt (1990) en conclut que cette distribution des métaux dans la plante est un important mécanisme de tolérance. Toutes les compartimentalisations seraient des voies de détoxification des métaux.

4.4. Aptitude des plantes à la croissance et au développement sur des sols pollués

Les hyperaccumulateurs peuvent croître, se développer et bioaccumuler de façon remarquable les métaux du sol. Pour cela, la plante doit avoir la capacité de tolérer des teneurs élevées d'un ou plusieurs éléments dans ses tissus racinaires ou aériens. Ceci est la propriété clé qui permet l'hyperaccumulation. L'aptitude de la plante au développement et à l'extraction des métaux des sols dépend de sa capacité à transférer en grande quantité un élément des racines vers les parties aériennes. Dans les racines de plantes non-hyperaccumulatrices, les teneurs de Zn, de Cd ou de Ni sont au moins 10 fois plus élevées que dans les parties aériennes (Cataldo *et al.*, 1981). Chez les hyperaccumulateurs, les teneurs observées dans les parties aériennes peuvent excéder celles observées dans les racines (Brown *et al.*, 1995 ; Li *et al.*, 1996). Il doit y avoir un prélèvement rapide de l'élément pour les concentrations auxquelles il est présent dans la solution du sol. A ce titre, des comportements différents ont été observés en fonction de groupes d'hyperaccumulateurs. Brown *et al.* (1995) ont montré que *T. caerulescens* accumulait le Zn et le Cd à partir d'une solution nutritive presque à même hauteur que la tomate ou *Silene vulgaris*. Cependant des effets négatifs sur la croissance de la tomate, de *S. vulgaris* et de *T. caerulescens* ont été observés respectivement pour des concentrations de 30 μM , 320 μM et 10 000 μM Zn. C'est parce que *T. caerulescens* peut tolérer et accumuler Cd et Zn même à de fortes teneurs dans la solution du sol, que cette plante peut contenir de 1 à 4 % de Zn dans ses

tissus alors que des plantes se développant sur un même site naturel contiennent beaucoup moins de 0,05 % de Zn. Ces dernières sont des plantes exclusives. Des études complémentaires ont montré que des génotypes hypertolérants de *T. caerulescens* exigent des teneurs de Zn dans la solution du sol beaucoup élevées (104 fois) et des concentrations de Zn dans les feuilles plus fortes (100-300 mg kg⁻¹ contre 10-12 mg kg⁻¹ pour des plantes normales) que des espèces équivalentes non-hyperaccumulatrices pour se développer normalement (Li *et al.*, 1996). De ce fait, la plante doit accumuler plus de Zn afin d'atteindre une teneur optimale et de répondre à ses besoins de compartimentalisation en vue de réduire les effets toxiques de Zn et Cd. A titre de comparaison, les espèces hyperaccumulatrices de Ni d'*Alyssum* accumulent significativement plus de Ni dans leurs parties aériennes que d'autres espèces cultivées sur des sols présentant la même activité de Ni en solution (Krämer *et al.*, 1996 ; Baker & Brooks, 1989).

4.5. Un modèle de métallophyte pour la phytoremédiation :

Thlaspi caerulescens

Sur 120 espèces hyperaccumulatrices actuellement connues, plus de la moitié sont des Brassicaceae, dont 46 appartiennent au genre *Alyssum*, 4 au genre *Bornmuellera*, d'autres appartiennent au genre *Peltaria* et *Thlaspi* (Reeves *et al.*, 1983a, 1983b). Les plantes citées le plus souvent dans la littérature sont des genres *Alyssum* et *Thlaspi*. L'hyperaccumulateur *T. caerulescens* (Brassicaceae) a été souvent proposé comme candidat potentiel pour la phytoextraction du Zn et du Cd des sols contaminés (Baker *et al.*, 1994 ; Cunningham & Ow, 1996) (Tableau 14). *T. caerulescens* présente une forte tolérance au Zn et une demande interne élevée pour ce métal. La plante a une très forte aptitude à l'hyperaccumulation et peut contenir jusqu'à 33 600 mg Zn kg⁻¹ de MS foliaire (Brown *et al.*, 1995).

Tableau 14. Efficacité de l'extraction de Zn pour différentes espèces végétales - nombre de cultures nécessaires pour réduire la concentration de zinc d'un sol agricole de 444 mg kg⁻¹ à 300 mg kg⁻¹ source : (Baker *et al.*, 1994)

| | Prélèvement par la plante kg.ha ⁻¹ | Extraction en % de l'apport annuel autorisé | Nombre de cultures |
|------------------------------------|---|---|-----------------------|
| Plantes hyperaccumulatrices | | | |
| <i>Thlaspi caerulescens</i> (B) | 30,1 | 201 | 13 |
| <i>T. caerulescens</i> (RU) | 27,6 | 184 | 14 |
| <i>Cardaminopsis halleri</i> | 10,3 | 69 | 37 |
| <i>Alyssum tenium</i> | 4,3 | 29 | 88 |
| <i>A. lesbiacum</i> | 3,9 | 6 | 96 |
| <i>A. murale</i> | 3,6 | 24 | 105 |
| <i>T. ochroleucum</i> | 1,5 | 10 | 254 |
| Plantes non-accumulatrices | | | |
| <i>Cochlearia pyrenaica</i> | 0,6 | 4 | 622 |
| <i>Brassica napus</i> | 0,5 | 3 | 832 |
| <i>Raphanus sativus</i> | 0,2 | 1 | 2 046 |

Des résultats ont été obtenus avec *Thlaspi* sur des sols pollués par des apports répétés de boues de station d'épuration. Dans ces conditions, une culture de *T. caerulescens* a permis d'extraire 30 kg de Zn (contre 0,2 kg pour le radis par exemple) ainsi que 143 g de Cd par ha de sol agricole (Tableau 14).

5. Conclusion

Des sources naturelles (altération de la roche mère, érosion, volcanisme) et anthropiques (activités agricoles, domestiques et industrielles) provoquent un inéluctable enrichissement des sols en métaux. Certains sols agricoles mais surtout des sols fortement anthropisés comme les sols urbains et industriels sont concernés par ce phénomène. Les connaissances acquises sur la dynamique des métaux dans les sols au sein de cycles biogéochimiques montrent que si le sol est un réceptacle pour les métaux il constitue également un lieu de transit. Certains métaux sont susceptibles de provoquer des phénomènes de toxicité pour les organismes si leur biodisponibilité augmente. Les métaux peuvent aller jusqu'à perturber le fonctionnement des écosystèmes. La mobilité et la biodisponibilité des métaux constituent alors avec les risques d'exposition et d'ingestion des facteurs primordiaux dans l'évaluation du risque pour les écosystèmes et l'homme. Des méthodes de gestion des sols pollués doivent alors être développées afin de préserver ou de restaurer la qualité des sols. Des techniques de traitement thermiques ou physico-chimiques sont employées. Néanmoins, elles pourraient être remplacées ou complétées par des méthodes biologiques. Ainsi, l'utilisation alternative de plantes hypertolérantes et hyperaccumulatrices de métaux ou phytoremédiation pourrait être envisagée pour le traitement de sols pollués. Cependant, dans l'état actuel des connaissances, la phytodécontamination ne constitue qu'une voie de recherche qui s'inscrit dans le cadre du développement des traitements biologiques. Seules quelques expériences, dans des conditions particulières de milieu, ont été menées montrant le potentiel de cette approche. D'après Baker (1995), on ne connaît qu'une faible partie des espèces végétales hyperaccumulatrices et de leur fonctionnement.

CHAPITRE 2

Matériel et méthodes

Dans cette partie sont décrits les matériels, sols et végétaux, ainsi que les principaux protocoles et outils méthodologiques mis en œuvre au cours de la thèse et communs à l'ensemble du travail. Les conditions expérimentales propres à chaque partie seront détaillées dans chacune d'elles.

1. Matériel

1.1. Espèces végétales

La recherche de plantes métalphytes a été orientée vers des sites naturels où le fond géochimique en métaux est élevé ainsi que sur des sites industriels de transformation des métaux non ferreux. Leur présence sur les sites industriels est probablement liée au transfert accidentel des graines des sites d'extraction vers des sites de transformation des minerais (Ingrouille & Smirnoff, 1986). Différentes tournées pédo-floristiques ont été effectuées afin d'identifier et de collecter des plantes hyperaccumulatrices. Les recherches ont focalisé principalement sur *Thlaspi caerulescens* mais d'autres hyperaccumulateurs ont aussi été prélevés. Les prospections ont été précédées par une recherche bibliographique et l'étude des cartes des gisements métallifères de France (BRGM) afin de localiser les sites naturellement riches en métaux. Nous avons ainsi pu localiser des mines désaffectées ou en activité. Une prospection s'est d'abord faite dans les Vosges. Puis, deux tournées ont eu lieu sur des sites d'anciennes fonderies de Zn, d'une part, dans la région de Decazeville (Viviez, Aveyron) et, d'autre part, sur la friche industrielle de Mortagne du Nord. Des plantes hyperaccumulatrices et leurs semences ont été récoltées à l'occasion de ces différentes prospections permettant de former un stock de graines suffisant pour les différents essais conduits dans ce travail. Un lot important de semences de *T. caerulescens* originaires de Prayon en Belgique nous a été fourni par le Dr A.J.M. Baker.

1.1.1. Gîtes métallifères dans les Vosges

Différents sites métallifères ont été prospectés dans les Vosges en collaboration avec le Dr. R. Reeves (Nouvelle Zélande) spécialiste de la flore métallicole. Un seul site naturel de développement de *T. caerulescens* a pu être localisé sur des serpentines. L'utilisation de papier filtre imprégné de diméthyl glyoxyme a alors permis de détecter la présence de plantes hyperaccumulatrices de Ni.

1.1.2. Site de Viviez

Une fonderie de Zn/Cd était en activité à Viviez (Aveyron, France) depuis la fin du XIX^e siècle jusqu'à la fin des années 80. Au début de son activité, l'usine "Vieille Montagne" produisait quelques milliers de tonnes de Zn par an pour atteindre 90 000 t à son apogée en 1960. Le grillage du minerai avec récupération d'acide sulfurique a eu lieu jusqu'en 1930. C'est au début du siècle que les rejets polluants étaient intenses, principalement lors d'une forte production de Zn destiné au laiton des munitions utilisées pendant la Première Guerre Mondiale. Depuis 1965, les retombées atmosphériques ont été réduites par des filtres. Des plants de *T. caeruleus* ont été prélevés sur le site et à la périphérie de l'ancienne fonderie de Zn (Photographies 1, 2 et 3). L'analyse des feuilles de 6 spécimens montre une forte concentration de Cd, Pb et Zn avec aussi des variations importantes d'un individu à l'autre (Tableau 15). L'un d'eux contenait près de 0,3% de Cd dans la matière sèche et plus de 1,2% de Zn. Des plantes compagnes prélevées sur ce même site présentaient des teneurs de métaux beaucoup plus faibles.

Tableau 15. Teneurs des métaux de *T. caeruleus* prélevé sur différentes zones d'une friche industrielle de fonderie de Zn (s) et de sa périphérie (p)

| plante | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
|--------|---------------------------------|----|-----|----|------|--------|
| | mg kg ⁻¹ MS aérienne | | | | | |
| 1 p | 1 636 | 12 | 36 | 10 | 165 | 17 691 |
| 2 p | 471 | 5 | 59 | 5 | 93 | 9 094 |
| 3 s | 944 | 12 | 66 | 16 | 226 | 16 037 |
| 4 s | 795 | 9 | 123 | 15 | 1278 | 7 159 |
| 5 s | 2 908 | 14 | 157 | 21 | 1350 | 12 757 |
| 6 s | 1 050 | 12 | 209 | 13 | 518 | 8 708 |

1.1.3. Site de Mortagne du Nord

La friche industrielle de Mortagne du Nord est située dans la plaine alluviale de la Scarpe, à la frontière belge (59). Une fonderie de zinc de la Compagnie royale asturienne y a exploité le Zn jusqu'en 1966. Les résidus de fonderie étaient stockés sur une prairie alluviale sur une des rives de la Scarpe, couvrant une superficie de plusieurs hectares. Les scories riches en Zn, Pb, Cu et Cd ont favorisé l'installation d'une pelouse métallicole composée de lichens, de mousses et de plantes métallophytes absolues comme *Armeria maritima ssp. Halleri* et *Cardaminopsis halleri*, adaptées aux sols métallifères et de pseudo-métallophytes comme *Arrhenatherum*, qui se sont accommodées de la présence de fortes teneurs d'éléments métalliques. Le ruissellement des eaux de pluie et la dissémination de fines poussières par le vent ont créé un gradient de teneurs en éléments métalliques (Zn : > 22 000 à 450 mg kg⁻¹ ; Pb : 10 500 à < 100 mg kg⁻¹ ; Cd : 110 à < 2 mg kg⁻¹) (Baize & Maucorps, 1995 ; van Oort & Thiry, 1995). Le site de la pelouse métallicole est devenu une curiosité écologique issue du patrimoine historique pour les habitants de la région (Douillet *et al.*, 1994). Avec les végétaux et les semences, des échantillons de terre ont été prélevés sur ce site lors d'une prospection en juin 1996.



Photographie 1, 2 et 3.

Thlaspi caerulescens en périphérie de l'ancienne fonderie de Zn/Cd (Viviez, Aveyron)

1.1.4. Espèces végétales utilisées

Outre les plantes hyperaccumulatrices, deux plantes de grande culture ont été utilisées comme références (*Brassica napus* et *Lupinus albus*).

Thlaspi caerulescens étudiée dans ce travail provenait de Prayon (Belgique) ou de Viviez (Aveyron, France) (Photographies 4 et 5). Le nom de cette espèce vient du grec thlaein, qlaetu qui signifie comprimer probablement en raison de la forme aplatie de ses fruits. Son nom vulgaire est le Tabouret ou Pennydress en anglais. *Thlaspi* est un genre de la famille des *Brassicaceae*. Ses représentants sont connus depuis plus de cent ans sur des sols de Belgique et d'Allemagne très riches en Zn. C'est pour cette raison que les communautés végétales auxquelles appartient *T. caerulescens* sont appelées flore du Zn (Reeves & Brooks, 1983). Diverses espèces du genre *Thlaspi* hyperaccumulant le Zn ont été identifiées : *T. alpestre* var. *calaminare*, *T. alpestre* var. *caerulescens*, *T. rotundifolium* var. *cepaefolium*, *T. bulbosum*. On compte 60 à 70 espèces de *Thlaspi* réparties de la Suisse à la Bulgarie et sur le pourtour méditerranéen. Ce genre est également rencontré en Asie et en Amérique du Nord (Reeves *et al.*, 1983). Il peut aussi présenter des hyperaccumulateurs de nickel avec environ une douzaine recensés (Reeves & Brooks, 1983). Enfin, *Thlaspi* peut accumuler le Cd à des concentrations supérieures à 0,1% de la MS foliaire sur certains sols (Baker *et al.*, 1991 ; Baker *et al.*, 1993).

Alyssum murale, un hyperaccumulatrice de nickel, a été utilisé dans des expérimentations associant plusieurs espèces végétales (Photographie 6). Les semences proviennent d'Albanie et ont été collectées en juillet 1995 par J.L. Morel et S. Shallari (Shallari, 1997 ; Shallari *et al.*, 1997). *Alyssum* vient du grec a, a qui signifie contre et lyssa, ussa qui signifie rage ; c'est-à-dire les plantes capables de guérir la rage. Son nom vulgaire est Alysson (Alison en anglais). Ce genre fait partie de la famille des *Brassicaceae* et de la tribu des Alysseae (Brooks *et al.*, 1977). Le genre *Alyssum* est connu par la capacité de certaines de ses espèces à hyperaccumuler le Ni à des concentrations supérieures à 2 % du poids sec des jeunes pousses (Baker *et al.*, 1993) et par son hyperaccumulation du Co (Homer *et al.*, 1991). Le caractère hyperaccumulateur ne peut être généralisable ni à la tribu, ni au genre *Alyssum*. En effet, certains *Alyssum* sont des espèces indicatrices, la teneur du métal dans leurs tissus augmentant linéairement avec la teneur du métal dans le sol. Les botanistes ont recensé 168 espèces d'*Alyssum*, classées en 6 sections (Dudley, 1964), dont 46 hyperaccumulateurs de nickel regroupés dans la section Odontarrhena (74 espèces), définie par Meyer en 1831 (Dudley, 1964 ; Brooks *et al.*, 1979). Sur les 64 espèces européennes, 14 hyperaccumulateurs sont issus de sols développés sur des roches ultrabasiques (Portugal, Corse, Toscane, Alpes italiennes, Ex-Yougoslavie, Albanie (Shallari *et al.*, 1997), Grèce, Crète, Cyclades, Chypre, Turquie (Brooks & Radford, 1978).



Photographie 4.
Photographie 5.
Photographie 6.

Thlaspi caerulescens en fleurs
Thlaspi caerulescens sur sol de serpentine
Alyssum murale

Brassica napus ou colza est une *Brassicaceae*, comme les deux espèces hyperaccumulatrices étudiées. Le colza est un hybride naturel entre le chou et la navette présentant une racine pivotante avec des réserves glucidiques et une tige et des feuilles glabres. Le colza est une plante de grande culture très sensible au manque ou à l'excès d'eau (Le Clech, 1993). Les rendements en grains moyens attendus en France sont de 30 à 45 quintaux. En réponse à une carence en P, le colza met en œuvre des mécanismes d'acidification de la rhizosphère. L'exsudation d'acides organiques comme les acides citrique ou malique permet la solubilisation de P peu ou très peu mobile (Hoffland *et al.*, 1989a,b). Des carences en oligo-éléments peuvent être observées sur le colza. Les besoins en Zn sont de 322 g pour un rendement de 35 q ha⁻¹, ce qui représente une teneur d'environ 10 mg kg⁻¹ de matière sèche (Loué, 1993). Il existe cependant peu de données sur les teneurs des métaux dans le colza.

Lupinus albus ou lupin blanc appartient à la Famille des *Papilionaceae* et à l'Ordre des Légumineuses. Dans les régions à sols pauvres en éléments nutritifs, le lupin blanc est souvent utilisé comme engrais vert. Les plantes enfouies améliorent la structure des sols, provoquent une augmentation de la teneur en matières organiques et particulièrement en azote qui est valorisé par une culture associée ou la culture suivante (Gallais & Bannerot, 1994). En sol pollué, les métaux peuvent provoquer une diminution du nombre des nodosités et réduire l'efficacité de la fixation biologique de l'azote (McGrath & Brookes, 1988 ; Ibekwe *et al.*, 1995). Comme le colza, le lupin blanc met en œuvre des mécanismes d'acidification de la rhizosphère en réponse à une carence en phosphore avec des changements morphologiques au niveau des racines (racines protéoïdes) (Gardner *et al.*, 1982 ; White & Robson, 1989 ; Gardner & Parbey, 1981 ; Dinkelaker *et al.*, 1989 ; Gerke *et al.*, 1994).

Une autre plante test utilisée dans ce travail est la Graminée *Hordeum vulgare* ou orge de printemps var. Scarlett.

Les semences des espèces végétales sont conservées à 4°C à l'abri de l'humidité.

1.2. Terres et boues utilisées

Les échantillons de terre et de boue ont été choisis pour représenter différentes natures de matériaux et des niveaux variés de métaux (Figure 3). Quinze matériaux ont été retenus dont les principales caractéristiques sont présentées tableau 16. Pour chaque échantillon de terre prélevé, nous avons conduit une étude du profil. Les descriptions des sols de fonderie de Zn, de fonderie de Pb, de cokerie et de deux sols agricoles sont données dans les figures 4-8. L'étude du profil des sols industriels s'est appuyée sur la démarche classique de la pédologie qui consiste à identifier les "horizons" et à les caractériser individuellement par des critères descriptifs. Les profils de teneurs des métaux révèlent une distribution particulière propre en grande partie aux dépôts successifs par les activités anthropiques. Les terres sont échantillonnées et préparées pour analyses suivant les normes AFNOR relatives à la qualité des

sols (AFNOR, 1994). La terre est prélevée dans l'horizon de surface des différents profils de sol. Les terres sont séchées à l'air, tamisées à 2 mm pour analyse et à 5 mm pour les essais en vases de végétation. Les tamis sont en matière plastique pour éviter la contamination des échantillons par des métaux.

Figure 3. Origine des différentes terres et boues

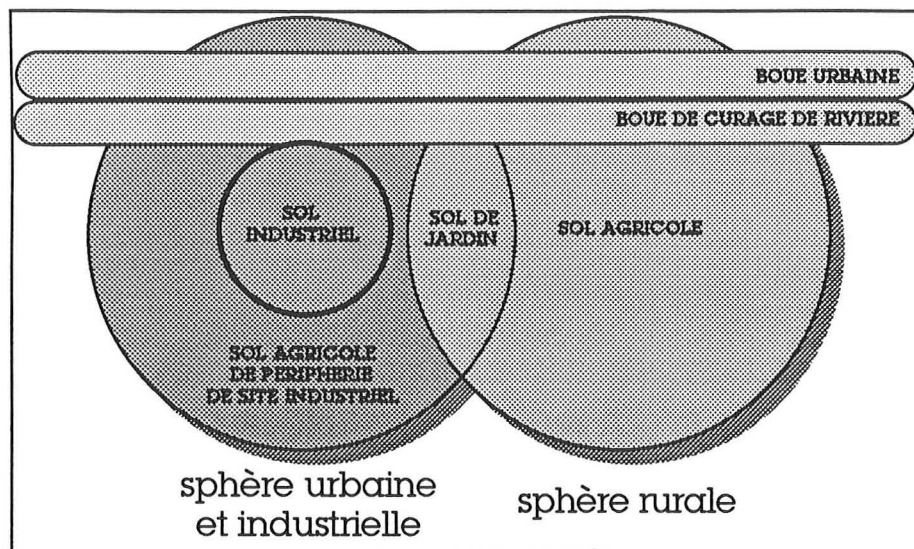


Tableau 16. Principales caractéristiques physico-chimiques des terres et des boues

| | Granulométrie | | | capacité au champ % | pH | C _{ov} % | CEC Metson meq kg ⁻¹ | P ₂ O ₅ ‰ | Cd élément total (extraction HF) mg kg ⁻¹ | Ni | Pb | Zn |
|--|---------------|--------|--------|---------------------------|-----|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|--|------------|--------------|--------------|
| | A % | L % | S % | | | | | | | | | |
| terre agricole 1 pour essais en vases de végétation (horizon de surface) | 23,6 | 46,3 | 30,1 | 32,3 | 5,8 | 1,50 | 132 | 0,016 | 0,1 | 26 | 23 | 40 |
| terre agricole 2 de la parcelle d'essai <i>in situ</i> (horizon de surface) | 31,6 | 49,4 | 19,0 | nd | 7,4 | 0,12 | 156 | 0,047 | 0,2 | 84 | 49 | 155 |
| terre agricole + boue de station d'épuration (horizon de surface) | 90,0 | 15,8 | 68,8 | 18,6 | 7,2 | 0,27 | 94 | 1,010 | 2,7 | 16 | 274 | 170 |
| terre agricole de périphérie de fonderie de Pb (horizon de surface) | 29,0 | 57,0 | 85,4 | 12,4 | 4,9 | 0,27 | 64 | 0,205 | 0,2 | 1 | 216 | 12 |
| terre agricole de périphérie de fonderie de Zn (horizon de surface) | 41,2 | 36,9 | 11,7 | 45,4 | 5,8 | 0,29 | 241 | 0,129 | 14,3 | 26 | 1294 | 1609 |
| terre agricole de périphérie d'usine métallurgique S0 (horizon de surface) | 14,9 | 76,8 | 8,3 | nd | 8,2 | 0,16 | 92 | 0,789 | 0,6 | 18 | 65 | 77 |
| terre agricole de périphérie d'usine métallurgique S1 (horizon de surface) | 17,8 | 64,8 | 17,4 | nd | 7,9 | 0,17 | 119 | 0,356 | 8,9 | 21 | 440 | 515 |
| terre agricole de périphérie d'usine métallurgique S2 (horizon de surface) | 20,9 | 59,0 | 20,1 | nd | 8,1 | 0,16 | 169 | 0,321 | 15,1 | 21 | 766 | 1010 |
| terre agricole de périphérie d'usine métallurgique S3 (horizon de surface) | 15,4 | 63,1 | 21,5 | nd | 7,8 | 0,16 | 115 | 0,524 | 25,4 | 17 | 1196 | 1520 |
| terre de fonderie de Pb (horizon de surface) | 6,8 | 12,6 | 76,1 | 11,6 | 5,5 | 0,19 | 41 | 0,015 | 7,1 | 20 | 43309 | 131 |
| terre de fonderie de Zn (horizon 0-3 cm) | 16,6 | 43,8 | 39,6 | nd | 5,9 | 16,7 | 448 | 0,060 | 200 | 40 | 12560 | 31200 |
| terre de fonderie de Zn (horizon 3-55 cm) | 8,1 | 32,7 | 59,2 | 21,6 | 5,8 | 0,99 | 57 | 0,043 | 16,3 | 7 | 259 | 1280 |
| terre de cokerie (horizon de surface) | 6,2 | 18,8 | 75,0 | 21,1 | 8,8 | 6,8 | 90 | 0,411 | 0,7 | 61 | 319 | 1340 |
| boue de station d'épuration | nd | nd | nd | 38,8 | nd | 31,0 | nd | nd | 45,1 | 366 | 2846 | 4973 |
| boue de curage de rivière | 15,3 | 44,4 | 23,2 | 40,1 | 7,7 | 8,7 | 154 | 1,199 | 13,3 | 88 | 592 | 1736 |

Figure 4. **sol brun sur colluvions limono-sableux**
 Activité initiale: agriculture - terre témoin pour essais de phytoremédiation

photographie du profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ ‰ | Fe ‰ | | CaCO ₃ % | Cd | Cu | Ni | Pb | Zn | |
|-------------|--------|--------------------|------|------|--------|--------|-------|---|-----|------|-------|-------|------------------------------------|---------|-------|------------------------|------|-------|------|------|------|-------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | | total | libre | | | | | | | total |
| Ap | 0-20 | 6,3 | 23,6 | 46,3 | 30,1 | 1,5 | 0,170 | 8,8 | 8,6 | 4,64 | 0,261 | 0,035 | 13,2 | 0,016 | 24,9 | 10,6 | 0,2 | 0,133 | 17,3 | 25,6 | 22,7 | 40,0 |
| AB | 20-40 | 7,3 | 33,5 | 43,3 | 23,2 | 0,3 | 0,046 | 6,5 | 9,2 | 7,13 | 0,289 | 0,080 | 13,6 | 0,002 | 30,5 | 9,9 | <0,2 | 0,051 | 25,3 | 38,9 | 19,0 | 61,3 |
| Bg | 40-120 | 7,6 | 31,6 | 41,5 | 26,9 | 0,2 | 0,036 | 5,8 | 9,0 | 7,13 | 0,274 | 0,108 | 13,2 | 0,007 | 30,3 | 9,5 | <0,2 | 0,052 | 24,5 | 43,8 | 19,2 | 59,5 |

Remarques:

Nous avons décrit 3 horizons sur le profil de ce sol brun sur colluvions limono-sableux. L'horizon Ap (0-20 cm) est de texture limono-sableuse et contient des graviers de limonite. Les teneurs des métaux et du phosphore de l'horizon de surface sont très faibles. L'horizon AB (20-40 cm) de structure polyédrique présente des taches rouilles. Cet horizon comporte de nombreux vers de terre dont les galeries sont tapissées de matières humifiées de l'horizon de surface. Puis l'horizon Bg (40-120 cm) de structure à tendance fondue avec quelques polyèdres est un mélange de marnes décarbonatées. A des langues grises ou glosses s'ajoutent quelques concrétions ferro-manganiques. Les galeries de vers de terre sont encore présentes.

Figure 5.

sol brun lessivé

Activité initiale: agriculture, essai de phytoremédiation en microparcelles

photographie du profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ ‰ | Fe ‰ | | CaCO ₃ % | Cd | Cu | Ni | Pb | Zn |
|-------------|-----|--------------------|------|------|--------|--------|-----|---|------|-------|-------|------|------------------------------------|---------|-------|------------------------|-------|------|------|------|-------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | | total | libre | | | | | | |
| 0-25 | 7,4 | 31,6 | 49,4 | 19,0 | 0,12 | 0,135 | 8,7 | 13,9 | 1,23 | 0,645 | 0,055 | 15,6 | 0,047 | 83,3 | 70,3 | 0,3 | 0,244 | 30,5 | 84,2 | 48,6 | 154,9 |
| 25-50 | 7,7 | 41,6 | 46,4 | 12,0 | 0,03 | 0,042 | 7,1 | 18,3 | 2,15 | 0,466 | 0,072 | 18,2 | 0,008 | 75,2 | 56,3 | 0,2 | 0,100 | 26,6 | 79,6 | 36,6 | 146,5 |
| 50-70 | 7,5 | 42,4 | 44,1 | 13,5 | 0,25 | 0,037 | 6,8 | 17,8 | 2,93 | 0,399 | 0,106 | 18,3 | 0,009 | 81,1 | 61,1 | 0,2 | 0,107 | 26,6 | 85,5 | 38,7 | 148,3 |
| 70-115 | 5,7 | 46,1 | 48,6 | 5,3 | 0,26 | 0,041 | 6,3 | 15,4 | 4,76 | 0,352 | 0,128 | 20,1 | 0,016 | 51,0 | 32,7 | 0,2 | 0,052 | 19,3 | 67,0 | 28,9 | 115,0 |
| 115-150 | 5,7 | 48,3 | 42,5 | 9,2 | 0,26 | 0,045 | 5,8 | 14,2 | 5,24 | 0,312 | 0,163 | 20,6 | 0,013 | 63,3 | 42,7 | 0,2 | 0,584 | 21,8 | 76,0 | 33,1 | 119,8 |

Remarques:

L'horizon de surface (0-25 cm) est un horizon Ap limono-argileux. Il est structuré en polyèdres subangulaires associés à des grumeaux anguleux de quelques mm. On a observé des granules de limonite et quelques taches rouilles. L'horizon suivant (25-50 cm) est appelé A2g. Sa structure est moins aérée et grumeleuse qu'en surface. Il y a encore quelques agrégats anguleux de taille millimétrique. On observe des taches rouilles et des concrétions ferro-manganiques. L'horizon 50-70 cm est appelé Btg1. Sa structure est prismatique. Des concrétions ferro-manganiques d'environ 0,5 mm jusqu'à 1 cm forment des pellicules autour des unités structurales. L'horizon B2 (70-115 cm) montre de grosses unités structurales prismatiques d'environ 10 cm. Des langues de couleur gris clair ou glosses s'orientent subverticalement sur un fond de couleur ocre. L'enracinement est faible. De 115 cm au fond de la fosse, l'horizon B3 a une structure plus particulière. Cet horizon s'apparente à la roche mère.

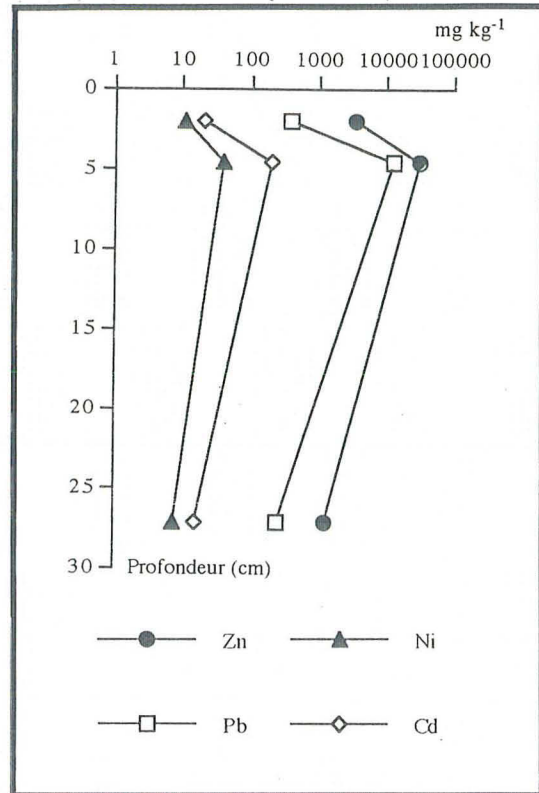
Figure 6. sol industriel

Activité initiale: fonderie de zinc - crassier

photographie du profil



répartition des teneurs de métaux sur le profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ ‰ | CaCO ₃ % total | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
|-------------|-----|--------------------|------|------|--------|--------|------|---|------|-------|-------|---------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------|------|------|------|-------|-------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | | | | | | | | |
| | | élément total | | | | | | | | | | mg.kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| +5 | 5,8 | 14,2 | 27,4 | 58,4 | 14,9 | 0,776 | 19,2 | 27,7 | 11,6 | 3,350 | 0,113 | 49,8 | 0,114 | <1 | 20,5 | 21,9 | 37,4 | 10,3 | 394 | 3360 |
| 0-3 | 5,9 | 16,6 | 43,8 | 39,6 | 16,7 | 1,137 | 14,7 | 10,4 | 1,6 | 0,699 | 0,129 | 44,8 | 0,060 | 3,0 | 200,0 | 36,6 | 1050 | 39,7 | 12560 | 31200 |
| 3-55 | 5,8 | 8,1 | 32,7 | 59,2 | 0,99 | 0,069 | 14,3 | 1,7 | 0,2 | 0,148 | 0,036 | 5,7 | 0,043 | <1 | 16,3 | 25,6 | 19,6 | 7,4 | 259 | 1280 |

Remarques:

hétérogénéité des matériaux

- litière fibreuse mal décomposée
- dépôts atmosphériques et remblais de déchets de l'activité industrielle

variabilité horizontale et verticale des matériaux et de leur qualité

- C, P, Cd, Cu, Pb et Zn enrichis dans l'horizon 0-3 cm

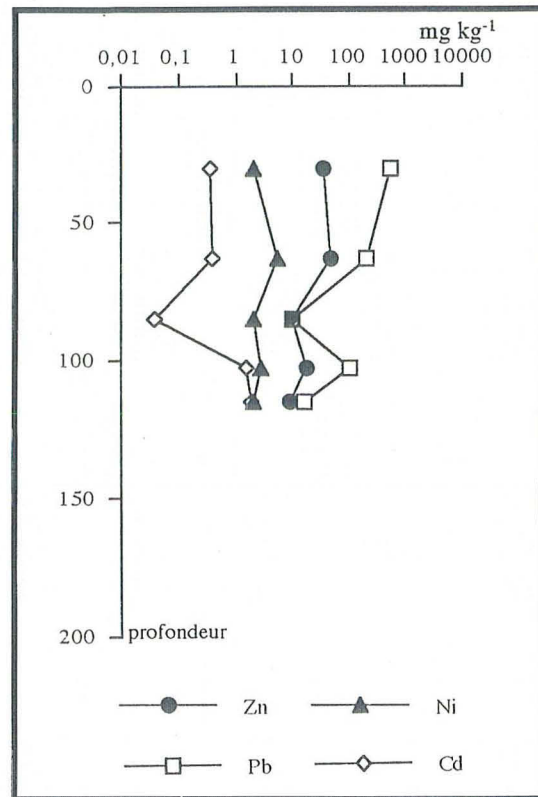
Figure 7. sol industriel

Activité initiale: fonderie de plomb

photographie du profil



répartition des teneurs de métaux sur le profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ % | Fe ‰ | | CaCO ₃ % | Cd élément | Cu total | Ni total | Pb mg.kg ⁻¹ | Zn mg.kg ⁻¹ |
|-------------|-----|--------------------|-----|------|--------|--------|------|---|------|-------|-------|-----|------------------------------------|---------|-------|------------------------|---------------|-------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | | total | libre | | | | | | |
| 10-50 | 6,6 | 3,5 | 4,0 | 92,5 | 0,70 | 0,026 | 26,9 | 3,4 | 0,08 | 0,055 | 0,005 | 3,0 | 0,080 | 1,7 | 1,3 | <0,1 | 0,364 | 5,5 | <2,0 | 523 | 34,5 |
| 50-75 | 7,2 | 4,2 | 6,4 | 89,4 | 0,96 | 0,037 | 26,0 | 5,0 | 0,10 | 0,178 | 0,033 | 4,2 | 0,026 | 8,6 | 6,3 | <0,1 | 0,378 | 9,4 | 5,7 | 198 | 48,4 |
| 75-95 | 7,4 | 3,4 | 5,6 | 91,0 | 0,33 | 0,014 | 23,6 | 1,9 | 0,02 | 0,049 | 0,005 | 1,5 | 0,047 | 0,7 | 0,3 | <0,1 | 0,037 | <2,0 | <2,0 | 9,5 | 9,7 |
| 95-110 | 7,2 | 6,8 | 6,7 | 86,5 | 0,63 | 0,029 | 21,7 | 5,1 | 0,07 | 0,125 | 0,024 | 4,3 | 0,044 | 1,4 | 0,9 | <0,1 | 1,549 | <2,0 | 2,9 | 105 | 18,0 |
| 110-120 | 7,0 | 1,8 | 2,4 | 95,8 | 0,06 | 0,002 | 30,0 | <0,2 | 0,01 | 0,006 | 0,003 | 0,5 | <0,002 | 0,7 | <0,2 | <0,1 | 1,940 | <2,0 | <2,0 | 16,4 | 9,0 |

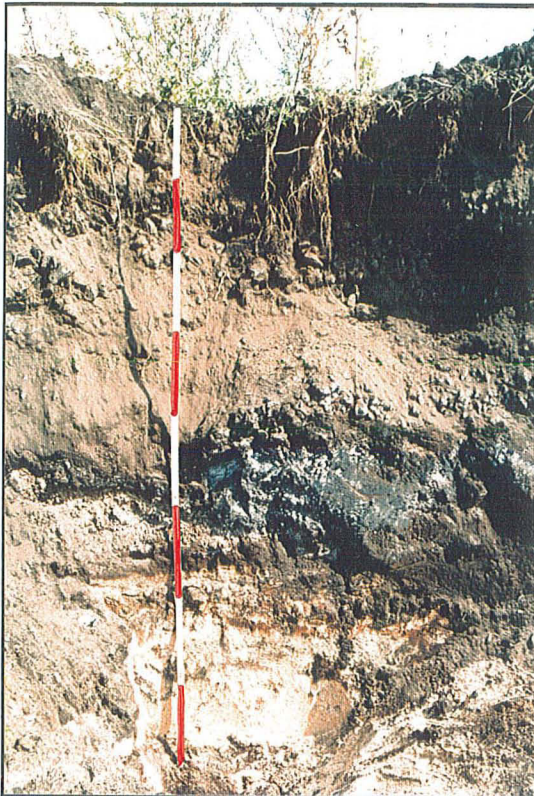
Remarques:

- zone de l'ancienne usine - limite d'ancienne plateforme bétonnée
- hétérogénéité des matériaux - remblais de déchets de l'activité industrielle

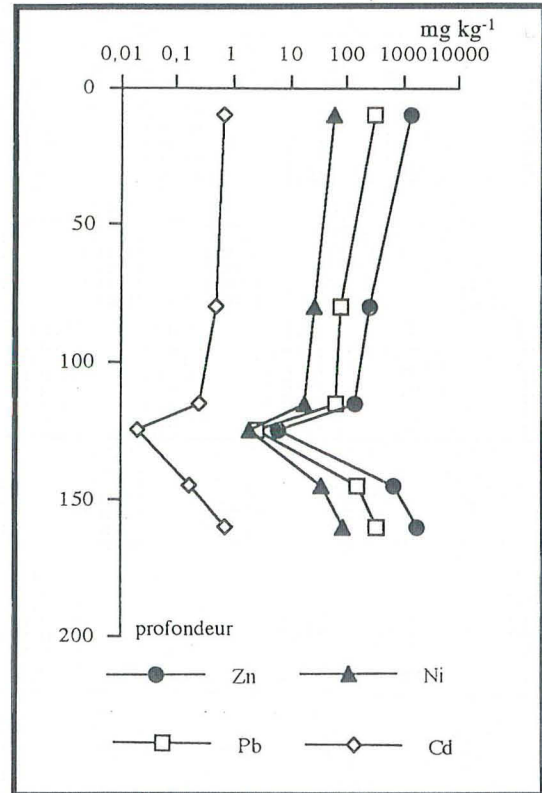
Figure 8. **sol industriel**

Activité initiale: cokerie

photographie du profil



répartition des teneurs de métaux sur le profil



| Prof. cm | pH | Granulométrie % | | | C % | N % | C/N | Complexe Absorbant cmol.kg ⁻¹ | | | | | P ₂ O ₅ ‰ | | Fe ‰ | | CaCO ₃ % | | Cd élément | Cu total | Ni total | Pb mg.kg ⁻¹ | Zn mg.kg ⁻¹ |
|-------------|------|--------------------|------|------|--------|--------|------|---|-------|-------|-------|-----|------------------------------------|-------|---------|-------|------------------------|-------|---------------|-------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| | | A | L | S | | | | Ca | Mg | K | Na | T | Dyer | JH | total | libre | total | actif | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | total | actif | | | | | | | | |
| 0-20 | 8,8 | 6,2 | 18,8 | 75,0 | 6,79 | 0,177 | 38,4 | 36,4 | 6,30 | 1,478 | 0,082 | 9,0 | 0,017 | 0,411 | 200,8 | 184,8 | 14,7 | 1,6 | 0,684 | 33,0 | 60,8 | 319,0 | 1340 |
| 50-110 | 8,6 | 5,7 | 25,8 | 68,5 | 39,89 | 0,828 | 48,2 | 37,0 | 0,81 | 0,448 | 0,073 | 6,8 | 0,139 | 0,141 | 35,6 | 24,1 | 7,1 | 1,7 | 0,502 | 32,9 | 27,1 | 83,4 | 250 |
| 110-120 | 12,1 | 20,1 | 51,2 | 28,7 | 3,72 | 0,125 | 29,8 | 134,0 | 83,26 | 0,079 | 0,025 | 1,2 | 0,002 | 0,070 | 39,7 | 6,5 | 27,3 | 19,8 | 0,259 | 13,8 | 18,8 | 69,3 | 149 |
| 120-130 | 9,5 | 1,5 | 4,7 | 93,8 | 0,95 | 0,042 | 22,6 | 6,5 | 0,39 | 0,119 | 0,007 | 1,1 | 0,012 | 0,004 | 1,5 | 1,4 | 2,1 | - | <0,02 | <2,0 | <2,0 | 2,8 | 6,6 |
| 130-160 | 9,0 | 4,0 | 15,5 | 80,5 | 2,79 | 0,057 | 49,0 | 40,2 | 2,39 | 1,034 | 0,089 | 7,9 | 0,078 | 0,389 | 128,0 | 116,3 | 18,2 | 1,7 | 0,167 | 14,3 | 39,0 | 156,9 | 717 |
| 160 + | 8,6 | 4,1 | 11,5 | 84,4 | 3,43 | 0,077 | 44,6 | 35,6 | 5,00 | 0,900 | 0,072 | 7,8 | 0,013 | 0,261 | 333,6 | 292,0 | 13,7 | 2,0 | 0,735 | 16,4 | 92,4 | 366,0 | 1890 |

Remarques:

- zone de l'ancienne usine - fours
- variabilité horizontale et verticale des matériaux et de leur qualité
- hétérogénéité des matériaux - remblais de déchets de l'activité industrielle

Les matériaux de remblais sont variables en qualité et en quantité en fonction des horizons. Les matériaux rencontrés proviennent de l'activité minière (sables ferriques et manganiques, éléments calcaires), de l'activité de terrassement, des activités sidérurgiques (mâchefers, matériaux inertes, scories) et de la cokéfaction (poussières de charbon, goudrons). Il faut noter la présence localisée d'un ballast grossier dû aux voies ferrées anciennement présentes sur le site.

2. Méthodes communes à l'ensemble des expérimentations

2.1. Cultures en vases de végétation

Les expérimentations ont lieu dans une serre climatisée et avec un appoint d'éclairage artificiel si nécessaire. Les cultures sont réalisées dans des vases de végétation en matière plastique percés à leur base et disposés sur une coupelle. Ils reçoivent un poids standard de 1 kg de matière sèche de terre ou de boue. Des graviers lavés à l'acide sont placés en couche drainante. Les terres et les boues reçoivent un arrosage quotidien à l'eau distillée ou osmosée pour être maintenus à 80 % de la capacité au champ durant toute la période de culture. Le dispositif expérimental mis en œuvre pour chaque essai est un plan en blocs complets où le sol est le facteur contrôlé et les traitements les facteurs étudiés. Les combinaisons des niveaux des différents facteurs sont réparties de façon aléatoire dans chacun des blocs (3, 4 ou 5 en fonction des expérimentations) pour former un plan factoriel. Le bloc représente une zone dans une serre la plus homogène possible sur laquelle sont réparties toutes les combinaisons des niveaux des facteurs étudiés. Les cultures en rhizotrons, en lysimètres et au champ seront décrites dans les parties correspondantes.

2.1.1. Obtention de plantules

Pour les essais en vases de végétation les graines sont semées sur des plaques de germination sur un terreau pour semis dont les caractéristiques sont données dans le tableau 17. Les plantules sont repiquées en vases de végétation environ 15 jours après germination.

Tableau 17. Caractéristiques physico-chimiques du terreau pour semis

| Granulométrie | | | pH | Ca _t | MO | CEC Metson | P ₂ O ₅ assimilable | Cd | Ni | Pb | Zn |
|---------------|------|------|-----|-----------------|----|----------------------|--|-------------------------------|-----|------|------|
| A | L | S | eau | | | | | élément total (extraction HF) | | | |
| % | | | | ‰ | % | meq kg ⁻¹ | ‰ | mg kg ⁻¹ | | | |
| 24,1 | 15,9 | 60,0 | 5,0 | < 2 | 49 | 520 | 0,237 | 0,16 | 4,9 | 16,2 | 25,5 |

2.1.2. Récolte et mesures

Les parties aériennes des plantes sont récoltées pour pesée, mesures et analyses. Pour *T. caerulea*, les critères morphologiques mesurés sont le diamètre de la rosette, la longueur de la plus grande feuille et la surface de la plus grande feuille ainsi que le nombre total de feuilles. Les parties aériennes sont pesées avant et après séchage 48 h à 80°C. Pour le colza ont été mesurés la hauteur de la plante, le diamètre au collet, les poids de matière fraîche et sèche par organe (feuilles, tiges, siliques, graines) ainsi que le poids de mille graines.

2.2. Analyses

2.2.1. Caractérisation physico-chimique des terres et des boues

Une caractérisation complète (granulométrie, pH, calcaire, carbone, azote, C/N, phosphore, bases échangeables, CEC) ainsi que la détermination des teneurs totales des métaux des sols et des boues a été réalisée par le Laboratoire d'Analyse des Sols de l'INRA (Arras) ou par la SADEF (Aspach le Bas) suivant des méthodes normalisées. Nous avons déterminé la capacité au champ des terres et des boues par la méthode de l'extracteur à plaque poreuse à pF 2,5. Le pH des sols a été déterminé par mesure électrométrique dans la solution surnageante d'un mélange sol/eau distillée dans la proportion 1/2,5 (Norme AFNOR X31 103). Les extractions des métaux par l'eau et le nitrate d'ammonium ont été réalisées par nous mêmes et les dosages effectués au Centre de Pédologie Biologique du CNRS (Vandœuvre-lès-Nancy). L'extraction à l'eau désionisée s'est faite selon la méthode utilisée par Didier *et al.* (1992). La méthode consiste à agiter pendant 2 h 10 g de sol sec dans 50 ml d'eau distillée. La solution obtenue est centrifugée 20 mn à 5500 tours puis filtrée sur filtre en nitrate de cellulose de porosité 0,45 μm (Jopony & Young, 1994 ; Goody *et al.*, 1995). La solution est recueillie dans des fioles contenant 1 ml d' HNO_3 (14N) avant dosage par spectrométrie d'émission type torche à plasma ou ICP (Jobin Yvon JY38 et JY238 ultrace). Cette technique présente quelques difficultés en raison d'une floculation difficile de la suspension, des faibles quantités de métaux mises en solution et elle nécessite la mise en œuvre d'un appareillage de mesure performant. La méthode utilisée pour l'extraction au nitrate d'ammonium est normalisée sous la référence DIN V 19730 (1993). Le réactif NH_4NO_3 est utilisé dans le but de simuler les échanges ioniques responsables de la mobilisation d'éléments métalliques adsorbés sur la phase solide du sol (He & Singh, 1993). Une étude de Symeonides et McRae (1977) souligne l'efficacité du NH_4NO_3 1 mol l⁻¹ pour évaluer la biodisponibilité de Cd pour des radis cultivés sur des sols pollués artificiellement par CdCl_2 . Les travaux de Pruess (1992) montrent que l'extraction de nombreux métaux du sol par NH_4NO_3 1 mol l⁻¹ est corrélée significativement aux teneurs de ces métaux dans les plantes. L'extraction au nitrate d'ammonium consiste à agiter 20 g de terre séchée à l'air et tamisée à 2 mm dans 50 ml d'une solution NH_4NO_3 1 mol l⁻¹ pendant 2 h. La solution est ensuite centrifugée 20 mn à 5500 tours, acidifiée, filtrée sur filtre en nitrate de cellulose de porosité 0,45 μm puis diluée dix fois afin de permettre l'analyse par ICP.

2.2.2. Test microbiologique de toxicité des sols

Le test de toxicité MetPLATE™ est mis en œuvre pour une estimation rapide de la toxicité des métaux associés à la phase solide des différents supports de culture (Bitton *et al.*, 1996). Le test doit aussi permettre de suivre l'influence des cultures de métalphytes sur le risque associé à la présence des métaux dans le sol. MetPLATE™ est un bio-test quantitatif de la toxicité des métaux basé sur l'inhibition spécifique par les métaux de l'activité de la β -galactosidase chez une

souche mutante de *Escherichia coli*. La bactérie est présentée sous forme lyophilisée, fournie par la société Group 206 Technologies, Inc (Etats-Unis). Le substrat de l'enzyme est une solution de CPRG (chlorophénol rouge β -galacto-pyranoside) d'une concentration de 125 mg l⁻¹, tamponnée à pH 7,5 avec un tampon phosphate de sodium (Na₂HPO₄, H₂O 0,15 M). Le protocole est le suivant : 0,5 à 1 g d'échantillon de terre sont introduits dans un flacon, puis 0,9 ml d'eau ultrapure et 0,1 ml de suspension bactérienne sont ajoutés. La suspension est incubée pendant 1h à 35°C. Ensuite 0,5 ml de CRPG sont introduits et le tout est incubé à nouveau à 35°C jusqu'au développement de la couleur. Alors la suspension est filtrée (0,45 μ m) et la densité optique du filtrat déterminée à 575 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition. Un témoin et deux blancs sont préparés en suivant le protocole décrit par Bitton *et al.* (1996) afin de prendre en compte les éventuelles interactions entre le substrat et la phase solide et de compenser l'activité β -galactosidase du matériau testé et les colorations du fond.

2.2.3. Végétaux

Les organes végétaux sont séchés 48 h à l'étuve à 70°C avant d'être broyés à l'aide d'un broyeur à mortier en agate. Une prise d'essai de 0,5 g MS placée dans une fiole d'attaque est soumise à une attaque acide avec 2 ml H₂SO₄, 6 ml HNO₃ et 6 ml H₂O₂. Tous les réactifs sont de qualité Normapur (Prolabo) pour analyses de traces. Les minéralisations sont réalisées sur une plaque chauffante. Le minéralisat est filtré sur papier filtre sans cendres et récupéré dans une fiole de 25 ml et ajusté avec de l'acide nitrique 0,1M. Les analyses sont réalisées par ICP. Une vérification des résultats analytiques est possible grâce à l'utilisation de matériel végétal de référence certifié BCR. Le dosage du phosphore total des plantes a été réalisé par la méthode de John (John, 1968) sur les minéralisats obtenus pour l'analyse des métaux.

2.3. Analyses statistiques

Dans les figures et les tableaux, les valeurs sont représentées pour chaque traitement par la moyenne arithmétique des répétitions plus ou moins l'écart type. Dans certaines figures, les valeurs sont représentées par la moyenne arithmétique des répétitions affectée d'une lettre donnée par le test de Tukey effectué suite à l'analyse de variance. Des lettres différentes permettent de distinguer les moyennes significativement différentes au seuil de confiance de 5%. Les régressions sont accompagnées de l'équation de régression suivie du coefficient de corrélation au carré (r^2). Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels SYSTAT et STATITCF.

CHAPITRE 3

**Comportement de *Thlaspi caerulescens*
sur divers matériaux pollués**

Avant d'installer des végétaux sur des sites pollués et d'optimiser la phytoextraction des métaux par des plantes hyperaccumulatrices, il est indispensable de savoir si leurs semences germent et si elles se développent sur des matériaux différents de leur support naturel. Les métalophytes se développent naturellement sur des sites aux sols à teneurs élevées en métaux. Le caractère hyperaccumulateur est-il vérifié sur des sols à teneurs faibles de métaux et la phytoextraction est-elle possible sur des sols peu à moyennement pollués ou multipollués ? L'attention devra alors être portée sur le statut des métaux dans le sol et surtout sur la quantité de métal dans la solution du sol.

1. Aptitude de *Thlaspi caerulescens* à la germination

La germination des semences est indispensable à la croissance et au développement des végétaux. La germination est soumise à des facteurs internes comme la quantité de réserves dans la graine, mais aussi à des facteurs externes comme la température, l'humidité ou encore la présence de substances toxiques et notamment de métaux biodisponibles. Des tests de germination et de croissance ont donc été réalisés sur six terres et boues et sur du sable pollué artificiellement par des sels métalliques (Cd, Pb, Zn) apportés à des concentrations croissantes.

1.1. Matériel et méthodes

1.1.1. Plantes

Les plantes testées sont *T. caerulescens* (origine Viviez), *B. napus* var. Jaguar (colza de printemps), *Lupinus albus* var. Ares (lupin blanc doux) et *Hordeum vulgare* var. Scarlett (orge de printemps).

1.1.2. Terres

Les terres utilisées proviennent de sols agricoles, de sols agricoles ayant reçu des boues urbaines (doses 3 t ha⁻¹ et 15 t ha⁻¹), de sols agricoles de périphérie d'usine métallurgique présentant un gradient de pollution (S0, S1, S2 et S3), de sols de friches industrielles (fonderie de Zn, fonderie de Pb, cokerie) et d'un sol de friche industrielle de cokerie ayant reçu un apport de boue d'épuration urbaine à la dose de 15 t ha⁻¹. Les principales caractéristiques analytiques des terres et de la boue sont données dans le Chapitre 2 (Tableau 16).

1.2. Méthode

Des tests de germination sont menés suivant la norme NFU X31202 pour les terres et boues d'origines différentes et des doses croissantes de métaux. L'objectif est d'établir le taux de germination des semences de lupin, d'orge, de colza et de *Thlaspi*. Des boîtes de pétri de 9 cm

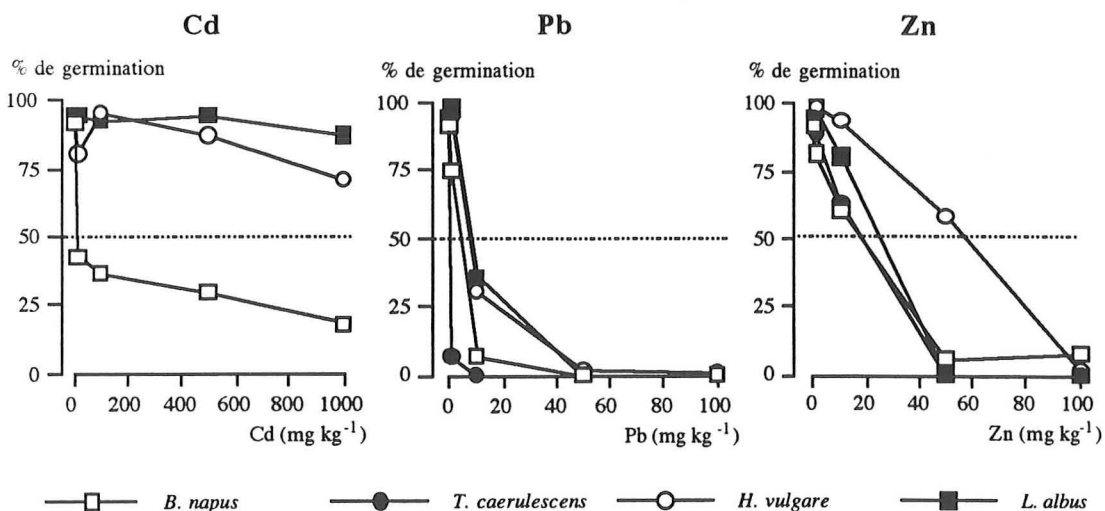
de diamètre contiennent chacune 50 g de terre sèche tamisée à 2 mm ou de sable de Fontainebleau amendé avec des solutions de CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ou ZnSO_4 . Le sable de Fontainebleau est préalablement lavé à l'acide et rincé à l'eau osmosée puis pollué artificiellement avec des doses croissantes de métaux. Des tests préliminaires ont permis de définir les gammes de concentrations à appliquer, correspondant à des teneurs 10 à 100 fois plus élevées que les teneurs des métaux extractibles à l'eau ou au nitrate d'ammonium des terres. La gamme est de 10, 100, 500 et 1000 mg kg^{-1} de sable sec pour Cd et de 1, 10, 50 et 100 mg kg^{-1} de sable sec pour Pb ou Zn. Cinquante graines de colza, d'orge et de *Thlaspi* sont semées par boîte. Quatre répétitions sont réalisées pour chaque espèce. En raison de la taille des semences, 30 graines de lupin blanc sont semées par boîte avec 7 répétitions. La terre est humidifiée pour atteindre la capacité au champ et les boîtes sont placées 7 jours en incubateur à 21°C. Le comptage des graines germées est effectué quotidiennement. Le taux de germination est calculé au septième jour.

1.3. Résultats

1.3.1. Tests de germination pour des doses croissantes de métaux

Les taux de germination des quatre espèces testées en fonction des doses croissantes de Cd, Pb et Zn, ont permis d'estimer la CL_{50} ou concentration du métal qui induit une inhibition de germination de 50 % par rapport au témoin. La CL_{50} est inférieure à 10 mg Cd kg^{-1} pour le colza alors que seule la dose de 1 000 mg Cd kg^{-1} a un effet significatif sur le taux de germination du lupin et de l'orge sans atteindre la CL_{50} . Le colza est donc particulièrement sensible au Cd. Le Pb est beaucoup plus toxique présentant une CL_{50} inférieure à 10 mg Pb kg^{-1} pour les quatre espèces. Le Zn présente une toxicité intermédiaire et l'orge est moins sensible que les trois autres espèces (Figure 9).

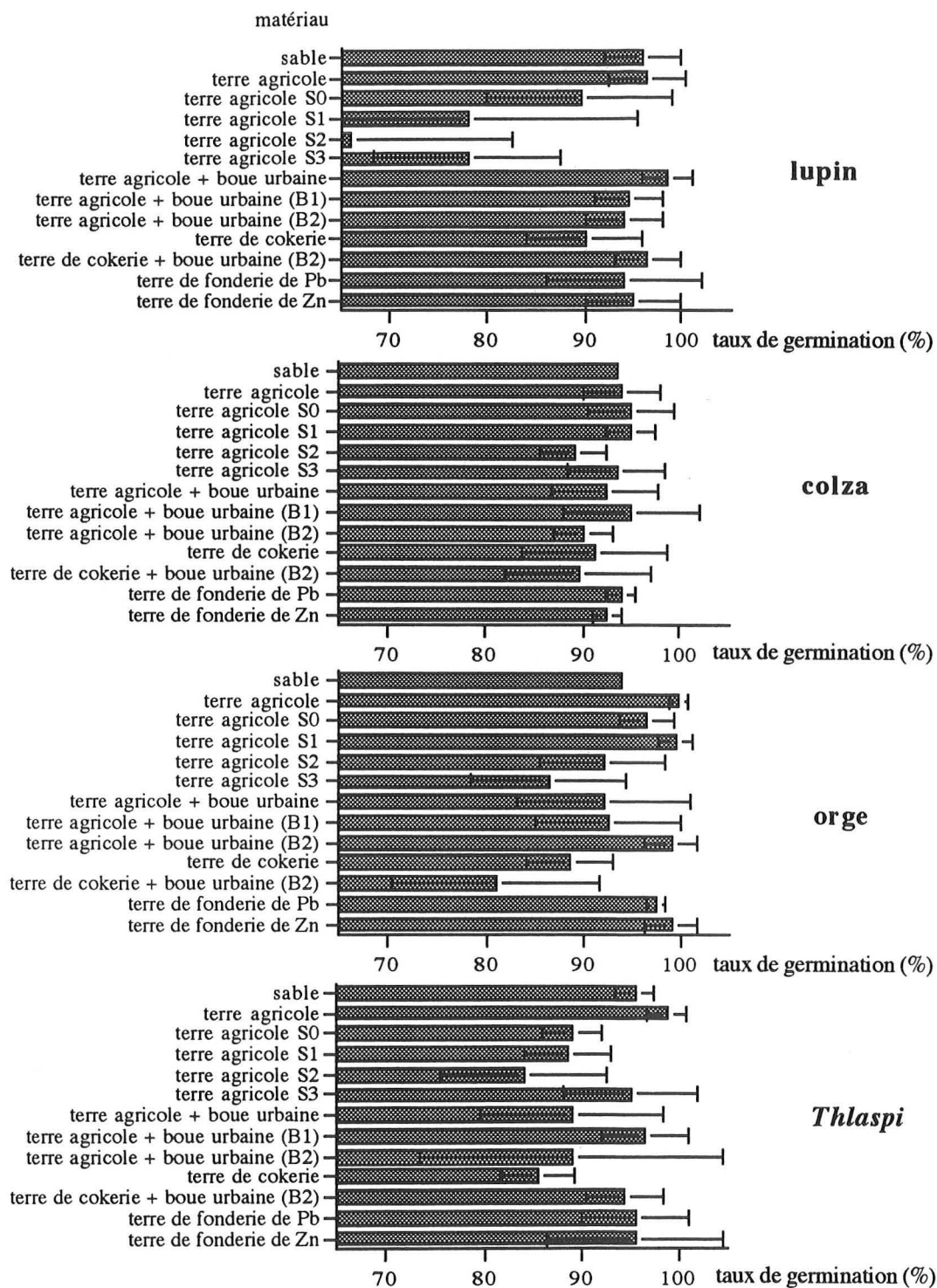
Figure 9. Germination de différentes plantes sur du sable amendé avec des concentrations croissantes de Cd, de Pb ou de Zn



1.3.2. Germination sur différentes terres et boues

Les quatre espèces germent sur tous les matériaux testés et le taux de germination est systématiquement supérieur à 80 % sauf pour le lupin sur les terres S1 à S3 (Figure 10).

Figure 10. Taux de germination du lupin, du colza de l'orge et de *Thlaspi* sur différents matériaux



1.4. Discussion

Les métaux Cd, Pb et Zn inhibent la germination. Pb est plus toxique que Zn et Cd. Pour ces derniers, les plantes sont plus sensibles à Zn qu'à Cd, sauf le colza dont la germination est inhibée par de faibles concentrations. D'ailleurs, les différentes terres polluées testées n'ont pas entraîné d'inhibition significative de la germination, en dehors du lupin en présence de fortes concentrations en Zn. Néanmoins les CL_{50} sont généralement très élevées et il est peu probable que de telles concentrations soient observées dans la solution du sol. On peut estimer que les métaux apportés au sable sous forme de sels métalliques sont présents en très grande majorité en solution. Les teneurs de Cd, Pb et Zn extractibles à l'eau ou au nitrate d'ammonium des sols que nous avons utilisés dans ce travail n'atteignent pas les CL_{50} .

2. Croissance et développement de *Thlaspi caerulescens*

L'objectif était de déterminer l'aptitude de *T. caerulescens* à s'implanter sur différentes terres et boues représentant des milieux très divers et une gamme de contamination. Il s'agissait aussi de déterminer si l'extraction de Zn par la plante hyperaccumulatrice se fait avec la même intensité quelle que soit sa teneur dans la terre ou la boue. L'extraction a été mesurée par la teneur de métal dans la plante, par la quantité extraite par la biomasse aérienne totale produite et par les facteurs de transfert du matériau à la plante.

2.1. Matériel et méthodes

Sept matériaux ont été retenus. Il s'agit d'une terre agricole témoin, une terre agricole ayant reçu des apports de boue d'épuration urbaine, une terre de l'horizon de surface d'un sol de friche industrielle de fonderie de Pb, une terre de l'horizon de surface d'un sol agricole de périphérie de friche industrielle de fonderie de Pb, une terre agricole de périphérie de friche industrielle de fonderie de Zn, une boue de station d'épuration urbaine et une boue de curage de rivière (Tableau 16, p. 41). La plante testée était *T. caerulescens* (Prayon). Un kg de chacun des matériaux a été introduit dans trois pots plastiques représentant 3 répétitions et a reçu une fertilisation uniforme 25 jours avant repiquage des plantes (N : 33,3 mg kg⁻¹ sous forme nitrique NaNO₃ ; P : 6 mg kg⁻¹ sous forme KH₂PO₄ ; K : 33,3 mg kg⁻¹ sous forme KNO₃). Les pots ont été placés dans une serre. Quatre plantules de *Thlaspi* ont été repiquées sur chaque pot. Des pots sans plantes ont été suivis parallèlement. Un arrosage quotidien avec de l'eau osmosée a permis de maintenir les matériaux à la capacité au champ. Les plants de *T. caerulescens* ont été récoltés individuellement 90 jours après germination. Les racines présentant un chevelu dense et fin n'ont pas pu être extraites afin de conserver le sol non perturbé pour les analyses. Chaque prélèvement végétal s'est accompagné d'un prélèvement de terre sur lequel ont été effectuées des extractions à l'eau et au nitrate d'ammonium. La biomasse aérienne fraîche et sèche, le diamètre de la rosette, la longueur de la plus grande feuille, la surface de la plus grande feuille ont été

Photographie 7.
Thlaspi caerulescens cultivé 90 jours
sur divers matériaux

Terre agricole ayant reçu
des apports de boues



Boue de curage
de cours d'eau



Terre agricole de périphérie
de fonderie de Zn



Terre agricole



Terre agricole de périphérie
de fonderie de Pb



Terre de fonderie de Pb



mesurés sur chaque individu. La matière sèche produite par pot a été broyée dans un broyeur à mortier en agate, homogénéisée, minéralisée suivant le protocole décrit au Chapitre 2 et analysée par ICP. Les minéralomasses métalliques aériennes et les coefficients de transfert de Cd, Ni, Pb et Zn ont été calculées.

2.2. Production de biomasse

T. caerulescens s'est installé et développé sur tous les matériaux étudiés sauf sur la boue d'épuration urbaine mais la production de matière sèche par plante variait suivant le matériau (Tableau 18, Photographie 7). La plus forte quantité de matière sèche a été produite sur la terre agricole amendée avec une boue d'épuration et sur la terre du sol de périphérie de fonderie de Zn. Les plus faibles ont été obtenues sur les sols pollués par le Pb.

2.3. Morphologie des parties aériennes

Les plantes présentaient un diamètre compris entre 7 et 15 cm. Le nombre de feuilles variait de 18 à 49. Les valeurs de ces paramètres étaient systématiquement les plus élevées pour les plantes ayant poussé sur la terre agricole amendée par la boue urbaine. Chacun de ces paramètres était corrélé avec la production de biomasse et représentait par conséquent un indicateur non destructif du rendement de la plante.

Tableau 18. Caractéristiques morphologiques de *T. caerulescens* cultivé sur différents matériaux (90 jours après germination)

| matériaux | matière sèche | longueur de la plus grande feuille | surface de la plus grande feuille | nombre de feuilles | diamètre de la plante |
|---------------------------------|------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------|
| | g plante ⁻¹ | cm | mm ² | | cm |
| terre agricole | 0,35 ± 0,19 | 5,3 ± 0,8 | 277 ± 68 | 28 ± 8 | 9,3 ± 1,1 |
| terre agricole + boue | 0,58 ± 0,06 | 7,8 ± 0,6 | 390 ± 31 | 49 ± 1 | 14,5 ± 1,1 |
| boue de curage de rivière | 0,32 ± 0,23 | 5,5 ± 0,4 | 260 ± 18 | 25 ± 9 | 10,1 ± 1,1 |
| terre de périph. de fond. de Pb | 0,17 ± 0,02 | 4,4 ± 0,2 | 195 ± 17 | 23 ± 2 | 7,8 ± 0,7 |
| terre de fonderie de Pb | 0,13 ± 0,03 | 4,5 ± 0,3 | 208 ± 25 | 18 ± 4 | 7,2 ± 1,2 |
| terre de périph. de fond. de Zn | 0,55 ± 0,37 | 5,6 ± 1,4 | 327 ± 107 | 39 ± 12 | 8,4 ± 1,9 |
| boue urbaine | 0 | - | - | - | - |

3. Métaux dans le système sol-boue-plante

3.1. Métaux dans la plante

Les teneurs des métaux dans les parties aériennes de *T. caerulescens* étaient très variables en fonction des matériaux (Tableau 19). Les teneurs du Zn et du Cd étaient les plus élevées sur les terres industrielles et la boue de curage de rivière pollués par ces métaux. Lorsque les teneurs du Pb étaient plus fortes ou les teneurs du Zn étaient plus faibles dans le matériau, la plante présentait des teneurs de Pb voire de Cd plus élevées.

Tableau 19. Concentration des métaux dans les parties aériennes de *T. caerulescens*

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|---------------------------------|-----------------------------------|------|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|
| | mg kg ⁻¹ matière sèche | | | | | | | |
| | m | SD | m | SD | m | SD | m | SD |
| terre agricole | 1,4 | 0,1 | 3,3 | 0,5 | 139 | 116 | 161 | 83 |
| terre agricole + boue | 4,0 | 0,8 | 3,2 | 0,7 | 167 | 231 | 1224 | 522 |
| boue de curage de rivière | 4,8 | 3,8 | 7,8 | 0,3 | 82 | 40 | 4001 | 219 |
| terre de périph. de fond. de Pb | 4,8 | 7,3 | 2,1 | 0,1 | 85 | 77 | 1717 | 753 |
| terre de fonderie de Pb | 51,5 | 4,2 | 10,6 | 1,7 | 1579 | 333 | 1415 | 751 |
| terre de périph. de fond. de Zn | 31,7 | 11,2 | 5,9 | 1,3 | 28 | 9 | 4517 | 540 |

SD : intervalle de confiance au seuil de 5% ; m : moyenne ; n = 12

T. caerulescens a exporté la plus forte quantité de Cd, de Ni et de Zn sur la terre du sol de périphérie de fonderie de Zn et sur la boue de curage de rivière (Tableau 20). La quantité de Ni exportée était néanmoins négligeable par rapport au Cd et au Zn.

Tableau 20. Exportations de métaux dans les parties aériennes de *T. caerulescens*

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|---------------------------------|----------------|-------|------------|------|------------|-----|-------------|-----|
| | µg. par plante | | | | | | | |
| | m | SD | m | SD | m | SD | m | SD |
| terre agricole | 0,5 | 0,04 | 1,1 | 0,05 | 52 | 39 | 55 | 18 |
| terre agricole + boue | 2,3 | 0,25 | 1,8 | 0,36 | 92 | 108 | 702 | 226 |
| boue de curage de rivière | 0,9 | 0,51 | 1,8 | 0,85 | 21 | 18 | 928 | 440 |
| terre de périph. de fond. de Pb | 0,7 | 0,88 | 0,4 | 0,15 | 17 | 19 | 269 | 55 |
| terre de fonderie de Pb | 6,5 | 2,04 | 1,3 | 0,42 | 197 | 62 | 192 | 122 |
| terre de périph. de fond. de Zn | 18,2 | 10,60 | 3,2 | 1,01 | 15 | 6 | 2430 | 618 |

SD : intervalle de confiance au seuil de 5% ; m : moyenne ; n = 12

Le coefficient de transfert (rapport de la concentration de métal dans la plante sur la concentration de métal dans le matériau) était toujours supérieur à 1 pour le Zn et pour le Cd sauf pour la boue de curage (Tableau 21). Le Pb et le Ni n'ont pas eu le même comportement. C'est en absence de Zn et de Cd sur la terre agricole que le coefficient de transfert du Pb était le plus élevé.

Tableau 21. Coefficients de transfert des métaux aux parties aériennes de *T. caerulescens*

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|---------------------------------|-------------|------|-------------|------|-------------|------|-------------|-----|
| | m | ET | m | ET | m | ET | m | ET |
| terre agricole | 19,9 | 1,2 | 0,17 | 0,03 | 10,5 | 7,7 | 4,0 | 1,8 |
| terre agricole + boue | 1,5 | 0,3 | 0,19 | 0,04 | 0,6 | 0,7 | 7,2 | 2,7 |
| boue de curage | 0,4 | 0,3 | 0,09 | 0,00 | 0,1 | 0,0 | 2,3 | 0,1 |
| terre de périph. de fond. de Pb | 28,1 | 38,0 | 1,48 | 0,11 | 0,4 | 0,3 | 142 | 55 |
| terre de fonderie de Pb | 7,3 | 0,5 | 0,52 | 0,07 | 0,04 | 0,00 | 10,8 | 5,1 |
| terre de périph. de fond. de Zn | 2,2 | 0,7 | 0,22 | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 2,8 | 0,3 |

ET : écart type n-1 ; m : moyenne ; n = 12

3.2. Evolution du pH et des teneurs des métaux extractibles des terres et des boues

Le pH des matériaux n'a pas été significativement modifié par la culture de *T. caerulescens*. La culture de *T. caerulescens* s'est systématiquement accompagnée d'une légère augmentation de pH par rapport au témoin non cultivé (Tableau 22). Cette augmentation est supérieure sur les terres acides.

Tableau 22. Evolution du pH des différents matériaux après une culture de *T. caerulescens*

| matériaux | avant culture | après culture | témoin non cultivé |
|---------------------------------------|---------------|---------------|--------------------|
| terre agricole | 5,8 | 5,95 | 5,50 |
| terre agricole + boue | 7,2 | 7,23 | 7,09 |
| boue de curage | 7,7 | 7,31 | 7,28 |
| terre de périphérie de fonderie de Pb | 4,9 | 5,37 | 4,76 |
| terre de fonderie de Pb | 5,5 | 5,85 | 5,73 |
| terre de périphérie de fonderie de Zn | 5,8 | 5,97 | 5,62 |

Les extractions chimiques ont été réalisées avant et après culture de *T. caerulescens* afin de déterminer l'évolution de la mobilité des métaux dans les différents matériaux (Tableau 23). Les terres de fonderie de Zn et de Pb contiennent les plus grandes quantités de métaux extractibles à l'eau. Cd, Pb et Zn sont particulièrement solubles dans l'eau dans la terre de fonderie de Pb.

L'extraction au nitrate d'ammonium confirme ces observations. Les quantités extraites par ce réactif sont toujours supérieures à celles solubles dans l'eau.

Tableau 23. Teneurs des métaux extractibles à l'eau et au nitrate d'ammonium dans les matériaux (mg kg^{-1} sol sec)
(a) : métal extractible à l'eau ; (b) : métal extractible au nitrate d'ammonium

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|------------------------------------|-----------------------------|------|------|------|-------|------|------|------|
| | mg kg^{-1} sol sec | | | | | | | |
| | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) |
| terre agricole | 0,02 | 0,15 | 1,33 | 0,42 | 0,22 | 2,12 | 0,25 | 0,47 |
| terre agricole + boue | 0,03 | 0,20 | 0,18 | 0,45 | 0,46 | 2,12 | 0,33 | 0,48 |
| boue de curage | 0,13 | 0,35 | 0,63 | 1,77 | 1,65 | 4,30 | 0,70 | 3,12 |
| terre de périph. de fonderie de Pb | 0,01 | 0,00 | 0,03 | 0,00 | 0,56 | 12,2 | 0,20 | 4,47 |
| terre de fonderie de Pb | 0,20 | 0,73 | 0,27 | 0,98 | 40,95 | 1199 | 4,66 | 14,5 |
| terre de périph. de fonderie de Zn | 0,09 | 3,82 | 0,14 | 2,22 | 1,17 | 15,5 | 7,11 | 442 |

Existe-t-il une relation entre les teneurs initiales des métaux des supports de cultures et les teneurs des métaux des plantes ? Les figures 11 et 12 permettent de comparer les teneurs de métaux extraits du sol avant culture à celles analysées dans les parties aériennes de *T. caerulescens*. Après des régressions linéaires, nous mettons en évidence des tendances de corrélation "sol-plante" plus forte dans le cas d'une extraction au nitrate d'ammonium qu'à l'eau. Ces résultats devront être confirmés par des analyses sur des systèmes sol-plante complémentaires.

Figure 11. Teneurs du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* en fonction de la teneur du Zn du sol extractible à l'eau ou au nitrate d'ammonium avant culture

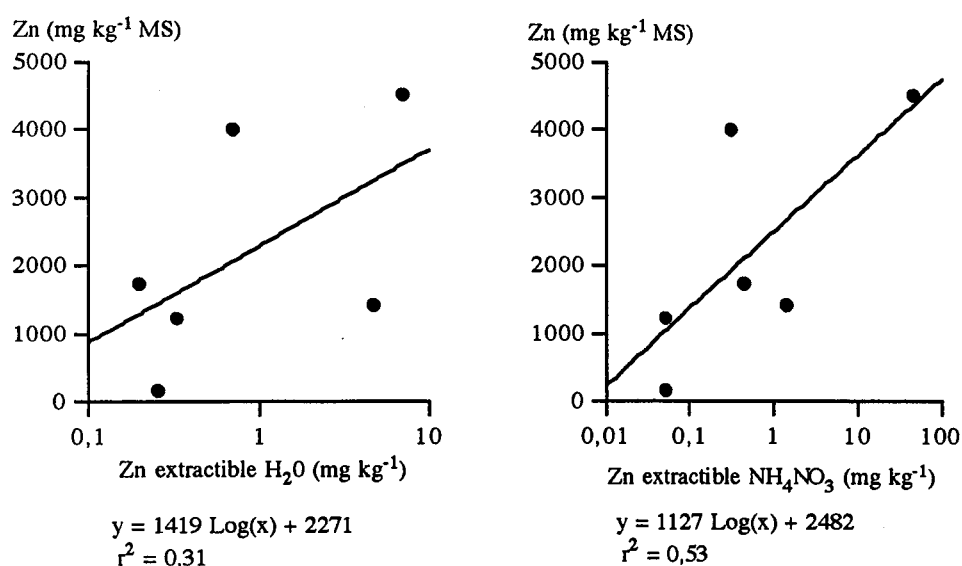
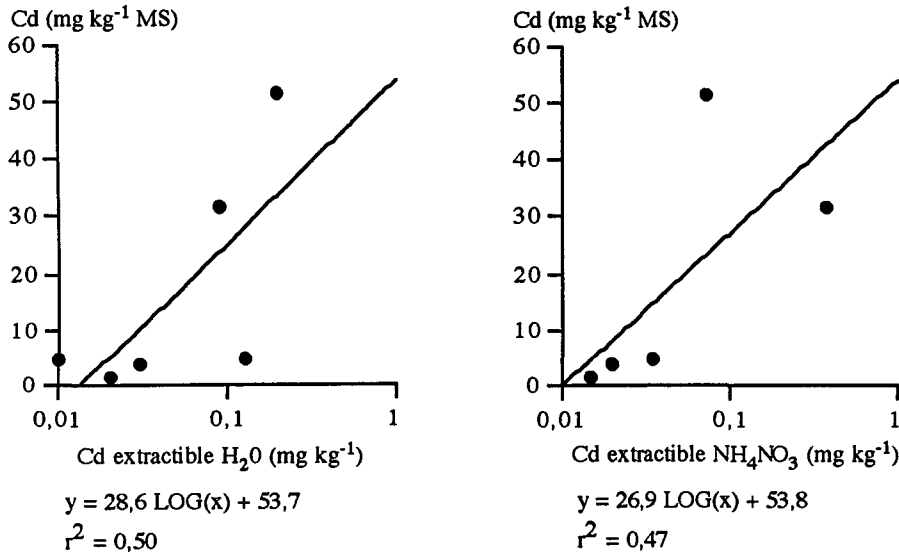


Figure 12. Teneurs du Cd dans les parties aériennes de *T. caerulescens* en fonction de la teneur du Cd du sol extractible à l'eau ou au nitrate d'ammonium avant culture



La fraction extractible à l'eau des métaux du sol est diminuée par une culture de *T. caerulescens* pour tous les matériaux exceptés la boue de curage de rivière et la terre agricole de périphérie de fonderie de Zn (Tableau 24). La fraction des métaux des terres extractible au nitrate d'ammonium est diminuée par une culture de *T. caerulescens*, pour tous les matériaux exceptée la boue de curage de rivière (Tableau 25).

Tableau 24. Teneurs des métaux extractibles à l'eau après une culture de *T. caerulescens* (90 jours après germination) ; (a) : avant culture ; (b) : après culture

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|---------------------------------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|
| | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) |
| terre agricole | 0,02 | 0,01<< | 1,33 | 0,09<< | 0,22 | 0,22 | 0,25 | 0,19< |
| terre agricole + boue | 0,03 | 0,01<< | 0,18 | 0,08<< | 0,46 | 0,21<< | 0,33 | 0,25< |
| boue de curage | 0,13 | 0,16> | 0,63 | 0,55< | 1,65 | 1,89> | 0,70 | 2,58> |
| terre de périph. de fond. de Pb | 0,01 | 0 << | 0,03 | 0,02<< | 0,56 | 0,31< | 0,20 | 0,09<< |
| terre de fonderie de Pb | 0,20 | 0,10< | 0,27 | 0,10<< | 41,0 | 17<< | 4,66 | 1,20<< |
| terre de périph. de fond. de Zn | 0,09 | 0,20> | 0,14 | 0,22> | 1,17 | 5,55> | 7,11 | 28,5> |

<< : diminution de la teneur du métal extractible à l'eau supérieure à 50 %
 < : diminution de la teneur du métal extractible à l'eau entre 0 et 50 %
 > : augmentation de la teneur du métal extractible à l'eau

Tableau 25. Teneurs des métaux extractibles au nitrate d'ammonium après une culture de *T. caerulescens* (90 jours après germination) ; (a) : avant culture ; (b) : après culture

| matériaux | Cd | | Ni | | Pb | | Zn | |
|---------------------------------|-----------------------------|-------|------|-------|------|-------|------|--------|
| | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) | (a) | (b) |
| | mg kg ⁻¹ sol sec | | | | | | | |
| terre agricole | 0,15 | 0,15 | 0,42 | 0,47> | 2,12 | 1,95< | 0,47 | 0,32< |
| terre agricole + boue | 0,20 | 0,13< | 0,45 | 0,27< | 2,12 | 1,55< | 0,47 | 0,32< |
| boue de curage | 0,35 | 0,47> | 1,77 | 1,32< | 4,30 | 5,10> | 3,12 | 7,66> |
| terre de périph. de fond. de Pb | 0,00 | - | 0,00 | - | 12,2 | 6,79< | 4,47 | 3,44< |
| terre de fonderie de Pb | 0,73 | 0,55< | 0,98 | 0,37< | 1199 | 856< | 14,5 | 6,85<< |
| terre de périph. de fond. de Zn | 3,82 | 3,45< | 2,22 | 2,10< | 15,5 | 11,3< | 442 | 362< |

<< : diminution de la teneur du métal extractible au nitrate d'ammonium supérieure à 50 %

< : diminution de la teneur du métal extractible au nitrate d'ammonium entre 0 et 50 %

> : augmentation de la teneur du métal extractible au nitrate d'ammonium

L'application du test MetPLATE a permis de déterminer la toxicité des sols due aux métaux lourds présents sous forme directement assimilable. Les résultats montrent une inhibition relativement élevée avec la terre agricole. Une autre terre agricole ayant reçu des boues ne montre pas d'augmentation de l'inhibition. Avec la boue de curage et les terres sous influence industrielle l'inhibition est quasi totale indiquant la présence d'une forte quantité de métaux sous forme assimilable (Tableau 26). Ces résultats sont tout à fait en accord avec ceux des extractions chimiques. L'application du test a été faite également après culture de *T. caerulescens*. Aucune modification significative de la réponse n'a été observée.

Tableau 26. Réponse des différents matériaux au test de toxicité MetPLATE

| matériaux | Avant % inhibition | Après % inhibition |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| terre agricole | 63 | - |
| terre agricole + boue | 55 | 61 |
| boue de curage | 97 | 99 |
| terre de périph. de fonderie de Pb | 81 | - |
| terre de fonderie de Pb | 88 | 89 |
| terre de périph. de fonderie de Zn | 94 | 95 |

3.3. Discussion

L'essai en vases de végétation d'une durée de 90 jours visait à déterminer l'aptitude de la plante hyperaccumulatrice *T. caerulescens* à extraire Cd, Ni, Pb et Zn sur différents matériaux comme des terres agricoles, une boue d'épuration urbaine, une boue de curage de rivière, une terre prélevée sur un sol de friche industrielle et des terres agricoles en périphérie d'industrie. La production de biomasse et le transfert des métaux vers la plante étaient différentes d'un individu à l'autre, probablement en raison d'une forte variabilité génétique. L'hyperaccumulateur s'implante donc sur des matériaux très différents de son support d'origine. Néanmoins, l'hyperaccumulateur *T. caerulescens* ne s'est pas implanté sur la boue d'épuration urbaine en raison de conditions physiques asphyxiantes et d'une probable toxicité ammoniacale. Sur les autres matériaux, la production de biomasse par l'hyperaccumulateur varie fortement et l'extraction des métaux et leur stockage dans les parties aériennes dépend du niveau de métal total dans le sol et de sa biodisponibilité. *T. caerulescens* a concentré le Zn et également le Cd dans ses parties aériennes sur tous les matériaux. Pour le Ni et le Pb, ces facteurs de transfert étaient inférieurs à 1. *Thlaspi* répond mieux à la présence de Zn qu'à celle de Pb en ce qui concerne la production de biomasse. Il a cependant été noté qu'en absence, ou quasi absence de Zn, métal hyperaccumulé par cette espèce, le Cd voire le Pb offrent des concentrations relativement élevées dans les tissus. La teneur de Pb la plus élevée relevée dans une plante est de 8 200 mg kg⁻¹ (Reeves & Brooks, 1983). Dans notre cas cette teneur atteint 1 580 mg kg⁻¹ dans *T. caerulescens* sur un sol de fonderie de Pb pauvre en Zn. L'absence de Zn ou une faible teneur de Zn biodisponible entraînerait un accroissement de l'extraction de Pb par *T. caerulescens*. Il y a un abaissement des fractions des métaux extractibles à l'eau et au nitrate d'ammonium par *T. caerulescens*. Pour la boue de curage, l'augmentation de la mobilité des métaux peut être induite par le passage de conditions réductrices à des conditions oxydantes lors du séchage et avant la culture (Bourg *et al.*, 1992 ; Calmano *et al.*, 1993). Enfin, des paramètres morphologiques non destructifs comme le diamètre de la rosette, la longueur de la plus grande feuille ou la surface de la plus grande feuille permettent d'estimer la biomasse.

Chapitre 4

Réponse de *Thlaspi caerulescens* à la fertilisation et à la présence de plantes compagnes

La faible production de biomasse aérienne et la croissance lente des plantes hyperaccumulatrices constitue un handicap au développement de la phytoextraction (Kumar *et al.*, 1994 ; Cunningham *et al.*, 1995a et b). La recherche agronomique a montré que la sélection végétale et la fertilisation peuvent améliorer les rendements et la qualité des récoltes. Dans cette partie du travail, nous nous proposons d'étudier l'effet de la fertilisation N et P sur la production de biomasse de *T. caerulescens* et sur la phytoextraction de Zn et Cd. Dans le chapitre précédent nous avons mis en évidence une très large variabilité de réponse des individus provenant d'un même site, tant au niveau production de biomasse que prélèvement des métaux. Afin d'examiner si cette variabilité concerne aussi des individus provenant de sites différents, nous avons utilisé deux origines ou populations de *T. caerulescens*, Prayon, d'une part, et Viviez, d'autre part. Enfin, l'association de *T. caerulescens* avec des plantes cultivées et un hyperaccumulateur de Ni *Alyssum murale* a été étudiée dans l'optique de tester l'influence de cultures mixtes sur la phytoextraction.

1. Fertilisation azotée

L'azote est l'un des éléments essentiels à la formation des protéines et le principal facteur de rendement (Guiraud, 1984). Une faible fertilité azotée limite aussi l'installation des plantes et leur tolérance aux métaux (Menezes de Sequeira, 1968 ; Thompson et Proctor, 1983). De plus, l'apport d'engrais azotés pourrait favoriser l'absorption racinaire du Zn (Soltanpour, 1969 cité par Loué, 1993). Si l'azote a un effet marqué sur la croissance et si le sol présente une fourniture de Zn marginale, il peut en résulter une déficience en Zn par effet de dilution dans la biomasse produite (Loué, 1993). Les apports d'azote influent sur le pH de la rhizosphère entraînant une modification de biodisponibilité des métaux. Ainsi la forme ammoniacale induit une augmentation du prélèvement de Cd par rapport aux formes ammoniac-nitrique et nitrique (Wu *et al.*, 1989). Nous avons étudié l'effet de la forme et de la dose de la fertilisation azotée sur l'aptitude de *T. caerulescens* à accumuler les métaux sur une terre agricole polluée artificiellement par Cd-Zn et une terre agricole de périphérie de friche industrielle.

1.1. Matériel et méthodes

Les terres utilisées proviennent du sol agricole non pollué et du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn exploité en prairie. Leurs caractéristiques sont données dans le Chapitre 2 (Tableau 16). La terre du sol agricole est moins bien pourvue en azote total, en phosphore Dyer et a une CEC moins élevée que celle du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn. Cette dernière présente un fort taux d'argile. Les deux terres ont le même pH de 5,8. Les teneurs de

Cd et de Zn totales (extractibles à l'acide fluorhydrique) et échangeables (extractibles au nitrate d'ammonium) dans la terre du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn sont supérieures à celles du sol agricole pollué artificiellement. A l'inverse, les teneurs de Cd et Zn dans la solution du sol (extractibles à l'eau) sont respectivement 2 et 3 fois supérieures dans le sol agricole pollué artificiellement (Tableau 27).

Tableau 27. Teneurs de Cd et Zn dans la terre agricole polluée artificiellement et la terre agricole de périphérie de fonderie de Zn

| | métal | extraction HF | extraction NH ₄ NO ₃ | extraction H ₂ O |
|---------------------------------------|-------|---------------|--|-----------------------------|
| mg kg ⁻¹ | | | | |
| terre agricole + Cd-Zn | Cd | 5,1 | 1,6 | 0,2 |
| | Zn | 490 | 192 | 30 |
| terre de périphérie de fonderie de Zn | Cd | 14,3 | 3,84 | 0,1 |
| | Zn | 1609 | 415 | 10 |

Les plantes sont *T. caerulescens* provenant de Prayon et de Viviez. Les modalités d'obtention des semences et de conservation sont décrites dans le chapitre 2. La terre du sol agricole est polluée artificiellement par Cd (5 mg Cd kg⁻¹) et Zn (450 mg Zn kg⁻¹) incorporés sous forme de chlorure de Cd (CdCl₂) et de sulfate de Zn (ZnSO₄, 7H₂O). Elle reçoit une fertilisation K uniforme (33,3 mg K kg⁻¹ sous forme de KCl). La terre du sol de périphérie du site industriel ne reçoit pas contamination métallique artificielle. La fertilisation K est réalisée avec 33,3 mg kg⁻¹ sous forme de K₂SO₄ et un apport complémentaire de S est effectué avec du sulfate de calcium (CaSO₄, 2H₂O) afin d'atteindre la même dose de S apportée à la terre du sol agricole. La fertilisation azotée se fait sous forme ammoniacale (NH₄)₂SO₄ et sous forme nitrique (NO₃)Ca aux doses de 0 ; 20 ; 80 et 200 mg N kg⁻¹ soit 0 ; 60 ; 240 et 600 kg N ha⁻¹. L'apport est fractionné en deux apports de 10, 40, 100 mg N kg⁻¹, réalisés un jour avant et six jours après le repiquage des plantes. Les graines de *Thlaspi* sont semées sur des plaques de germination et repiquées à raison de 9 plantes par pot. Les pots sont installés dans une serre éclairée et répartis en 4 blocs suivant une répartition aléatoire. Les 4 plants de *T. caerulescens* les plus développés de chaque pot sont récoltés après 16 jours de culture. Une deuxième récolte est effectuée après 70 jours de culture.

1.2. Résultats

1.2.1. Morphologie de *T. caerulescens*

La taille des plants de *T. caerulescens* varie en fonction de la dose d'azote apportée (Figures 13 et 14). Après 16 jours de culture (encadré), les plus grands diamètres sont obtenus avec un apport de 80 mg N kg⁻¹ à la terre agricole polluée artificiellement par Cd-Zn et 20 ou 80 mg N kg⁻¹ à la terre du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn. L'effet de la fertilisation

azotée moins marqué sur la terre du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn peut s'expliquer par la différence des teneurs initiales (1,9 ‰ et 3 ‰ Nt) à laquelle a pu s'ajouter un déficit de minéralisation de l'azote du à l'apport de métaux toxiques pour la microflore dans la terre agricole.

Figure 13. Evolution du diamètre de *T. caerulescens* (Prayon) sur la terre agricole polluée artificiellement par Cd et Zn

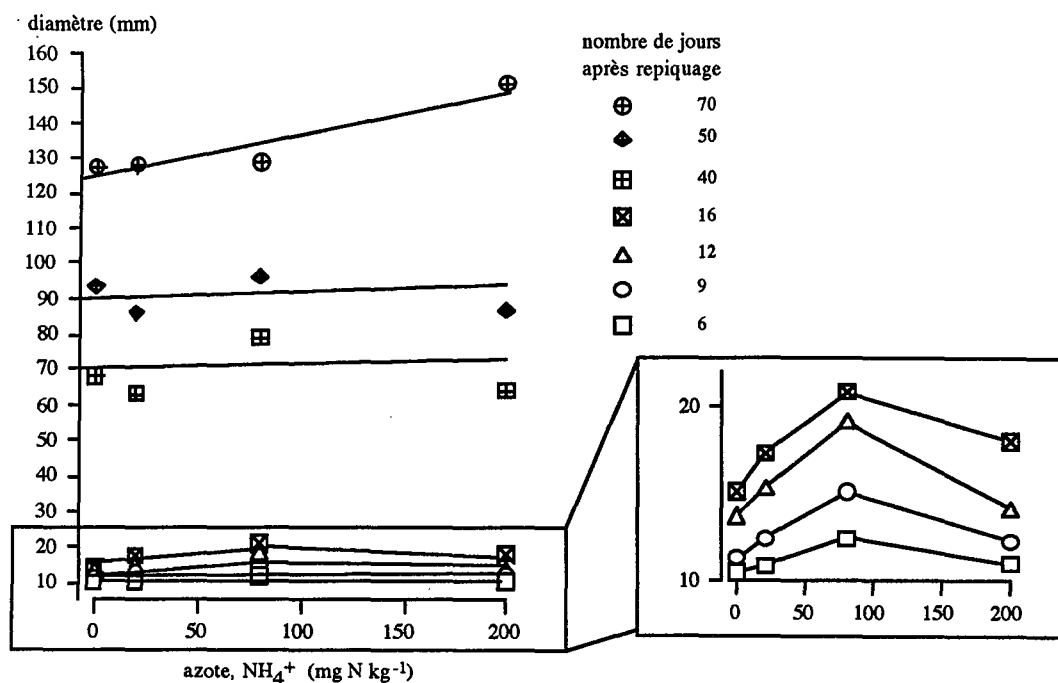
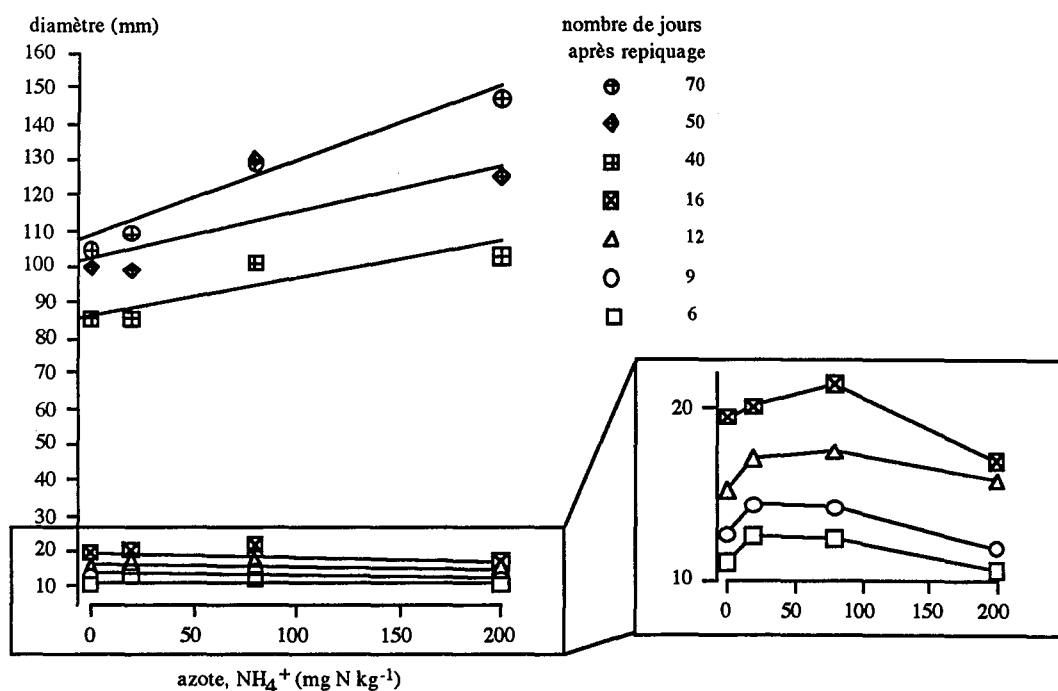


Figure 14. Evolution du diamètre de *T. caerulescens* (Prayon) sur la terre du sol de périphérie de fonderie de Zn



Néanmoins, le diamètre maximum atteint par la rosette de *T. caerulescens* est le même pour les deux sols. Après 70 jours de culture, les plantes du plus grand diamètre sont obtenues pour la dose 200 mg N kg⁻¹. La fertilisation azotée augmente aussi la longueur de la plus grande feuille (qui n'est pas toujours égale à la moitié du diamètre de la rosette), le nombre de feuilles produites et la production de biomasse totale (Tableau 28). Là aussi, pour *Thlaspi-Prayon*, cet effet est maximum à la dose de 80 mg N kg⁻¹ sur la terre du sol agricole polluée artificiellement quelle que soit la forme d'azote et, sur la terre du sol industriel, il est maximum à 20 mg N kg⁻¹ sous forme ammoniacale et 80 mg N kg⁻¹ sous forme nitrique. A la dose d'azote testée, 80 mg N kg⁻¹, il n'y a pas d'effet significatif de la fertilisation sur *Thlaspi-Viviez*. *Thlaspi-Prayon* produit plus de feuilles, des plantes plus grandes et plus de biomasse fraîche que *Thlaspi-Viviez*. Chez cette dernière, les feuilles sont aussi très différentes, présentant l'aspect de feuilles de plantes xérophiles avec une couche épaisse de cires et des indentations (Photographies 8 - 9).

Tableau 28. Caractéristiques morphologiques par *T. caerulescens* cultivé 16 jours en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique

| terre et traitement | | Longueur de la plus grande feuille (mm) | Nombre de feuilles | |
|---|---|---|--------------------|-----------------|
| terre agricole + Cd-Zn <i>T. caerulescens</i> Prayon | NH ₄ ⁺ 0 | 19,0 ± 5,0 | 8 ± 1,7 | |
| | 20 | 17,7 ± 2,9 | 8 ± 0,9 | |
| | 80 | 27,8 ± 8,2 | 11 ± 2,5 | |
| | 200 | 18,3 ± 2,4 | 8 ± 1,8 | |
| | ----- | | | |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 19,0 ± 5,0 | 8 ± 1,7 | |
| | 20 | 18,6 ± 1,2 | 10 ± 1,1 | |
| | 80 | 20,9 ± 4,1 | 10 ± 1,3 | |
| | 200 | 16,9 ± 1,3 | 8 ± 2,1 | |
| | ----- | | | |
| | terre industrielle <i>T. caerulescens</i> Prayon | NH ₄ ⁺ 0 | 20,6 ± 2,7 | 10 ± 0,6 |
| | | 20 | 21,8 ± 4,0 | 11 ± 1,9 |
| 80 | | 15,3 ± 11,5 | 8 ± 5,1 | |
| 200 | | 15,0 ± 10,4 | 7 ± 4,8 | |
| ----- | | | | |
| NO ₃ ⁻ 0 | | 20,6 ± 2,7 | 10 ± 0,6 | |
| 20 | | 22,9 ± 1,2 | 10 ± 1,2 | |
| 80 | | 24,8 ± 5,3 | 11 ± 4,6 | |
| 200 | | 18,0 ± 7,2 | 8 ± 2,5 | |
| ----- | | | | |
| terre agricole + Cd-Zn <i>T. caerulescens</i> Viviez | | NH ₄ ⁺ 0 | 15,1 ± 1,9 | 8 ± 1,3 |
| | | 80 | 16,0 ± 1,9 | 8 ± 1,7 |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 15,1 ± 1,9 | 8 ± 1,3 | |
| | 80 | 16,4 ± 2,3 | 8 ± 1,8 | |
| ----- | | | | |
| terre industrielle <i>T. caerulescens</i> Viviez | NH ₄ ⁺ 0 | 12,6 ± 8,5 | 6,9 ± 4,7 | |
| | 80 | 10,6 ± 7,1 | 5,7 ± 4,2 | |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 12,6 ± 8,5 | 6,9 ± 4,7 | |
| | 80 | 11,1 ± 7,4 | 6,3 ± 4,7 | |



Photographie 8. *Thlaspi caerulescens*
population de Viviez



Photographie 9. *Thlaspi caerulescens*
population de Prayon

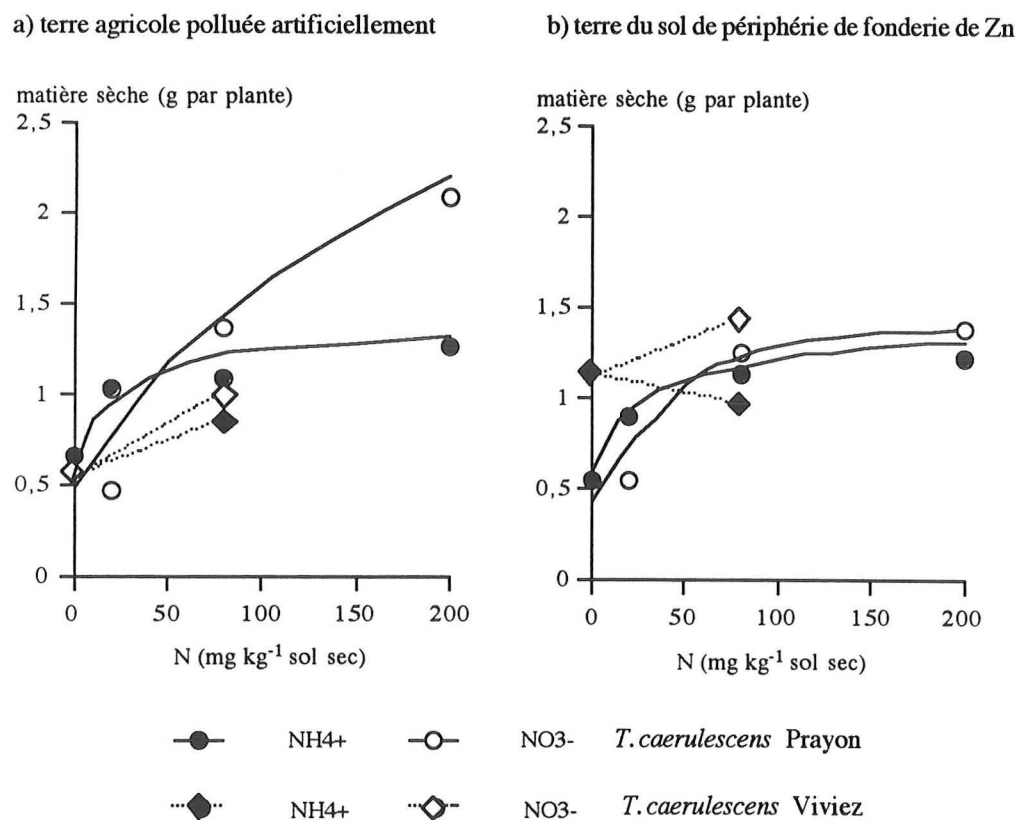
1.2.2. Production de biomasse

Il y a un effet significatif de la fertilisation azotée ammoniacale sur la production de biomasse sèche par *T. caerulescens* après 16 jours de culture (Tableau 29). Cet effet est maximum pour la dose de 80 mg N kg⁻¹ sur la terre agricole polluée artificiellement et la dose 200 mg N kg⁻¹ est restée sans effet. Par contre, sur la terre du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn, *Thlaspi-Viviez* répond négativement à l'apport de 80 mg N kg⁻¹.

Tableau 29. Production de matière sèche aérienne (mg plante⁻¹) de *T. caerulescens* cultivé 16 jours en présence d'azote ammoniacal ou nitrique

| terre et traitement | | <i>T. caerulescens</i> Viviez | <i>T. caerulescens</i> Prayon |
|------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| terre agricole + Cd-Zn | NH ₄ ⁺ 0 | 8,5 | 8,0 |
| | 80 | 10,5 | 19,5 |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 8,5 | 8,0 |
| | 80 | 9,5 | 8,8 |
| terre industrielle | NH ₄ ⁺ 0 | 11,7 | 11,1 |
| | 80 | 7,7 | 14,3 |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 11,7 | 11,1 |
| | 80 | 7,7 | 16,9 |

Figure 15. Production de matière sèche aérienne de *T. caerulescens* (Prayon) cultivé 70 jours en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique

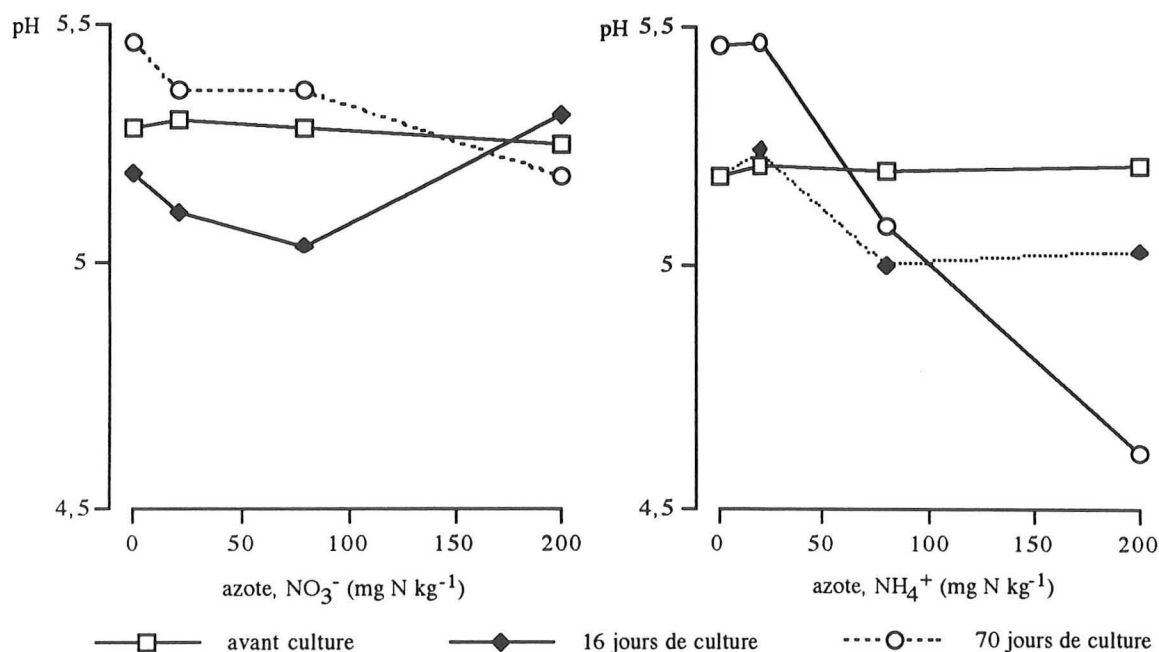


Après 70 jours de culture, l'effet significatif de la fertilisation azotée sur la production de biomasse par les deux types de *Thlaspi* est confirmé (Figure 15). Pour la terre agricole polluée artificiellement, la dose optimale est 200 mg N kg⁻¹ et pour la terre de périphérie de fonderie de Zn, la dose optimale est 80 mg N kg⁻¹. Pour les deux terres, l'azote nitrique tend à favoriser plus la production de biomasse que l'azote ammoniacal.

1.2.3. pH des sols

Il n'y a pas eu de modification significative du pH de la terre des deux sols testés durant les 16 premiers jours de culture (Figure 16). Toutefois, une légère acidification de la terre du sol agricole polluée artificiellement après apport de doses croissantes d'azote ammoniacal est observée. Après 70 jours, le pH en présence d'azote ammoniacal à la dose de 200 mg kg⁻¹ est nettement abaissé, avec des valeurs inférieures à 5. Avec les apports d'azote nitrique, aucune variation du pH n'est enregistrée. Les résultats sont similaires pour le sol de périphérie de fonderie de Zn.

Figure 16. pH de la terre polluée artificiellement par Cd et Zn après 16 et 70 jours de culture en présence d'apports croissants d'azote sous forme ammoniacale ou nitrique



1.2.4. Prélèvement des métaux par *T. caerulescens*

Les teneurs de Cd (29 mg kg⁻¹) et Zn (4 187 mg kg⁻¹) dans les jeunes plants de *T. caerulescens* cultivés 16 jours sur sols pollués avec un apport de 80 mg N kg⁻¹ sous forme nitrique (Tableau 29) sont remarquablement proches de celles (56 mg Cd kg⁻¹ et 6 900 mg Zn kg⁻¹) observées dans des plants âgés de 90 jours cultivés dans des conditions analogues (Chapitre 3). De même, sur la terre du sol agricole de périphérie de fonderie de Zn les teneurs de Cd et Zn mesurées dans *T. caerulescens* 90 jours après germination étaient respectivement de 32 et 4 517 mg kg⁻¹,

valeurs à comparer au traitement 80 mg N kg⁻¹ sous forme nitrique, respectivement 102 et 5 269 mg kg⁻¹. D'une façon générale, les teneurs de Cd de *T. caerulescens* (Viviez) sont plus élevées (près de 10 fois plus) que celles de *T. caerulescens* (Prayon) quelle que soit la dose d'azote. L'apport d'azote tend systématiquement à diminuer la teneur du Zn dans la plante.

Tableau 29. Teneurs de Zn et de Cd dans *T. caerulescens* après 16 jours de culture en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique

| Origine de <i>Thlaspi</i> | | Zn (mg kg ⁻¹ MS) | | Cd (mg kg ⁻¹ MS) | |
|---------------------------|--------------------------------|--|--|--|--|
| | | terre agricole polluée artificiellement | terre de périphérie de fonderie de Zn | terre agricole polluée artificiellement | terre de périphérie de fonderie de Zn |
| Prayon | NH ₄ ⁺ 0 | 3931 | 5008 | 57 | 80 |
| | 20 | 3896 | 4500 | 34 | 66 |
| | 80 | 3506 | 4182 | 32 | 76 |
| | 200 | 3013 | 4407 | 34 | 89 |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 3931 | 5008 | 57 | 80 |
| | 20 | 4303 | 4906 | 30 | 76 |
| | 80 | 4187 | 5269 | 29 | 102 |
| | 200 | 3595 | * | 29 | * |
| Viviez | NH ₄ ⁺ 0 | 4722 | 4889 | 302 | 436 |
| | 80 | 3963 | 5045 | 192 | 463 |
| | NO ₃ ⁻ 0 | 4722 | 4889 | 302 | 436 |
| | 80 | 4279 | 4203 | 272 | 457 |

* donnée manquante

Après 70 jours de culture, les teneurs de métaux sont également déprimées par les apports d'azote (Figure 17). Cette diminution est significative sur la terre du sol agricole polluée artificiellement mais n'est pas vérifiée sur la terre du sol de périphérie de fonderie de Zn initialement mieux pourvue en azote. Il y a un effet de la fertilisation azotée sur la teneur de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens*. La baisse de la teneur de Zn avec des doses croissantes d'azote nitrique ou ammoniacal est plus marquée sur sol agricole pollué artificiellement que sur sol agricole de périphérie de fonderie de Zn. Il y a trois fois plus de Zn extractible à l'eau dans le sol agricole pollué par Cd-Zn que dans le sol agricole de périphérie de fonderie de Zn. Cette baisse des teneurs de Zn peut s'expliquer par une dilution du métal dans la biomasse plus importante produite aux fortes doses d'azote.

Contrairement au Zn, les teneurs de Cd dans les parties aériennes de *T. caerulescens* augmentent avec des apports croissants d'azote au sol (Figure 18). Les teneurs de Cd dans la plante sont plus élevées sur la terre de périphérie de fonderie de Zn que sur la terre agricole polluée artificiellement. Cet effet n'est pas significatif et n'exprime qu'une tendance.

Figure 17. Teneurs de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* après 70 jours de culture en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique

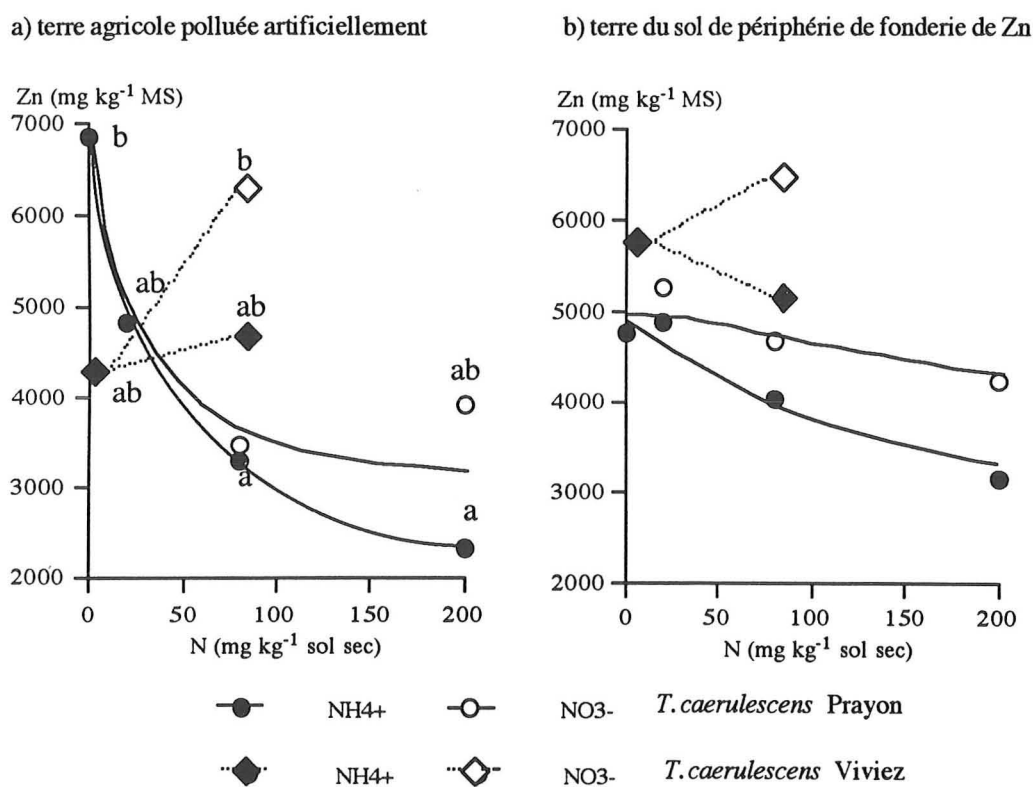
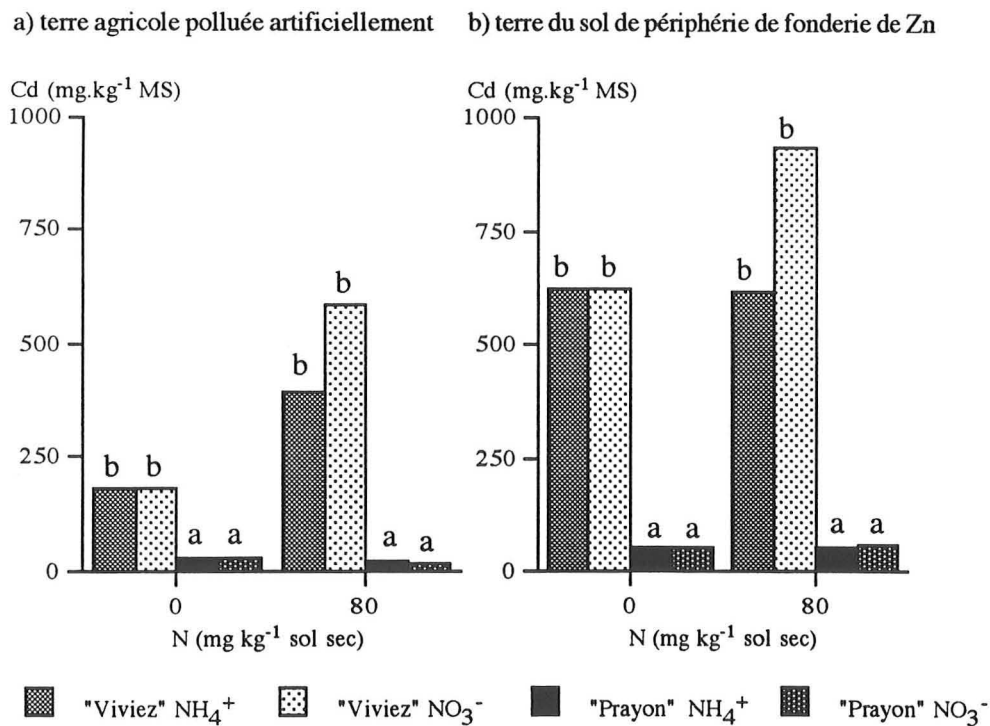


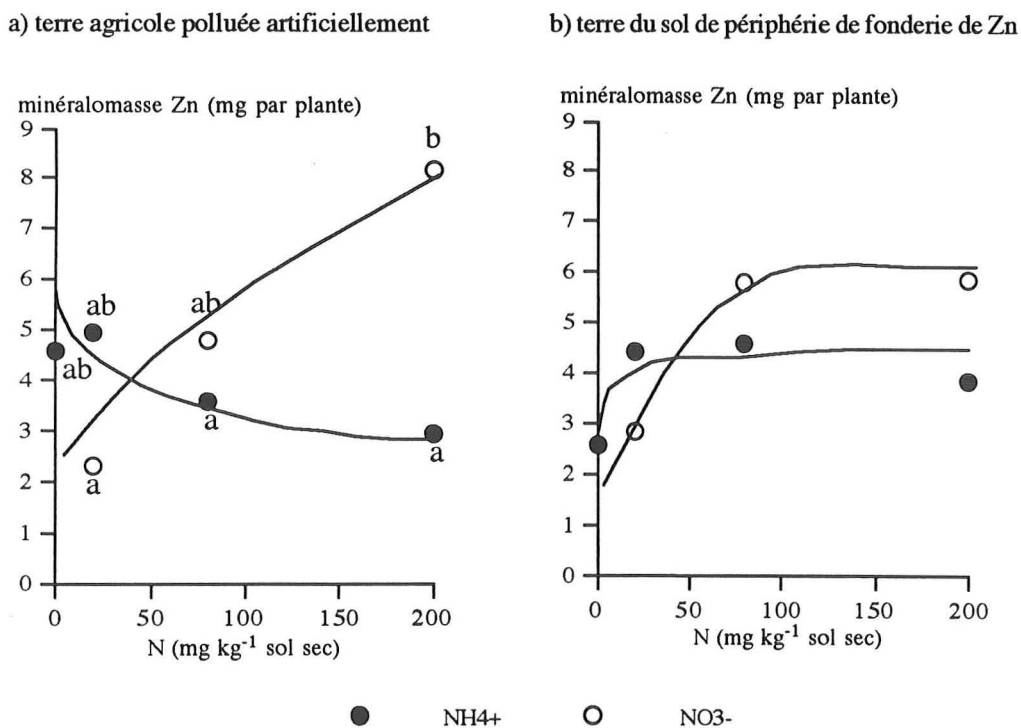
Figure 18. Teneurs de Cd dans les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon et Viviez) cultivés 70 jours sur la terre agricole polluée artificiellement par Cd et Zn en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique



Les teneurs de Cd de *T. caerulescens* Viviez sont plus élevées que celles de *T. caerulescens* Prayon quel que soit le traitement. Sur la terre de périphérie de fonderie de Zn et sur terre agricole polluée artificiellement, ces teneurs sont respectivement en moyenne 13 fois et 16 fois plus élevées pour *T. caerulescens* Viviez que pour *T. caerulescens* Prayon. Les valeurs limites de toxicité de Cd pour l'épinard, le pois, la carotte ou le radis sont respectivement de 13, 6, 15 et 30 mg kg⁻¹ de matière sèche (Singh & Nayyar, 1990). Ces valeurs sont en moyenne 60 fois plus faibles que les teneurs mesurées dans la matière sèche aérienne de *T. caerulescens* Viviez.

Il y a un effet de la fertilisation azotée sur la minéralomasse (Figure 19). Dans le cas de Cd et de Zn, la dose d'azote qui maximise la minéralomasse sur la terre agricole polluée artificiellement est 80 mg N kg⁻¹ sous forme ammoniacale. La dose d'azote qui maximise la minéralomasse du Cd et du Zn sur la terre de périphérie de fonderie de Zn est 80 mg N kg⁻¹ sous forme nitrique. Pour *T. caerulescens* (Viviez) les facteurs de transfert du Cd sont de 2 à 8 fois plus élevés que pour *T. caerulescens* (Prayon). Pour Zn, les facteurs de transfert sont supérieurs sur la terre agricole polluée artificiellement que sur la terre agricole de périphérie de friche industrielle quel que soit le traitement.

Figure 19. Exportations du Zn par les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon) cultivé 70 jours sur la terre agricole polluée artificiellement par Cd et Zn en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique



Après 70 jours de culture, la production de biomasse par *T. caerulescens* répond à la fertilisation azotée. La dose la plus forte soit 200 mg N kg⁻¹, permet la production de biomasse la plus élevée. Néanmoins, le calcul de la minéralomasse fait intervenir la teneur du métal dans la plante

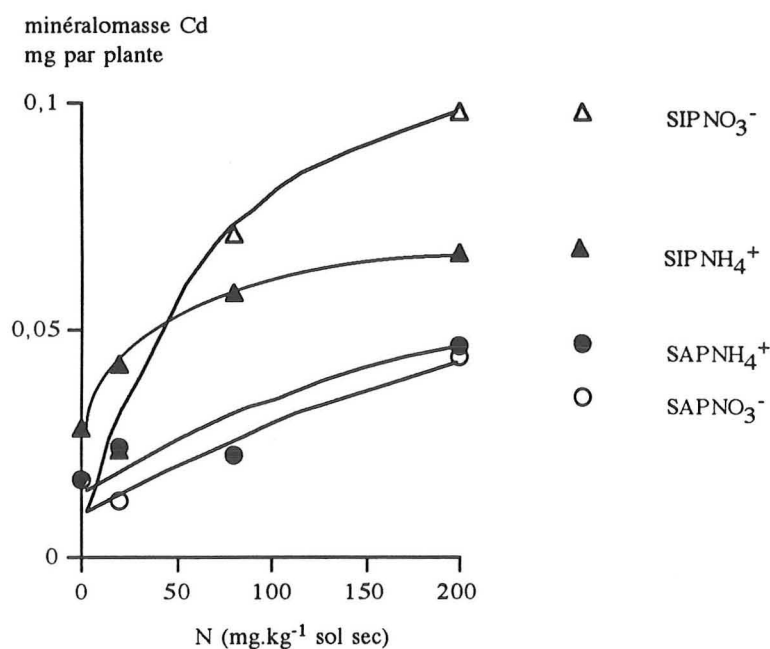
qui ne suit pas toujours la même évolution que la biomasse. L'optimum d'extraction de Zn par *T. caerulescens* en fonction du type de sol et de la forme d'azote est donné par le tableau 30.

Tableau 30. Doses d'azote optimales pour l'extraction de Zn par *T. caerulescens* cultivé 70 jours sur la terre agricole polluée artificiellement par Cd-Zn et sur la terre agricole de périphérie de fonderie de Zn

| terres | Forme d'apport d'azote | |
|--|-----------------------------|--------------|
| | N nitrique | N ammoniacal |
| | mg kg ⁻¹ sol sec | |
| terre agricole polluée artificiellement | 200 | 20 |
| terre agricole de périphérie de fonderie de Zn | 80 | 80 |

Les quantités de Cd extraites augmentent avec des apports croissants d'azote quels que soient sa forme et le type de sol (Figure 20).

Figure 20. Exportations de Cd par les parties aériennes de *T. caerulescens* cultivé 70 jours sur la terre agricole polluée artificiellement par Cd-Zn (SAP) et sur la terre agricole de périphérie de fonderie de Zn (SIP) en présence d'apports croissants d'azote ammoniacal ou nitrique



1.3. Discussion

La production de biomasse par *T. caerulescens* répond à la fertilisation azotée. Les courbes de réponse à l'azote présentent une allure classique avec un maximum de biomasse obtenu avec la dose d'azote la plus forte, soit 200 mg N kg⁻¹. Toutefois, à un stade plus précoce, c'est avec une dose inférieure que la production de biomasse est la plus élevée (80 mg N kg⁻¹). Dans nos conditions, l'apport d'azote ammoniacal s'est traduit par une production inférieure à celle

obtenue avec l'azote nitrique. *T. caerulescens* valoriserait mieux le nitrate que l'ammonium, comme les autres espèces (Recous, 1988). Il est possible aussi que la plus faible biomasse en présence de la forme ammoniacale soit liée à des phénomènes de toxicité, soit directement ammoniacale, comme dans le cas du maïs, intervenant surtout dans les premiers temps de la culture, soit aluminique en raison de la réduction du pH à une valeur inférieure à 5. De plus, les deux origines de *Thlaspi* testées, Prayon en Belgique et Viviez dans le sud de la France, présentent non seulement des morphologies différentes mais aussi des réponses très contrastées aux apports d'azote. Les différences entre ces deux types paraissent supérieures à celles relevées à l'intérieur d'une même population (Prayon).

La teneur des métaux dans *Thlaspi* est aussi étroitement dépendante de la fertilisation azotée avec, là aussi, une différence considérable de réponse entre les deux origines. La teneur du Zn dans *Thlaspi*-Prayon baisse fortement lorsque la dose d'azote augmente, en relation avec l'effet de dilution, lié à une production de matière sèche plus importante. Avec la forme ammoniacale, la teneur du Zn dans la plante est plus faible qu'avec la forme nitrique ; dans ce cas, l'abaissement du pH a peut-être favorisé l'apparition d'aluminium échangeable et aussi d'autres ions qui ont pu entrer en compétition avec le Zn pour l'absorption racinaire. Dans le cas de *Thlaspi*-Viviez, la teneur du Zn tend à augmenter avec l'apport d'azote sous forme nitrique mais l'apport d'ammonium ne se traduit pas par une modification de la teneur du Zn. La teneur du Cd, au contraire, tend à être augmentée par les apports d'azote, en particulier avec la forme nitrique. Présentant pourtant un comportement très voisin dans le système sol-plante, les deux éléments produisent ici une réponse opposée. Enfin, *Thlaspi*-Viviez accumule près de dix fois plus de Cd que *Thlaspi*-Prayon.

Les minéralomasses de Cd et Zn sont augmentées par les apports d'azote, avec un plus fort effet de la forme nitrique. Sur le plan pratique, la dose d'azote optimale donnant la plus forte production de biomasse et la teneur de métaux dans les parties aériennes la plus élevée est, dans la majorité des cas, 80 mg N kg⁻¹ soit 240 kg N ha⁻¹ fractionnés en deux apports de 120 kg ha⁻¹. Dans le cas du Cd, au contraire, c'est la dose maximale testée 200 mg N kg⁻¹ qui produit le maximum de biomasse et, par conséquent maximise l'extraction. La dose qui maximise la minéralomasse du Zn sur la terre agricole de périphérie de fonderie de Zn est 80 mg N kg⁻¹. Les doses qui maximisent la minéralomasse du Zn sur la terre agricole polluée artificiellement sont 200 mg N ammoniacal kg⁻¹ et 200 mg N nitrique kg⁻¹. Si la fertilisation peut être raisonnée en fonction des objectifs d'extraction des métaux, il convient que les doses d'azote soient compatibles avec les règles de bonnes pratiques agricoles. Comme pour la production agricole, la dynamique de l'azote apparaît donc essentielle et les processus de transformation de l'azote dans les sols industriels pollués par les métaux mériteraient une attention toute particulière (Yevdokimova, 1994).

1.4. Conclusion

L'apport d'azote favorise la production de biomasse par *T. caerulescens* mais il peut aussi déprimer fortement la teneur du Zn dans la plante. Par contre, l'augmentation du prélèvement du Cd avec les apports d'azote constitue un résultat essentiel dans une perspective de mise en oeuvre de la phytoextraction. Enfin, il existe des différences très importantes de comportement des hyperaccumulateurs en fonction de leur origine.

2. Fertilisation phosphatée

Le P est un facteur essentiel de rendement et de qualité du végétal (Fardeau, 1981). Il contribue aussi à la modification de la toxicité des métaux (Wu, 1989 ; Li-Ming & Ru-Kun, 1991). Il interagit avec de nombreux oligo-éléments au niveau de l'absorption racinaire et son excès diminue le prélèvement de Cu, Mn et Zn chez de nombreuses espèces cultivées (Touchton *et al.*, 1980 ; Neilsen, 1992 ; Bugbee et Frink, 1995 ; James *et al.*, 1995). La diminution n'est pas seulement un effet de dilution dans la biomasse supplémentaire produite mais le résultat de processus liés à des compétitions entre éléments pour l'absorption dont les mécanismes sont encore mal connus. A l'inverse, lorsque le P est présent en faible concentration dans le sol ou sous des formes peu solubles, certaines espèces, e.g. *Brassica napus*, *Lupinus albus*, ont la capacité de l'acquérir par le biais de processus faisant intervenir des changements morphologiques et/ou une augmentation de l'exsudation de composés acides et complexants (Dinkelaker *et al.*, 1989 ; Gardner & Parbery, 1981). Généralement les plantes hyperaccumulatrices de métaux sont endémiques de sols peu pourvus en éléments nutritifs comme les sols de serpentines (Menezes de Sequeira, 1968 ; Proctor, 1971a) ou des sols industriels (Smith & Bradshaw, 1979). Pour s'adapter à ces milieux elles ont probablement développé des stratégies leur permettant de survivre avec de faibles niveaux de P dans leurs tissus ou, au contraire, mis en place des mécanismes rhizosphériques d'acquisition du P du sol. Chez les hyperaccumulateurs comme *T. caerulescens*, le P jouerait un rôle essentiel dans la détoxification du Zn par la formation de cristaux de phytate de Zn de la même manière que chez *Deschampsia caespitosa* (Vázquez *et al.*, 1994). La réponse des plantes hyperaccumulatrices à la fertilisation P n'ayant pas fait l'objet de travaux jusqu'à présent, nous avons conduit une expérience visant à étudier l'influence de la fertilisation phosphatée sur le développement de *T. caerulescens*, membre de la famille des *Brassicaceae*, ainsi que l'extraction et la mobilité des métaux du sol.

2.1. Matériel et méthodes

La terre utilisée pour cette expérimentation en vases de végétation est issue de l'horizon de surface du sol brun sur colluvions limono-sableux (Chapitre 2, Figure 4). Les plantes cultivées sont *T. caerulescens* (Prayon) et *B. napus* var. Triton (colza de printemps). La terre agricole a été polluée artificiellement par Cd (5 mg kg^{-1}) et par Zn (450 mg kg^{-1}) incorporés sous forme de nitrate de Cd et de sulfate de Zn. Les pots contenant 1 kg de terre ont été disposés en 5 blocs suivant une répartition aléatoire. Les terres ont reçu une fertilisation uniforme 25 jours avant le repiquage des plantes (N : $33,3 \text{ mg kg}^{-1}$ sous forme ammoniacale NH_4NO_3 ; K : $33,3 \text{ mg kg}^{-1}$ sous forme KNO_3). La fertilisation N a été fractionnée. Un second apport de $33,3 \text{ mg N kg}^{-1}$ sous forme nitrique (KNO_3) a eu lieu 65 jours après germination. Les doses de P ajoutées, notées P0, P1, P2, P3 et P4, ont été 0; 0,1; 1; 10 et 100 mg kg^{-1} sous forme de KH_2PO_4 , correspondant respectivement à 0 ; 0,3 ; 3 ; 30 et 300 kg P ha^{-1} . Les graines ont été semées sur des plaques de germination et les plantules repiquées 19 jours après germination à raison de 3 plantes par pot pour *T. caerulescens* et 1 plante par pot pour le colza. Le plant de *T. caerulescens* le plus développé de chaque pot a été récolté 90 jours après germination. Le deuxième plant le plus développé a été récolté 120 jours après germination. Le colza est récolté à maturité, soit 135 jours après germination. Les racines présentant un chevelu dense et fin n'ont pas pu être extraites des sols. Parallèlement, la même expérimentation est menée sans pollution artificielle par Cd/Zn.

2.2. Résultats

L'essai en vases de végétation d'une durée de 135 jours visait à étudier le développement de l'hyperaccumulateur *T. caerulescens* et l'extraction des métaux d'une terre agricole en fonction d'apports croissants de P. La terre a été polluée artificiellement par des sels métalliques de Zn (450 mg kg^{-1}) et de Cd (5 mg kg^{-1}) et a reçu des apports croissants de P.

2.2.1. Caractéristiques morphologiques de *T. caerulescens*

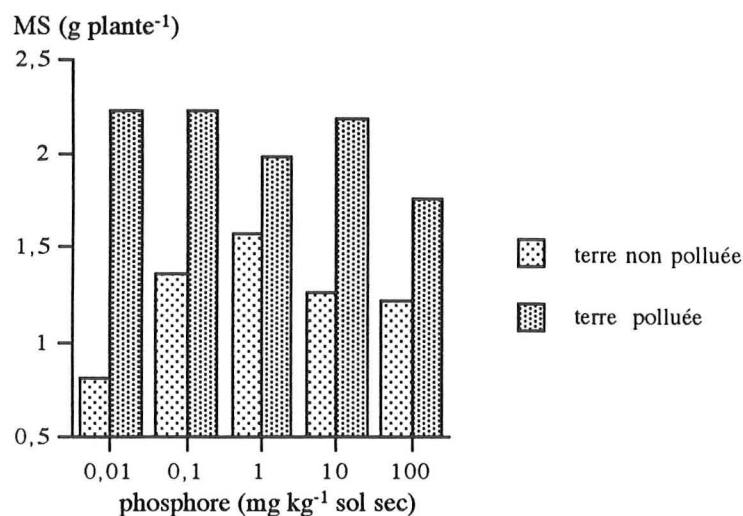
Aucun effet phytotoxique des métaux ajoutés n'a été observé sur *T. caerulescens* et la plante s'est développée normalement quel que soit le traitement. Des symptômes de toxicité du Cd et du Zn ont été observés sur le colza pris comme plante témoin. Les caractéristiques morphologiques de *T. caerulescens* après 120 jours de culture présentent des valeurs plus élevées en présence qu'en absence de métaux (Tableau 31). Les apports de P sont restés sans effet significatif sur les paramètres descriptifs de la morphologie de la plante et dont les valeurs sont corrélées avec la production de biomasse (Chapitre 3). Toutefois, une légère diminution des valeurs peut être enregistrée avec les doses croissantes de P. Sur la terre amendée en Zn et Cd, les valeurs sont significativement et systématiquement supérieures à celles obtenues sur la terre témoin non polluée.

Tableau 31. Caractéristiques morphologiques de *T. caerulescens* après 120 j

| Apport de P mg kg ⁻¹ | longueur de la plus grande feuille | | surface de la plus grande feuille | | nombre de feuilles | |
|------------------------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|--------------------|----------------|
| | Terre polluée | T. non polluée | Terre polluée | T. non polluée | Terre polluée | T. non polluée |
| 0 | 11,4 ± 1,6 | 8,4 ± 2,6 | 908 ± 156 | 526 ± 232 | 129 ± 22 | 52 ± 32 |
| 0,1 | 11,5 ± 1,1 | 8,9 ± 0,7 | 980 ± 187 | 510 ± 119 | 118 ± 16 | 107 ± 43 |
| 1 | 10,8 ± 1,5 | 9,5 ± 2,0 | 883 ± 171 | 693 ± 186 | 108 ± 25 | 104 ± 61 |
| 10 | 10,7 ± 2,6 | 9,4 ± 1,6 | 753 ± 287 | 534 ± 174 | 116 ± 59 | 105 ± 46 |
| 100 | 8,5 ± 4,2 | 8,7 ± 2,2 | 808 ± 254 | 556 ± 269 | 110 ± 47 | 85 ± 48 |

2.2.2. Production de biomasse de *T. caerulescens*

La production de biomasse a également bénéficié des apports de Zn et Cd (Figure 21). L'augmentation est très importante puisqu'elle peut être multipliée par 4 en fonction du traitement. L'apport de P n'a d'effet que dans le cas de la terre non polluée où une courbe de réponse classique est obtenue avec le plateau atteint dès le traitement P1. Dans le cas de la terre polluée, une tendance à la diminution de biomasse est observée.

Figure 21. Production de matière sèche aérienne de *T. caerulescens* après 120 j


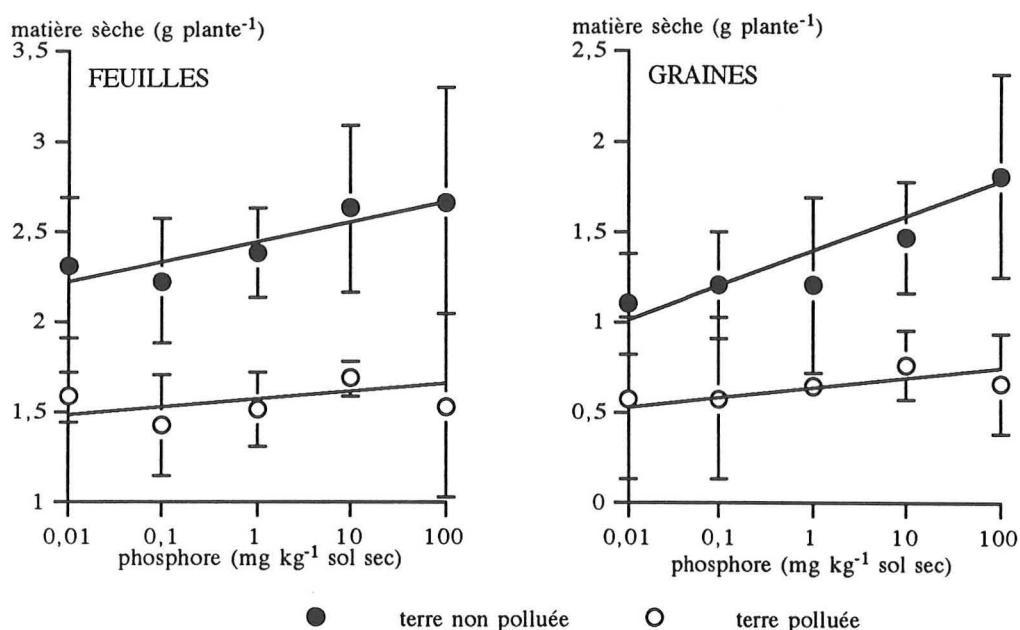
2.2.3. Production de biomasse du colza

La production de biomasse aérienne totale du colza n'a pas été affectée par la contamination métallique (résultat non présenté). Elle est 3 à 4 fois plus forte que celle de *Thlaspi*. Néanmoins, les productions de feuilles et de graines sur sol pollué artificiellement sont significativement inférieures à celles obtenues sur le témoin sans métaux (Figure 22). Dans ces deux cas, un effet

positif de la fertilisation phosphatée croissante est observé sur sol non pollué alors qu'il n'y a pas d'effet phosphore sur sol contaminé.

La terre choisie pour cette expérience présentait un niveau de P extractible faible. Aucune réponse significative au niveau de la production de biomasse par *T. caerulescens* n'a été observée. Une légère tendance à la diminution a même été relevée lors de la deuxième récolte avec les doses croissantes de P. Le colza, au contraire, a montré une réponse significative aux deux doses de P les plus élevées.

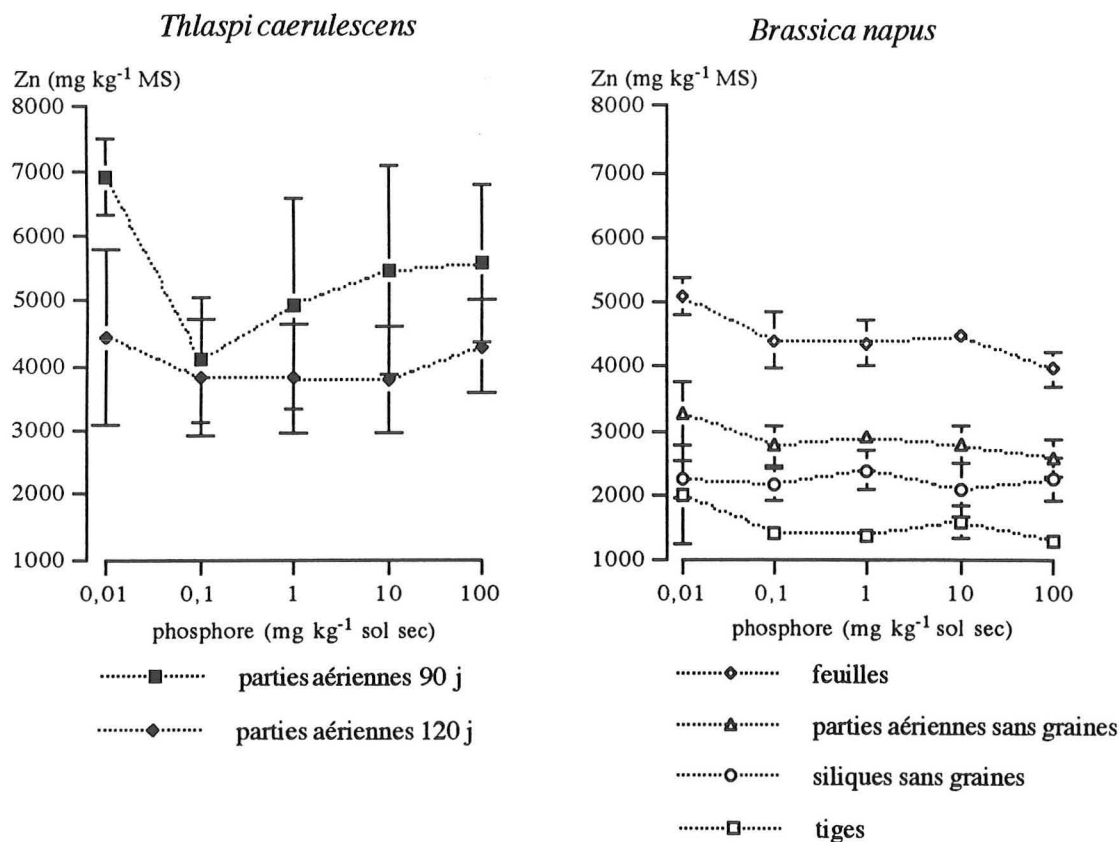
Figure 22. Production de feuilles et graines du colza sur la terre non polluée et la terre polluée



2.2.4. Extraction des métaux par *T. caerulescens* et le colza

Thlaspi et le colza ont prélevé préférentiellement Cd et Zn, en relation avec la contamination de la terre. Les teneurs de Cd dans les parties aériennes de *Thlaspi* sont de 25 à 60 mg kg⁻¹ et celles de Zn comprises entre 3 800 environ et 6 900 mg kg⁻¹ (Figure 23). Le colza offre aussi des teneurs particulièrement importantes, de l'ordre de 25 mg Cd kg⁻¹ et 2 500-3 000 mg Zn kg⁻¹ (Figure 23). Les autres métaux (Ni et Pb) n'ont pas été accumulés par ces deux espèces (résultats non présentés). Les teneurs de métaux dans *Thlaspi* sont variables en fonction des apports de P. A la première récolte, *Thlaspi* présente des teneurs significativement plus élevées en absence de tout apport de P. Dès la dose P1, la teneur s'abaisse fortement et tend à remonter légèrement avec les autres apports. A la deuxième coupe, la fertilisation phosphatée n'a plus d'effet significatif. Pour le colza, les teneurs du Zn sont les plus importantes dans les feuilles que dans les autres organes (Figure 23). La fertilisation P diminue la teneur du Zn dans les feuilles et dans les tiges ce qui se répercute sur la composition de la biomasse totale.

Figure 23. Teneurs du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* et du colza en fonction de la fertilisation phosphatée et du temps de culture



Les barres verticales correspondent à l'intervalle de confiance au seuil de 5%.

Les coefficients de transfert de Zn du sol à la plante sont supérieurs à 1 quelle que soit la dose d'apport de P (Tableau 32). Il y a donc accumulation de cet élément dans les parties aériennes de *T. caerulescens* et dans une moindre mesure du colza. Les coefficients de transfert les plus élevés sont obtenus en absence de fertilisation phosphatée.

Tableau 32. Coefficients de transfert de Zn aux parties aériennes de *T. caerulescens* et du colza en fonction d'apports croissants de phosphore

| Apport de P mg kg ⁻¹ | <i>T.caerulescens</i> 90 j | <i>T.caerulescens</i> 120 j | <i>B. napus</i> n+135 |
|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 0 | 14,1 ± 1,3 | 9,1 ± 3,2 | 6,7 ± 1,1 |
| 0,1 | 8,4 ± 2,3 | 7,8 ± 2,1 | 5,7 ± 0,7 |
| 1 | 10,1 ± 3,8 | 7,8 ± 2,0 | 5,9 ± 0,2 |
| 10 | 11,2 ± 3,8 | 7,7 ± 1,9 | 5,6 ± 0,7 |
| 100 | 11,4 ± 2,9 | 7,8 ± 1,7 | 5,3 ± 0,6 |

2.2.5. Teneurs du P dans *T. caerulescens*

L'absence ou la déficience de P entraîne habituellement une croissance faible des végétaux. Ceci ne s'observe pas chez *T. caerulescens* (Tableau 33). L'analyse du P dans les plantes indique que la fertilisation n'a pas eu d'effet sur les teneurs du P dans *T. caerulescens*. Cependant, le pourcentage moyen à la première coupe (0,22%) est significativement supérieur à celui de la deuxième coupe (0,16%). Ces pourcentages sont systématiquement inférieurs aux valeurs de 0,3-0,5%, nécessaires au développement optimal des végétaux (Marschner, 1986). D'après la littérature, la teneur moyenne du P dans les plantes est comprise entre 0,15% et 1% de la matière sèche ce qui situe les teneur du P dans la matière sèche de *T. caerulescens* dans cette gamme. Eu égard à une production de matière sèche supérieure, les exportations de P par la plante ont tendance à augmenter. A la dose maximale, toutefois, l'exportation est plus faible que dans les autres traitements. Les teneurs de Zn dans les parties aériennes sont 2 à 3 fois plus élevées que les teneurs de P ce qui conduit à des rapports Zn/P très élevés. Le rapport Zn/P est plus élevé en absence d'apport de P et avec la dose la plus forte (100 mg kg⁻¹) qu'avec les doses plus faibles de P.

Tableau 33. Teneurs de P dans les parties aériennes de *T. caerulescens*

| Traitement P mg kg ⁻¹ sol sec | P % MS | P µg plante ⁻¹ | Zn/P |
|---|-----------|------------------------------|------|
| 90 jours de culture | | | |
| 0 | 0,25 | 2 999 | 2,8 |
| 0,1 | 0,20 | 3 212 | 2,1 |
| 1 | 0,21 | 3 276 | 2,4 |
| 10 | 0,24 | 3 807 | 2,2 |
| 100 | 0,21 | 3 145 | 2,7 |
| 120 jours de culture | | | |
| 0 | 0,16 | 3 395 | 2,9 |
| 0,1 | 0,13 | 2 818 | 3,0 |
| 1 | 0,17 | 3 324 | 2,2 |
| 10 | 0,19 | 3 630 | 2,1 |
| 100 | 0,17 | 2 632 | 2,6 |

2.2.6. Evolution des métaux dans la terre polluée

Le pH des sols n'a pas été significativement modifié par une culture de *T. caerulescens* mais une tendance à l'augmentation du pH accentuée pour des apports croissants de P peut être observée (Tableau 34).

Tableau 34. pH de la terre après 120 jours de culture de *T. caerulescens* en présence d'apports croissants de P

| traitement P mg kg ⁻¹ | avant culture | après culture | témoin non cultivé |
|-------------------------------------|---------------|---------------|--------------------|
| 0 | 5,6 | 5,5 | 5,3 |
| 0,1 | 5,6 | 5,7 | 5,3 |
| 1 | 5,7 | 5,7 | 5,3 |
| 10 | 5,7 | 5,7 | 5,4 |
| 100 | 5,7 | 5,8 | 5,4 |

En absence de plante, les teneurs du Zn extractible à l'eau restent constantes quelle que soit la dose de P (Figure 24). En présence de *T. caerulescens*, les teneurs ont tendance à diminuer avec la fertilisation P. La fraction des métaux extractibles à l'eau est diminuée par une culture de *T. caerulescens*. C'est aussi le cas pour le Cd (Figure 25) et, dans une moindre mesure, pour le Ni. La diminution de cette fraction extractible à l'eau s'accroît avec les apports croissants de P. La fraction des métaux extractibles au nitrate d'ammonium n'est, quant à elle, pas modifiée de façon significative. Dans ce cas, le métal a tendance à être plus extractible en présence qu'en absence de plante mais ces différences ne sont pas significatives sauf pour le Cd dans le cas des traitements P0 et P4.

Figure 24. Teneurs du Zn extractible à l'eau et au nitrate d'ammonium dans les terres cultivées avec *T. caerulescens* en présence d'apports croissants de P

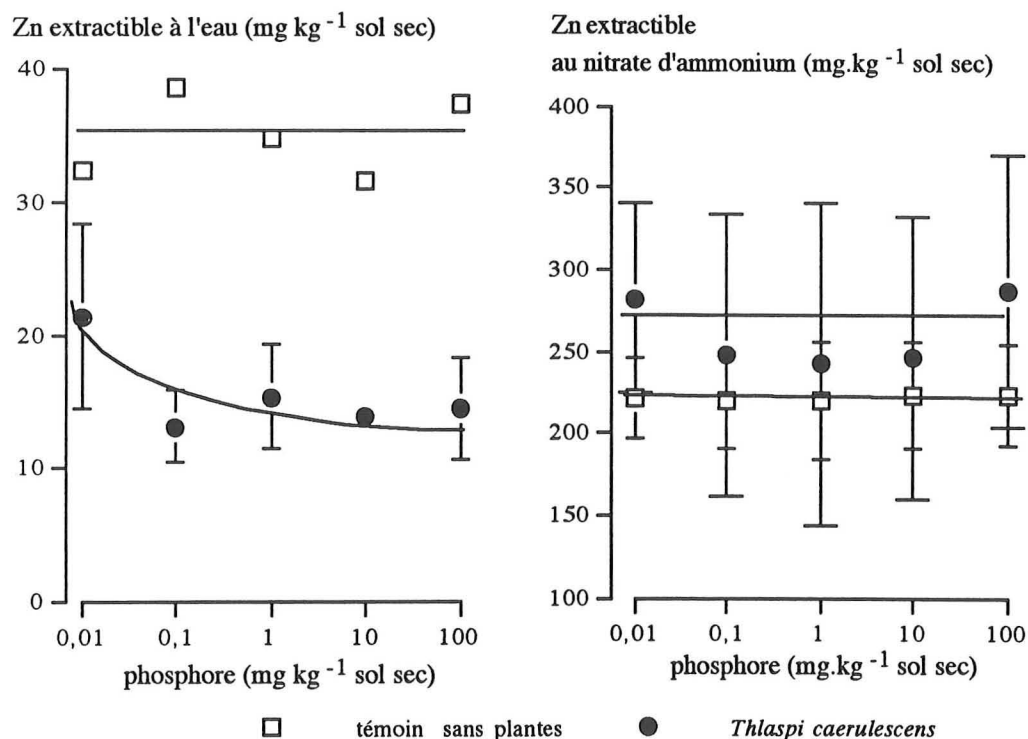
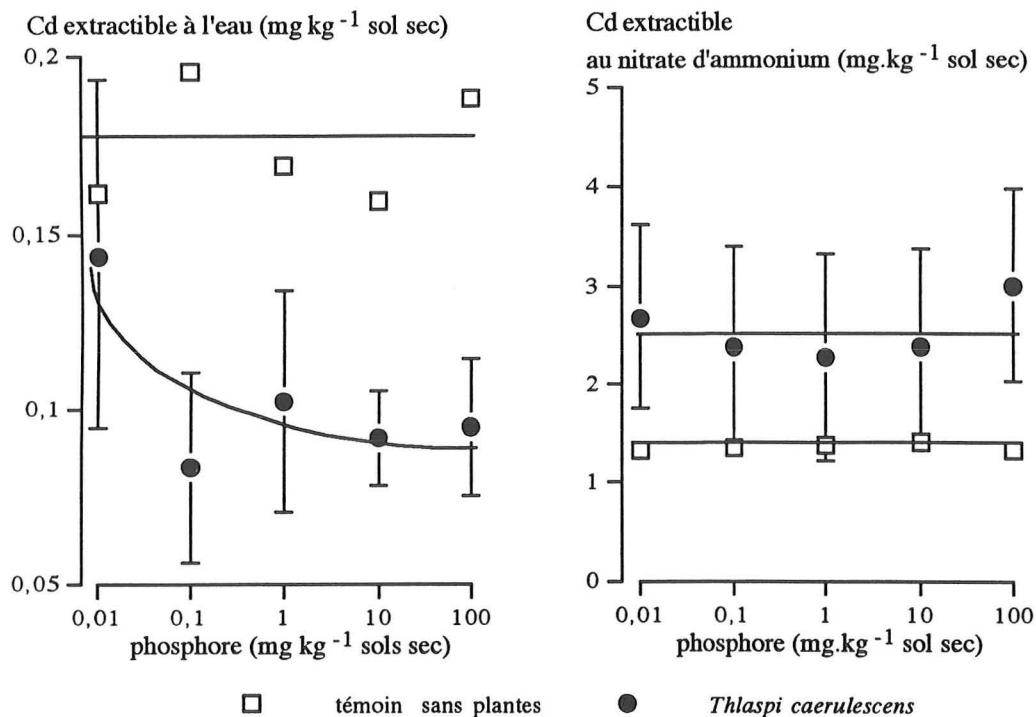


Figure 25. Teneurs du Cd extractible à l'eau et au nitrate d'ammonium dans les terres cultivées avec *T. caerulescens* en présence d'apports croissants de P



2.3. Discussion

La terre choisie pour cette expérience présentait un niveau de P extractible faible. Les apports de P n'ont provoqué qu'une réponse faible de *T. caerulescens* au niveau de la production de biomasse. Une légère tendance à la diminution a même été relevée lors de la deuxième récolte avec les doses croissantes de P. Le colza, au contraire, a montré une réponse significative aux deux doses de P les plus élevées. La production de biomasse du colza est 3 à 4 fois plus forte que celle de *Thlaspi*. L'extraction des métaux a eu tendance à augmenter pour des teneurs faibles de P dans la terre. La production de biomasse végétale et le transfert des métaux vers la plante ont été soumis à une forte variabilité génétique. Les fortes teneurs de métaux dans les parties aériennes du colza tiennent plus à l'envahissement considérable de la terre par les racines de la plante qu'à un caractère hyperaccumulateur. Ce type d'observation est assez classique avec les espèces produisant beaucoup de racines et, généralement, l'absorption est largement plus importante en conditions des vases de végétation qu'en plein champ. La quasi absence de réponse à la fertilisation semble liée aussi à des besoins faibles de la plante car l'absence de fertilisation phosphatée n'affecte pas la teneur de P dans la plante. L'activité des phosphatases exsudées par les racines augmente la minéralisation du P organique (Grimal, 1994); le Zn chez *Thlaspi* joue-t-il un rôle analogue au Ni chez *Alyssum bertolonii*, qui induit une augmentation de l'activité phosphatase (Gabbrielli *et al.*, 1995) ? Il est possible qu'un antagonisme avec le Zn puisse se manifester mais sa nature reste incertaine. L'absence de fertilisation P tend à favoriser

le transfert des métaux du sol vers les parties aériennes de *T. caerulescens*. Il peut s'agir d'un effet indirect de l'action de la plante sur son milieu en particulier par le biais de l'exsudation de composés acides et/ou complexants du type acides organiques par les racines qui favoriserait la mise en solution du P, du Zn et du Cd. L'addition de P tend à réduire l'absorption des métaux. Il ne semble pas que l'insolubilisation des métaux sous la forme de phosphates métalliques soit à mettre en cause dans la mesure où, en absence de plante, la teneur du métal soluble dans l'eau est indépendante de la dose de P apportée. Comme les autres membres non-hyperaccumulateurs des familles des *Brassicaceae* ou des *Proteaceae*, les hyperaccumulateurs de ces familles mettent certainement en œuvre des mécanismes spécifiques pour l'acquisition des éléments nutritifs. Le prélèvement accru de métaux pourrait être une conséquence d'une augmentation de l'exsudation racinaire induite par une carence en un élément nutritif comme P. Les exsudats racinaires permettraient alors non seulement de mobiliser le P mais aussi les métaux. Lorsque le sol est faiblement pourvu en P, *T. caerulescens* pourrait mettre en œuvre des mécanismes d'acquisition du P peu ou très peu mobile qui pourraient se répercuter sur la mobilité des métaux. En résumé, les relations entre la nutrition P et l'absorption du Zn chez *T. caerulescens* paraissent jouer un rôle primordial que nous n'avons fait qu'effleurer...

3. Comportement de *T. caerulescens* en présence de plantes compagnes

Dans la majorité des cas les pollutions sont multimétalliques. Nous avons montré que l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens* germe et se développe sur des sols très différents. La plante produit plus de biomasse en présence de Zn mais si la teneur de Zn dans le sol est faible et que celle de Pb est élevée, *T. caerulescens* prélève une plus grande quantité de Cd ou de Pb. Toutefois, l'hyperaccumulation paraît être relativement spécifique à un métal, e.g. Zn. L'aptitude des plantes hyperaccumulatrices à extraire de très fortes quantités de certains métaux et à tolérer la présence d'autres métaux devrait permettre de les cultiver en association sur des sols multipollués. Chaque plante pourrait ainsi extraire un ou deux métaux, élargissant le spectre d'efficacité de la phytoextraction. En général, sur les sites métallifères naturels ou les sites industriels pollués par les métaux, peu d'espèces différentes et peu d'individus de la même espèce sont présents en raison des conditions de fertilité et de contamination imposées par le milieu. En absence de compétition, chaque individu peut alors trouver l'espace et les éléments nutritifs nécessaires. Le principal critère de sélection est la tolérance aux métaux et des individus qui produisent peu de semences peuvent réussir à se multiplier et à se développer. Aux compétitions intraspécifiques peuvent s'ajouter des compétitions interspécifiques. Chaque espèce végétale a une capacité différente à extraire les métaux des sols. Il serait alors possible d'améliorer la phytoextraction d'un sol multipollué en cultivant des espèces montrant une complémentarité d'extraction. Un essai en vases de végétation en conditions contrôlées vise à

étudier l'effet de différentes combinaisons d'associations de métalphytes et d'une légumineuse sur le développement et l'extraction des métaux.

3.1. Matériel et méthode

Les cultures ont été effectuées sur la terre agricole témoin, cette même terre amendée par la boue d'épuration urbaine riche en métaux et la terre du sol de friche industrielle d'ancienne fonderie de Pb (Tableau 16, Chapitre 2). Les plantes cultivées étaient *T. caerulescens* (Prayon), *Alyssum murale* (Albanie) (Shallari, 1997) et *Lupinus albus* var. Ares. La terre agricole a été enrichie en boue d'épuration urbaine à raison de 50 g de boue par kg de terre soit 50 fois la dose admise par la norme. Les quantités de métaux apportées dans la terre étaient de 1 mg Cd, 10 mg Ni, 21 mg Pb et 117 mg Zn kg⁻¹. Les pots contenant 1kg de terre sèche ont été disposés en 5 blocs suivant une répartition aléatoire. Tous les pots à l'exception du lupin ont reçu une fertilisation uniforme (N : 33,3 mg kg⁻¹ sous forme sulfate d'ammonium uniquement; K : 33,3 mg kg⁻¹ sous forme sulfate de potassium uniquement sur les pots avec lupin). Eu égard aux résultats obtenus sur l'effet de la fertilisation phosphatée sur l'extraction des métaux par *T. caerulescens*, aucune apport de P n'a été réalisé. Chaque plante a été cultivée en monoculture avec 10 plantes par pot pour les hyperaccumulateurs et 4 plantes par pot pour le lupin. Les associations végétales doubles étaient *T. caerulescens* + *Alyssum murale* avec 5 plantes de chaque par pot ; *T. caerulescens* + *Lupinus albus* avec 5 + 2 plantes par pot ; *Alyssum murale* + *Lupinus albus* avec 5 + 2 plantes par pot. Enfin les plantes ont été cultivées en association triple *T. caerulescens* + *Alyssum murale* + *Lupinus albus* avec 5 + 5 + 1 plantes par pot.

3.2. Résultats

L'origine de la terre, la nature et l'intensité de la pollution par les métaux et le mode d'association végétale ont un effet sur la cinétique de croissance des végétaux et sur leur production de biomasse.

3.2.1. L'effet sol

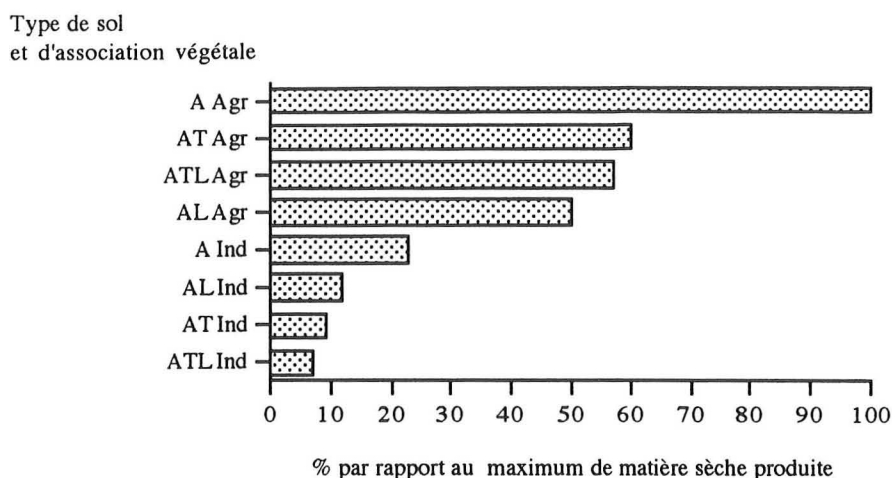
A. murale produit systématiquement plus de matière sèche sur la terre agricole amendée par la boue urbaine que sur la terre de friche industrielle (Figure 26). Or le test de toxicité MetPLATE appliqué aux deux terres indique la même toxicité globale due aux métaux. Ce résultat est certainement dû à la faible mobilité du Pb dans la terre industrielle. De plus cette terre montre une pollution essentiellement monométallique alors que la terre agricole amendée par la boue urbaine présente une pollution multimétallique. Les différences de production de biomasse pourraient s'expliquer par l'effet fertilisant de la boue d'épuration urbaine ou encore par l'apport de Ni potentiellement favorable à la croissance de l'hyperaccumulateur de Ni *A. murale*. *T. caerulescens* produit plus de matière sèche sur la terre agricole amendée par une boue urbaine que sur la terre de friche industrielle (Figure 27). L'apport par la boue d'éléments nutritifs et de Zn pourrait expliquer cet effet sur l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens*. Cependant il

produit systématiquement plus de matière sèche lorsqu'il est cultivé seul. Il y a donc un effet de l'association végétale. Le lupin n'est pas une plante hyperaccumulatrice. Toutefois elle se développe sur les deux sols pollués, probablement en raison de son caractère "pionnier". Il se développe mieux sur la terre industrielle que sur la terre agricole amendée par la boue urbaine et produit systématiquement plus de biomasse que les plantes hyperaccumulatrices.

Figure 26. Effets des traitements nature du sol et type d'association végétale sur la production de biomasse sèche par *A. murale*

Agr : terre agricole + boue ; Ind : terre industrielle

A : *Alyssum* T : *Thlaspi* L : *Lupinus*



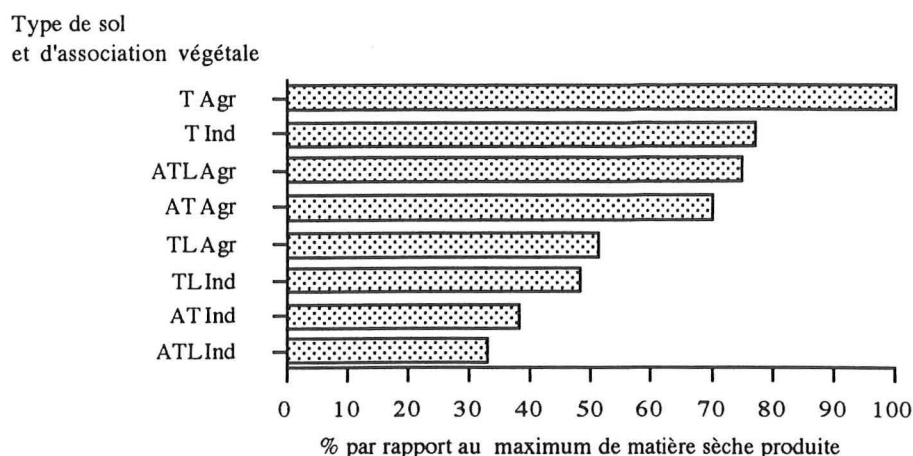
3.2.2. L'effet association végétale

Il y a un effet "association végétale" sur la croissance des plantes. Les rendements des plantes associées ne sont jamais supérieurs aux rendements de chaque composante cultivée individuellement. Lorsque les deux hyperaccumulateurs sont cultivés en association double, on observe des phénomènes de compétition, probablement pour l'absorption des éléments nutritifs. Les rythmes de végétation des différentes espèces ne sont en effet pas identiques. En présence de lupin il n'y a pas eu d'apports d'azote minéral. Dans ce cas, la production de biomasse de l'espèce associée dépend du bon fonctionnement de la fixation symbiotique de l'azote par la légumineuse. Or le lupin ne présentait pas de nodosités sur la terre agricole amendée par la boue urbaine. Les effets "sol" et "association végétale" peuvent donc être liés.

3.2.3. Combinaison des effets sol et association végétale

Les effets "sol" et "association végétale" peuvent se combiner. La production de matière sèche par *T. caerulescens* est variable en fonction de la terre et de l'association végétale (Figure 27). Les productions de matière sèche par plante en pourcentage de la production maximale observée montrent que le lupin peut favoriser la croissance de *T. caerulescens*. En effet, l'écart de production de biomasse de *T. caerulescens* sur terre industrielle par rapport à la terre agricole amendée par la boue urbaine est comblé en présence du lupin.

Figure 27. Effets des traitements nature du sol et type d'association végétale sur la production de biomasse sèche par *Thlaspi caerulescens*
 Agr : terre agricole + boue ; Ind : terre industrielle
 A : *Alyssum* T: *Thlaspi* L : *Lupinus*



Ces données permettent de hiérarchiser les effets "sol" et "association végétale" sur la production de biomasse. Ainsi, *A. murale* produit le maximum de biomasse par plante en monoculture sur terre agricole ayant reçu un apport de boue. En association avec *T. caerulescens*, sur cette même terre, *Alyssum* ne produit que 60 % de cette biomasse maximale. L'association triple sur terre industrielle abaisse cette proportion à moins de 10 % de la production maximale. L'association de *T. caerulescens* + lupin est favorable à la teneur de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* (Figure 28). Malgré cela, les minéralomasses du Zn sont les plus élevées lorsque *T. caerulescens* est cultivé en monoculture quelle que soit la terre (Figure 29).

Figure 28. Effets de la nature du sol et du type d'association végétale sur les teneurs de zinc dans les parties aériennes de *Thlaspi caerulescens*
 Agr : terre agricole + boue ; Ind : terre industrielle
 A : *Alyssum* T: *Thlaspi* L : *Lupinus*

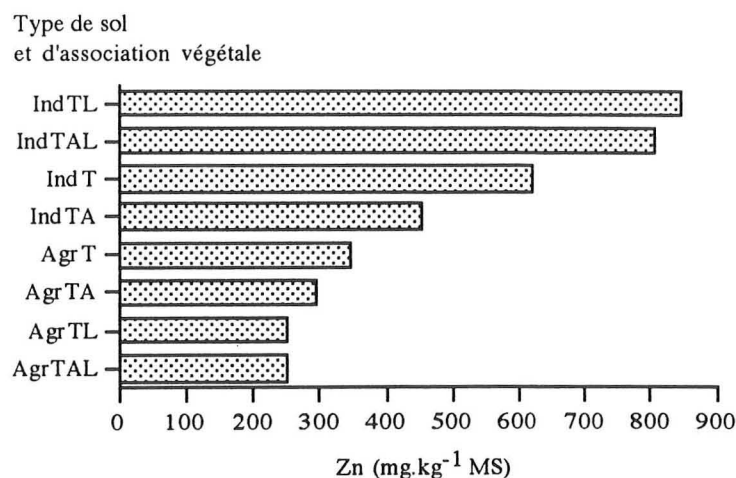
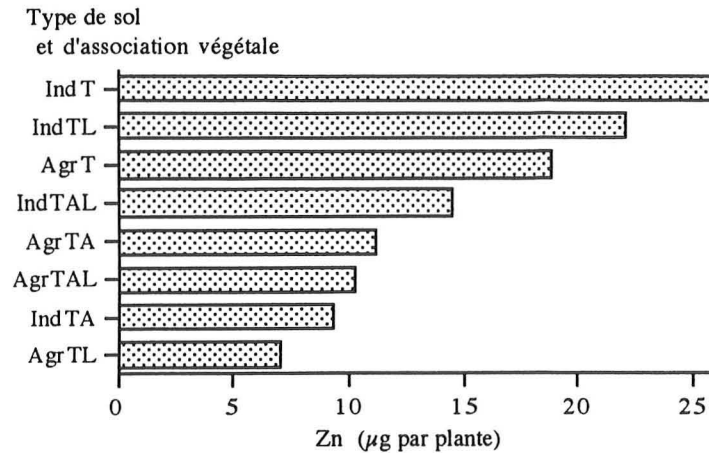


Figure 29. Effets des traitements nature du sol et type d'association végétale sur les quantités de zinc par plante (*Thlaspi caerulescens*)
 Agr : terre agricole + boue ; Ind : terre industriel
 A : *Alyssum* T: *Thlaspi* L : *Lupinus*



Les trois espèces se développent quelle que soit la terre et quelle que soit la combinaison d'association végétale. Les deux hyperaccumulateurs se développent mieux seuls qu'en présence d'une autre plante quelle que soit la terre. Les hyperaccumulateurs se développent mieux sur la terre agricole amendée par la boue résiduaire que sur la terre industrielle. Cette différence est plus marquée pour *A. murale* que pour *T. caerulescens*. On observe des interactions entre les hyperaccumulateurs lorsqu'ils sont cultivés en association. La légumineuse se développe mieux sur la terre industrielle que sur la terre agricole amendée par la boue résiduaire où elle ne présentait pas de nodosités. L'emploi d'une plante auxiliaire comme le lupin permet de réduire l'effet "sol" sur l'hyperaccumulateur *T. caerulescens*. Le lupin, plante pionnière, pourrait apporter par la fixation biologique une source d'azote supplémentaire sur sol industriel peu fertile. L'association de deux métalphytes et d'une légumineuse ou l'association double de métalphytes ont un effet négatif sur la production totale de biomasse. Par contre, l'association *T. caerulescens* + lupin peut avoir un effet positif sur la production de biomasse.

4. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons testé l'effet de la fertilisation azotée, de la fertilisation phosphatée et l'influence de la présence de plantes compagnes sur la croissance de *T. caerulescens* et l'extraction du Cd et du Zn. La fertilisation azotée joue un rôle important dans la mesure où elle favorise la production de biomasse et, dans le cas de *T. caerulescens* originaire de Viviez, augmente l'extraction du Cd. Le Zn est moins affecté par la fertilisation, son prélèvement paraît même déprimé. La fertilisation nitrique semble devoir être privilégiée par rapport à la fertilisation ammoniacale. La fertilisation phosphatée est restée sans effet marquant sur la production de biomasse mais son absence a plutôt une action positive sur le prélèvement des métaux. Enfin, la présence d'autres espèces végétales induit généralement une diminution de biomasse eu égard aux compétitions pour les éléments nutritifs. Une plante fixatrice d'azote pourrait peut-être, en conditions de plein champ, jouer un rôle important dans la fourniture de l'azote à l'hyperaccumulateur, dans la mesure où le *Rhizobium* n'est pas inhibé par la présence des métaux de même que la microflore totale du sol.

CHAPITRE 5

**Réponse du système racinaire
de *Thlaspi caerulescens* à l'origine, la teneur
et la localisation des métaux du sol**

L'exploration et l'exploitation de sols contaminés par les racines de plantes hyperaccumulatrices est une condition indispensable à l'efficacité de la phytoextraction. L'efficacité de *Thlaspi caerulescens* comme outil de décontamination des sols dépend donc de la capacité de son système racinaire à se développer dans les parties polluées du sol et à exercer éventuellement des changements de solubilité des métaux. En général, la présence de métaux en concentration élevée dans les sols entraîne des phénomènes de phytotoxicité qui s'expriment, au niveau des racines des plantes non tolérantes, par une inhibition de l'élongation racinaire (Godbold & Kettner, 1991 cités par Marschner, 1986). A l'inverse, les racines de plantes prélevées sur des sites métallifères, e.g. mine de Pb-Zn, sont plus longues (Symeonidis & Karataglis, 1992). Des observations de terrain antérieures ont aussi montré un exploration préférentielle de zones contaminées par les racines de *Minuartia verna* (Cleal, 1994). Il était donc nécessaire d'étudier le développement des racines de l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens* dans différentes conditions de contamination du sol.

Les métaux présents dans les sols peuvent provenir d'activités agricoles (fertilisation, apport de boues d'épuration...) ou d'activités industrielles (extraction minière, fonderie...) et ces modes de contamination amènent à une distribution hétérogène des métaux dans les sols et à leur présence sous des formes chimiques variées. La contamination anthropique se caractérise par une forte variabilité verticale et horizontale dans le profil du sol qui peut diminuer l'accessibilité des polluants pour les plantes. C'est pourquoi nous avons étudié le comportement du système racinaire de *T. caerulescens* sous différentes conditions de contamination de sol, regroupant le type, la teneur, la forme chimique et la localisation du métal dans le sol. Des rhizotrons ont été réalisés et remplis avec différents matériaux contaminés. Ils ont permis de suivre le développement du système racinaire de *T. caerulescens* et d'observer les modifications du pH rhizosphérique.

1. Matériel et Méthodes

1.1. Terres

Les échantillons de terre proviennent tous des sites décrits dans le Chapitre 2. Il s'agit du site agricole de Vannecourt, de la fonderie de Zn de Mortagne du Nord et de la fonderie de Pb. Prélevés dans la partie supérieure des deux profils des sols de fonderies, ils ont été séchés à l'air et tamisés à 5 mm avant leur utilisation. Un profil non remanié (30 x 15 x 30 cm) a également été prélevé sur le site de l'ancienne fonderie de Zn. Les caractéristiques des terres sont rappelées dans le tableau 35.

Tableau 35. Caractéristiques des terres utilisées

| terres | pH | mat. org. % | CEC meq kg ⁻¹ | Cd | Ni mg kg ⁻¹ | Pb | Zn |
|---------------------------------------|-----|----------------|-----------------------------|-------|---------------------------|--------|--------|
| agricole 0 - 30 cm | 5,8 | 2,8 | 110 | 0,1 | 19 | 13 | 41 |
| industriel, fonderie de Pb 0-30 cm | 6,1 | 3,5 | 55 | 1,6 | 9 | 3 500 | 240 |
| industriel, fonderie de Zn 0-3 cm | 5,9 | 28,7 | 448 | 200,0 | 40 | 12 560 | 31 200 |
| industriel, fonderie de Zn 3-55 cm | 5,8 | 1,7 | 57 | 16,3 | 7 | 259 | 1 280 |

1.2. Plante

La plante est *T. caerulescens* collectée sur le site de Prayon.

1.3. Rhizotrons

Vingt dispositifs en PVC (30 x 25 x 8 cm) couverts d'une face transparente amovible appelés rhizotrons ont été construits (Figure 30). Chaque rhizotron a été rempli avec les trois types de terres afin d'obtenir différentes variantes de sols contaminés par Zn, Cd et/ou Pb. Ainsi, ont été préparés des profils homogènes, des superpositions de trois couches de terres différentes séparées par 1 cm de sable de Fontainebleau, des inclusions de terre polluée dans un profil non contaminé et des inclusions de sol non contaminé dans un profil pollué. Treize traitements ont été ainsi constitués (Figure 31) : six profils homogènes : terre agricole (1), terre agricole additionnée de doses croissantes d'une solution de ZnSO₄ pour obtenir une concentration finale de 50 (2), 500 (3) et 5000 (4) mg Zn kg⁻¹, terre de l'horizon 3-55 cm du sol de fonderie de Zn (5) et terre de l'horizon 0-30 cm du sol de fonderie de Pb (6) ; deux profils constitués de la superposition - de la surface vers la profondeur (7) et de la profondeur vers la surface (8) - de

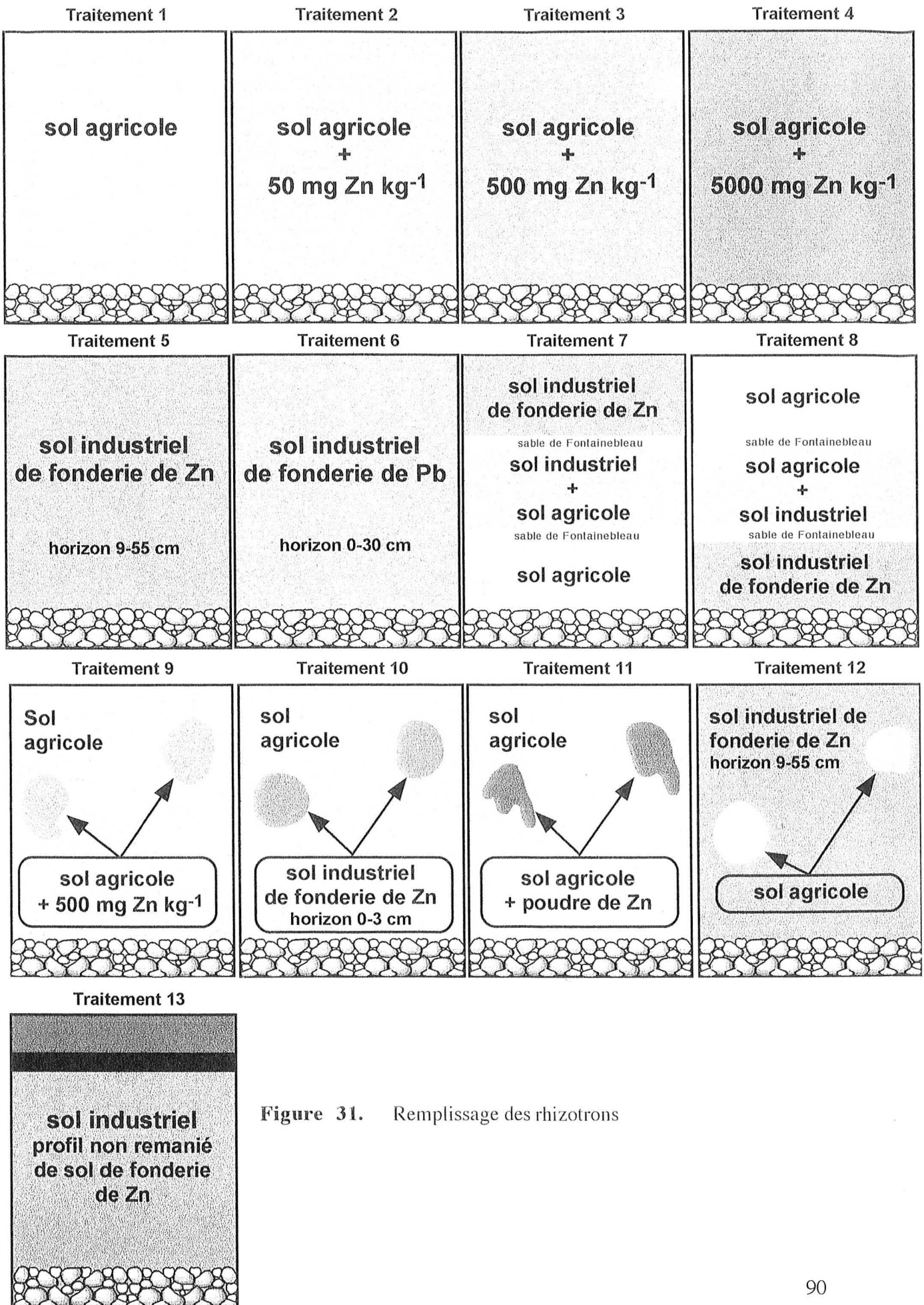
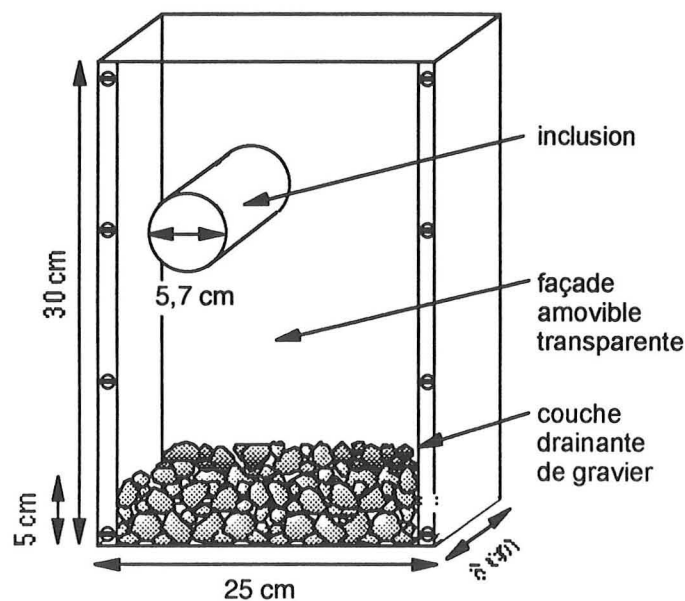


Figure 31. Remplissage des rhizotrons

terre de l'horizon 3-55 cm du sol de l'ancienne fonderie de Zn, d'un mélange en proportion 1:1 (matière sèche) de cette terre avec de la terre du sol agricole et de la terre du sol agricole; trois profils formés d'inclusions de terres polluées, terre du sol agricole polluée par 500 mg Zn kg⁻¹ sous forme de ZnSO₄ (9), terre de l'horizon 0-3 cm du sol de fonderie de Zn et mélange (1:1) de terre du sol agricole avec de la poudre de Zn métallique (<60 µm) (Prolabo 29063.296) (11). Un profil a été constitué de deux inclusions de terre de sol agricole dans une matrice de terre de l'horizon 3-55 cm du sol de fonderie de Zn (12). Les inclusions ont été réalisées perpendiculairement à la face transparente du rhizotron à l'aide de tubes en matière plastique de diamètre 5,7 cm qui formaient des trous à remplir par des sols contaminés (Figure 30). Enfin, un profil correspondait au sol de surface non remanié de la fonderie de Zn avec ses trois horizons intacts (13). Les traitements (1), (5), (6) et (13) ont été préparés en deux répétitions. La densité apparente des sols exprimée en g cm⁻³ a été calculée à partir du poids de terre sèche et du volume des rhizotrons.

Figure 30. Un rhizotron



1.4. Culture

Les semences ont été mises à germer sur plaques de germination. Après 20 jours, quatre plantules de *T. caerulescens* ont été repiquées par rhizotron. Les rhizotrons ont été disposés dans une serre de juillet à octobre 1996 et installés sur un support incliné à un angle de 45°, la face transparente vers le bas. Un arrosage quotidien a été effectué avec de l'eau osmosée afin de maintenir l'humidité proche de la capacité au champ. Des témoins sans plantes ont été menés dans des conditions identiques pour les profils (9), (10) et (12).

1.5. Mesures

La longueur de chaque racine a été périodiquement reportée sur un feuillet transparent et une photocopie à l'échelle 1:1 a été réalisée après chaque transcription rendant ainsi possible le suivi du développement racinaire. Un total de 20 à 30 enregistrements ont été réalisés par rhizotron avec une fréquence de 2 jours depuis l'apparition des racines jusqu'à 56 jours puis une fréquence de 7 jours jusqu'à la récolte (133 jours). Les transcriptions successives des systèmes racinaires ont permis de réaliser des animations informatiques visualisant la cinétique du développement racinaire en fonction des traitements. La longueur des racines à la récolte a été mesurée à l'aide d'un scanner et du logiciel Analyra v.2.0 (CIRAD, 1994). Les matières fraîche et sèche ont été pesées pour chaque plante ainsi que la longueur de la plus grande feuille et le diamètre de la rosette. Les teneurs de Cd et Zn des parties aériennes des plantes ont été déterminées par dosage ICP après minéralisation acide.

Les changements de pH rhizosphérique ont été observés à l'aide de la technique non destructive du gel d'agar imprégné d'indicateur coloré de pH (Marschner *et al.*, 1982). La façade transparente des rhizotrons ayant été retirée le gel (1% d'agar, 4 mm d'épaisseur) contenant 0,01% de pourpre de bromocrésol a été coulé sur la surface de sol non remanié. Les rhizotrons ont été couverts par des films plastiques noirs et les parties aériennes des plantes sont restées à la lumière. Après 2 h de contact, les modifications de couleur du gel ont été enregistrées.

2. Résultats

2.1. Production de biomasse aérienne

La croissance de la plante est apparue très liée à la présence de Zn dans le sol. Pour un profil donné, la croissance des plantes variait fortement d'un individu à l'autre (Figure 32). Aucun symptôme visible de toxicité n'a été observé mais pour la terre agricole polluée artificiellement par 5 000 mg Zn kg⁻¹ sous forme de ZnSO₄ (4) la plante ne s'est pas développée. La production de biomasse aérienne de *T. caerulescens* était significativement plus élevée en présence de terre provenant du sol de fonderie de Zn (5, 7, 10, 13) que dans les autres profils, incluant la terre de fonderie de Pb (6) et la terre agricole non contaminée (1) (Photographie 10). Les inclusions de taches de terre contaminée dans de la terre de sol agricole ont eu un effet positif sur le rendement en matière sèche des parties aériennes (9-12).



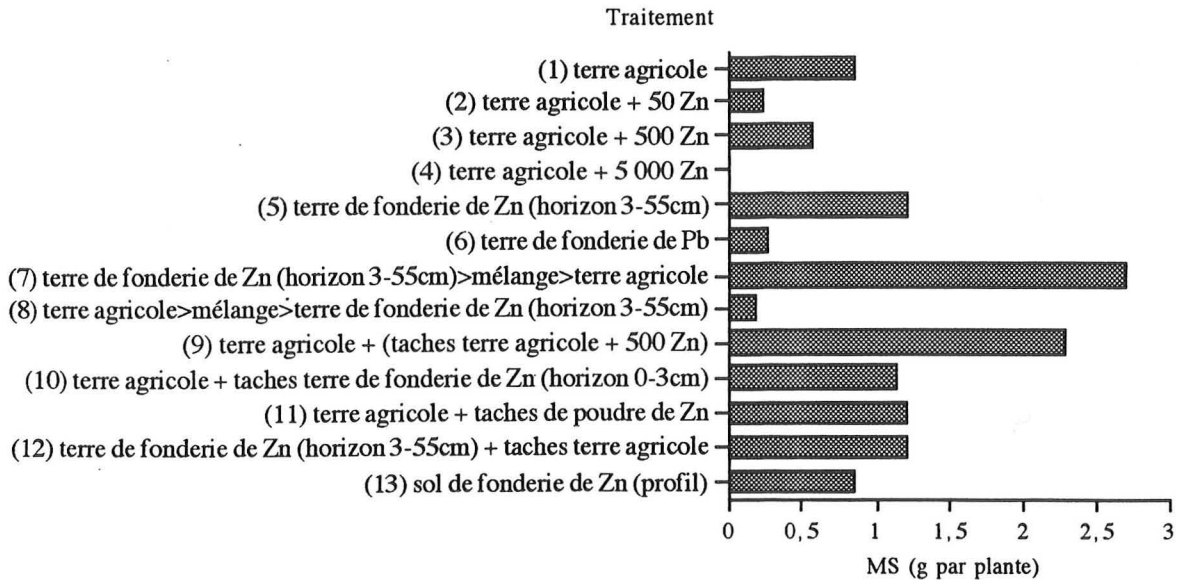
Traitement 7

Traitement 8



Photographie 10. *Thlaspi caerulescens* sur un gradient de pollution décroissante (gauche) et un gradient de pollution croissante (droite)

Figure 32. Production de matière sèche aérienne par *T. caerulescens* cultivé 130j en rhizotrons



Des productions de biomasse supérieures ont été obtenues pour le traitement (9) dans lequel de la terre agricole polluée artificiellement par Zn était incluse sous forme de taches dans une matrice de terre agricole non polluée. *T. caerulescens* a produit 4 fois moins de biomasse aérienne sur terre agricole homogène polluée par 500 mg Zn kg⁻¹ (3) que sur cette terre incluse dans une matrice de terre agricole (9). La croissance de la plante était réduite lorsque la couche supérieure du gradient était la terre agricole (8) et la croissance était fortement stimulée lorsque cette couche supérieure était constituée de terre industrielle de fonderie de Zn (7). Dans ce dernier cas, les plantes ont produit 2,2 fois plus de biomasse sèche que lorsque le rhizotron était constitué exclusivement de terre industrielle (5). Le nombre de feuilles variait entre 30 (dans les traitements pauvres en Zn - 2, 6 et 8) et 166. Les nombres de feuilles les plus élevés correspondaient aux traitements où Zn était apporté sous forme de ZnSO₄, de poudre de Zn ou de terre de fonderie de Zn (9-11) en inclusion dans une matrice de terre agricole. Cependant le nombre de feuilles était assez élevé sur la terre agricole non contaminée (1). La longueur de la plus grande feuille et le diamètre de la rosette suivaient une tendance similaire. Ces paramètres morphologiques étaient corrélés (diamètre de la rosette=0,06 nombre de feuilles+5,85 (r=0,93, p=0) ; longueur de la plus grande feuille=0,04 nombre de feuilles+3,57 (r=0,84, p=0,001) ; diamètre de la rosette = 1,36 longueur de la plus grande feuille+2,11 (r=0,90, p=0)).

2.2. Développement du système racinaire sur des terres industrielles

Des racines sont apparues sur la face transparente des rhizotrons après 10 à 27 jours suivant le repiquage. Le système racinaire de *T. caerulescens* a produit des structures ramifiées dans tous les sols (Figure 33). Cependant sa morphologie dépendait du type de terre. Dans la terre de la fonderie de Zn, le système racinaire était localisé dans les 5-10 premiers centimètres du rhizotron avec une très forte densité racinaire. De nombreuses racines adventives ont été

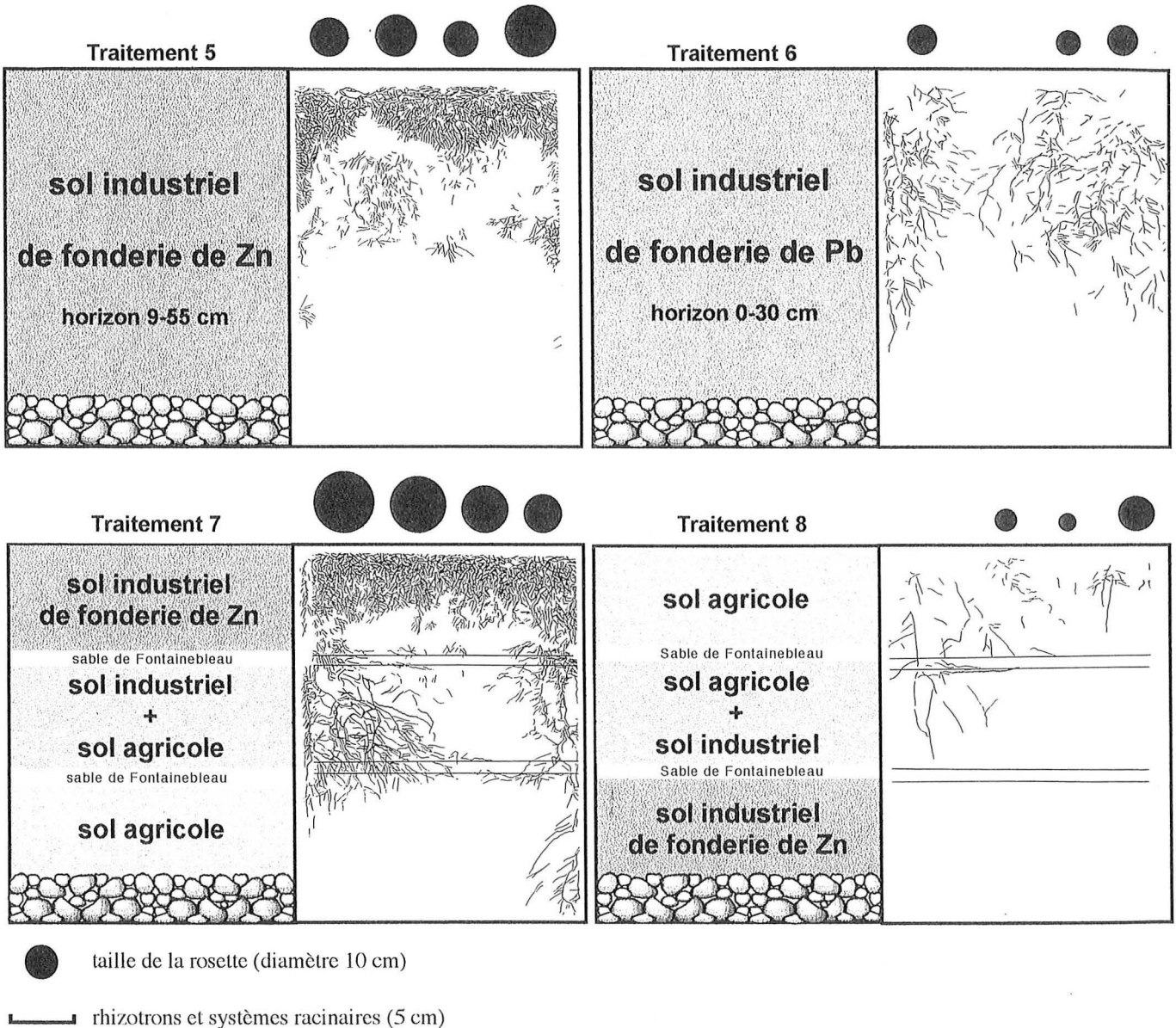


Figure 33. Architecture du système racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé sur des terres industrielles homogènes et sur des terres polluées et non polluées superposées en couches

produites à la base de la tige durant toute la période de croissance. Dans la terre de l'ancienne fonderie de Pb (6), il y avait plus de racines verticales dominantes explorant les premiers 10-15 cm. La distribution des ramifications du système racinaire était beaucoup plus diffuse que dans la terre de l'ancienne fonderie de Zn. Bien que les morphologies des systèmes racinaires étaient différentes dans ces deux terres polluées, les longueurs moyennes des systèmes racinaires étaient proches, respectivement 182 et 153 cm (Tableau 36). Dans les profils résultant de la superposition de couches de terres de sols agricole et de fonderie de Zn (7 et 8), la distribution des racines était dépendante du gradient de contamination. Lorsque la couche supérieure était de la terre de fonderie de Zn (7), la morphologie du système racinaire était identique à celle observée sur cette même terre homogène (5). Néanmoins, quand le système racinaire a exploré la couche intermédiaire (constituée d'un mélange de terre agricole et de terre industrielle), il présentait une morphologie plus diffuse et ramifiée comme dans la terre agricole non contaminée (1). A l'inverse, quand la terre agricole était placée en surface du rhizotron, le système racinaire était très diffus et pénétrait rarement dans la terre industrielle.

2.3. Développement du système racinaire sur une terre agricole contaminée artificiellement par $ZnSO_4$

Les apports de Zn sous forme de sel ont modifié la croissance et l'architecture du système racinaire de *T. caerulescens* (Figure 34). Les doses croissantes de Zn ont entraîné une réduction de la croissance racinaire et, contrairement au système racinaire développé sur la terre de fonderie de Zn, les racines étaient très diffuses et plus longues. Pour la terre non polluée (1), toute la surface du rhizotron était explorée. En présence de $ZnSO_4$ (2, 3), les racines étaient rares. Le traitement (9), constitué d'inclusions de terre agricole contaminée par $500 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ dans de la terre non polluée. Les racines ont fortement et presque exclusivement exploré les taches polluées et l'architecture du système racinaire était similaire à celle observée sur la terre de fonderie de Zn. La teneur de Zn extractible au nitrate d'ammonium était de 600 mg kg^{-1} dans la terre de fonderie de Zn contre 500 mg kg^{-1} dans la terre agricole polluée artificiellement par Cd-Zn. La proximité de ces teneurs explique probablement un fonctionnement identique des systèmes racinaires. Ceci n'a pas été observé dans les terres agricoles homogènes et polluées artificiellement des traitements (2) et (3).

2.4. Cinétique de croissance du système racinaire en présence d'inclusions de terres polluées dans une terre agricole

Dans le cas d'inclusions de terre de fonderie de Zn dans une matrice de terre agricole (10), les racines de *T. caerulescens* ont exploré préférentiellement les taches contaminées (Figures 35 et photographie 11). L'architecture racinaire a évolué d'une forme diffuse vers une forme très dense lorsque les racines ont atteint les taches. L'intense développement racinaire ne s'est pas

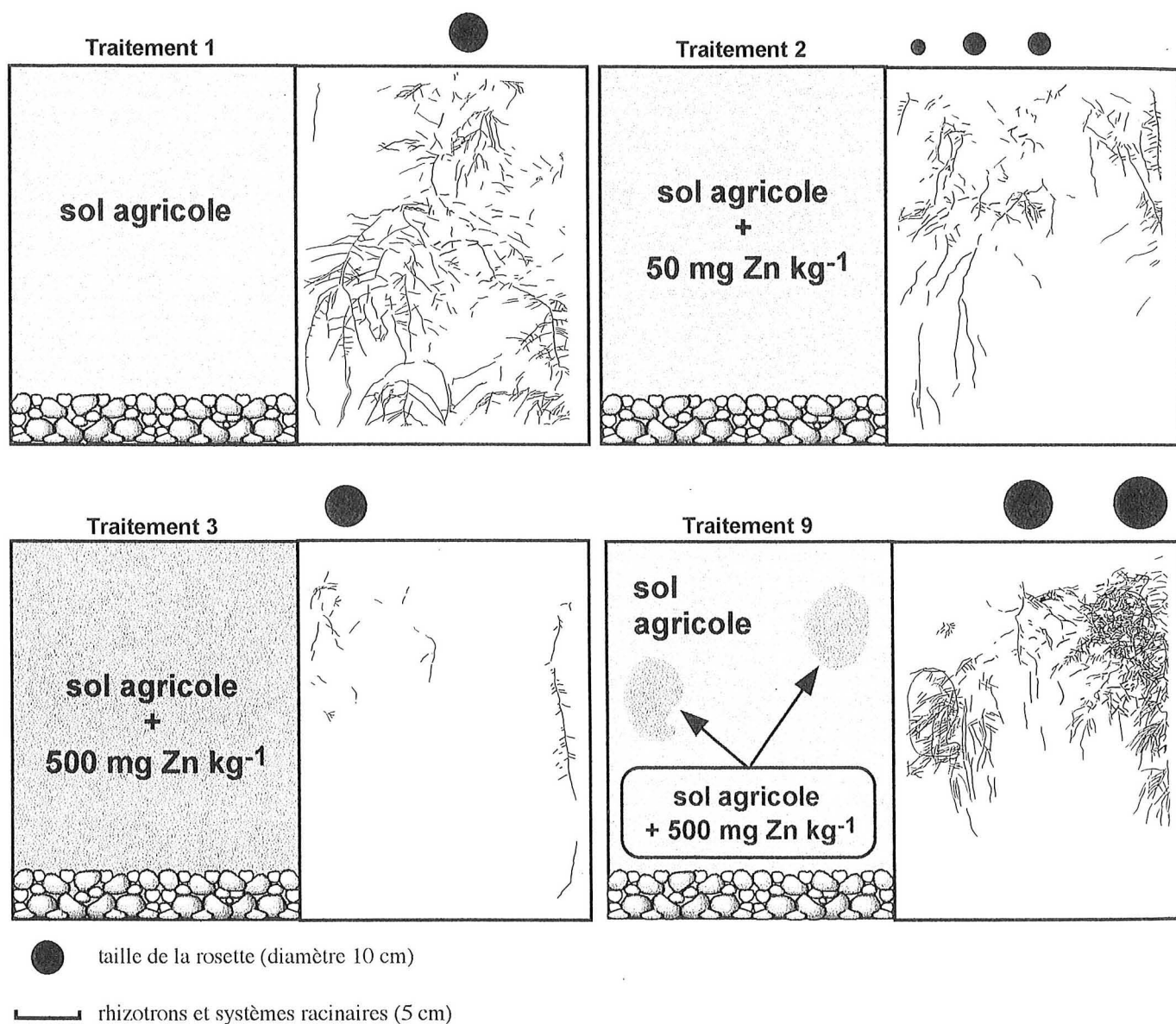


Figure 34. Architecture du système racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé sur la terre agricole, la terre agricole polluée artificiellement par Zn ou la terre polluée artificiellement disposée en taches dans la terre agricole

limité au sol de fonderie de Zn et s'est étendu à la périphérie des taches. De plus, les taches de sol de fonderie de Zn ont eu un effet supérieur sur la longueur du système racinaire que les taches de sol agricole pollué artificiellement (9) (Tableau 36). Le mélange de poudre de Zn et de terre (11) ont constitué un matériau concrétionné restreignant la pénétration racinaire mais les racines ont proliféré à la périphérie de ces inclusions. présentant une morphologie analogue à celle du profil (10). (Figure 36). Le traitement (12) était constitué d'inclusions de sol agricole dans une matrice de sol de l'horizon 3-55 cm du sol de fonderie de Zn (Figure 37). Ce traitement a permis d'observer deux morphologies racinaires différentes. Dans la matrice de sol industriel, la morphologie du système racinaire était identique à celle observée sur ce sol homogène (5). Dans les taches de sol agricole, la morphologie du système racinaire était diffuse et semblable à celle observée sur sol agricole homogène.

2.5. Rapport parties aériennes / racines

Le rapport des parties aériennes sur les parties racinaires est défini comme étant le diamètre de la rosette (cm) X 100 / longueur totale des racines (cm). Il était plus élevé pour les profils homogènes que pour les profils comportant inclusions de terre polluée (Tableau 36). Dans les traitements (9), (10) et (11), les racines étaient deux fois plus longues que dans les profils homogènes. Les profils constitués d'inclusions de terres polluées dans de la terre non polluée avaient les racines les plus longues. Leur rapport parties aériennes / racines était plus faible que pour les autres profils même si la taille de la rosette était supérieure.

Tableau 36. Rapport parties aériennes / racines de *T. caerulescens* cultivé en rhizotrons

| Traitement | numéro du traitement | diamètre de la rosette (cm) | longueur des racines (cm plante ⁻¹) | rapport parties aériennes /racines (*) |
|---|----------------------------|-----------------------------------|---|--|
| <u>Terres homogènes</u> | | | | |
| terre agricole | 1 | 10.6 | 195 | 5.4 |
| terre de fonderie de Zn (horizon 3-55cm) | 5 | 11.7 | 182 | 6.4 |
| terre de fonderie de Pb (horizon 0-30 cm) | 6 | 8.0 | 153 | 5.2 |
| <u>Superposition de 3 couches</u> | | | | |
| terre 5 > terre 5 + terre 1 > terre 1 | 7 | 16.0 | 321 | 5.0 |
| <u>Inclusions</u> | | | | |
| terre 1 + inclusions de terre 3 | 9 | 15.9 | 370 | 4.3 |
| terre 1 + inclusions de terre de fonderie de Zn | 10 | 14.8 | 334 | 4.4 |
| terre 1 + inclusion de poudre de Zn | 11 | 13.2 | 337 | 3.9 |

(*) (diamètre de la rosette rosette x 100) / longueur du système racinaire

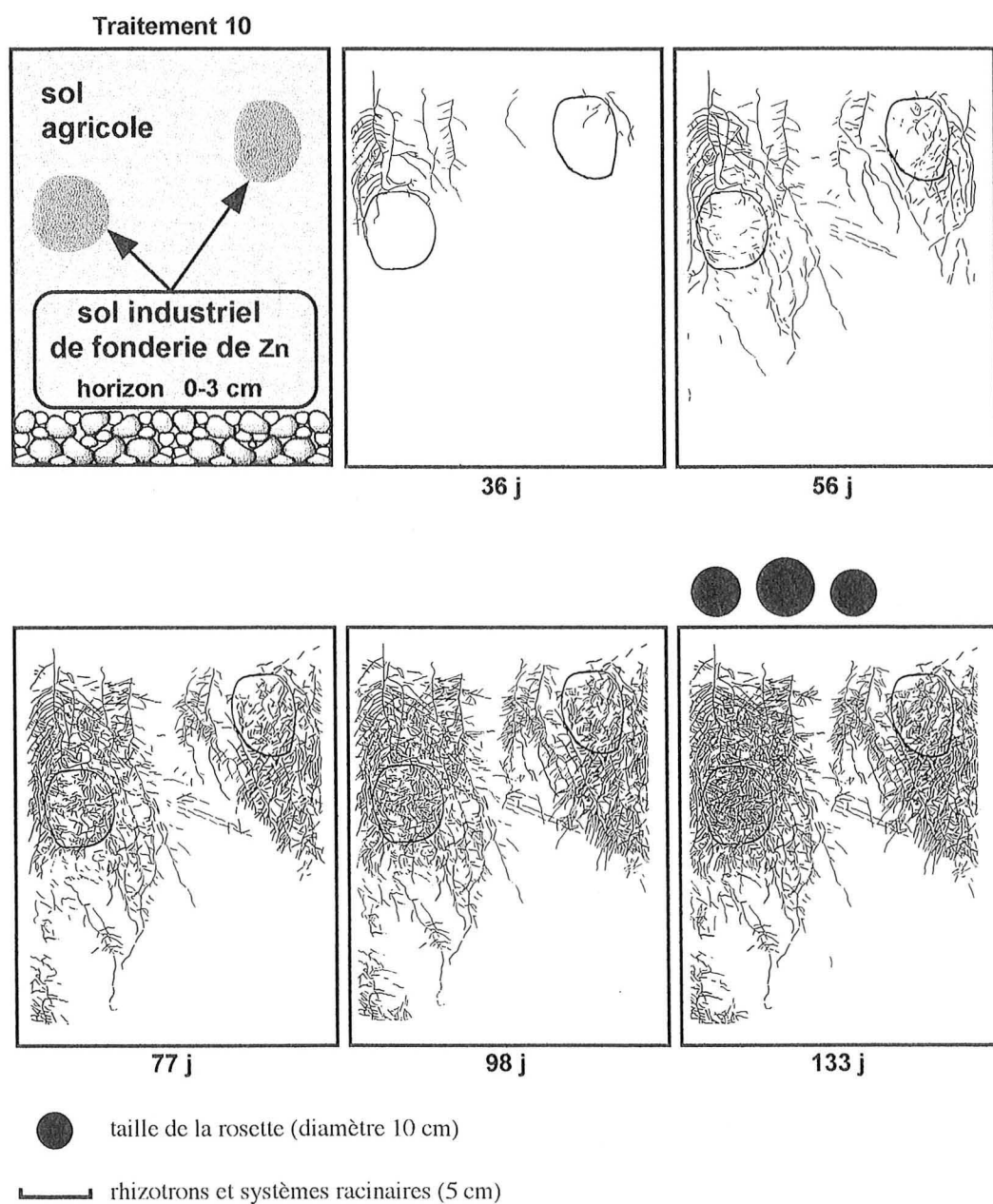


Figure 35. Cinétique de croissance et architecture du système racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé sur la terre agricole polluée par des taches de la terre de fonderie de Zn

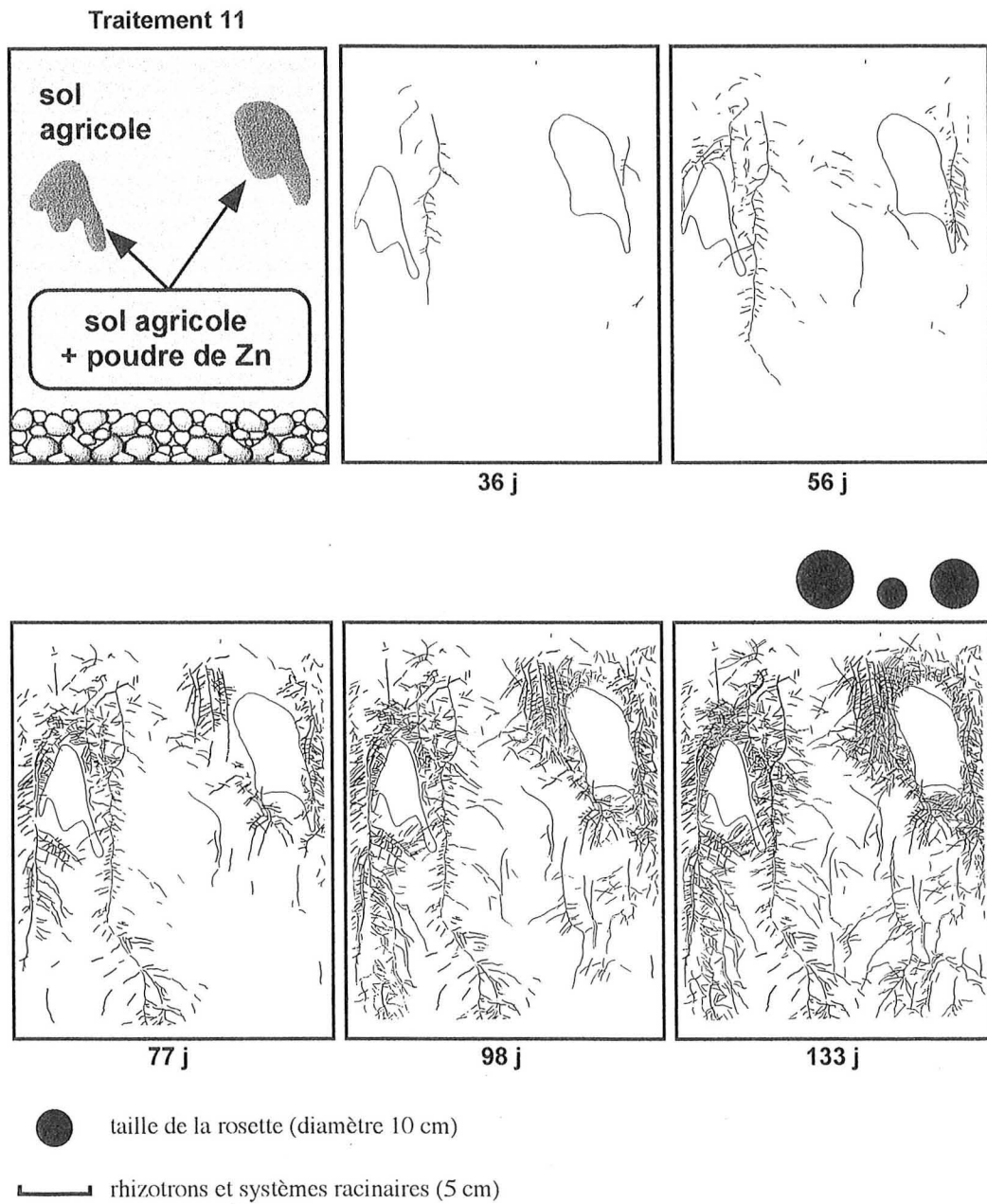


Figure 36. Cinétique de croissance et architecture du système racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé sur la terre agricole polluée par des taches de poudre de Zn



Photographie 11. Architecture racinaire de *T. caerulescens* en présence de taches de pollution

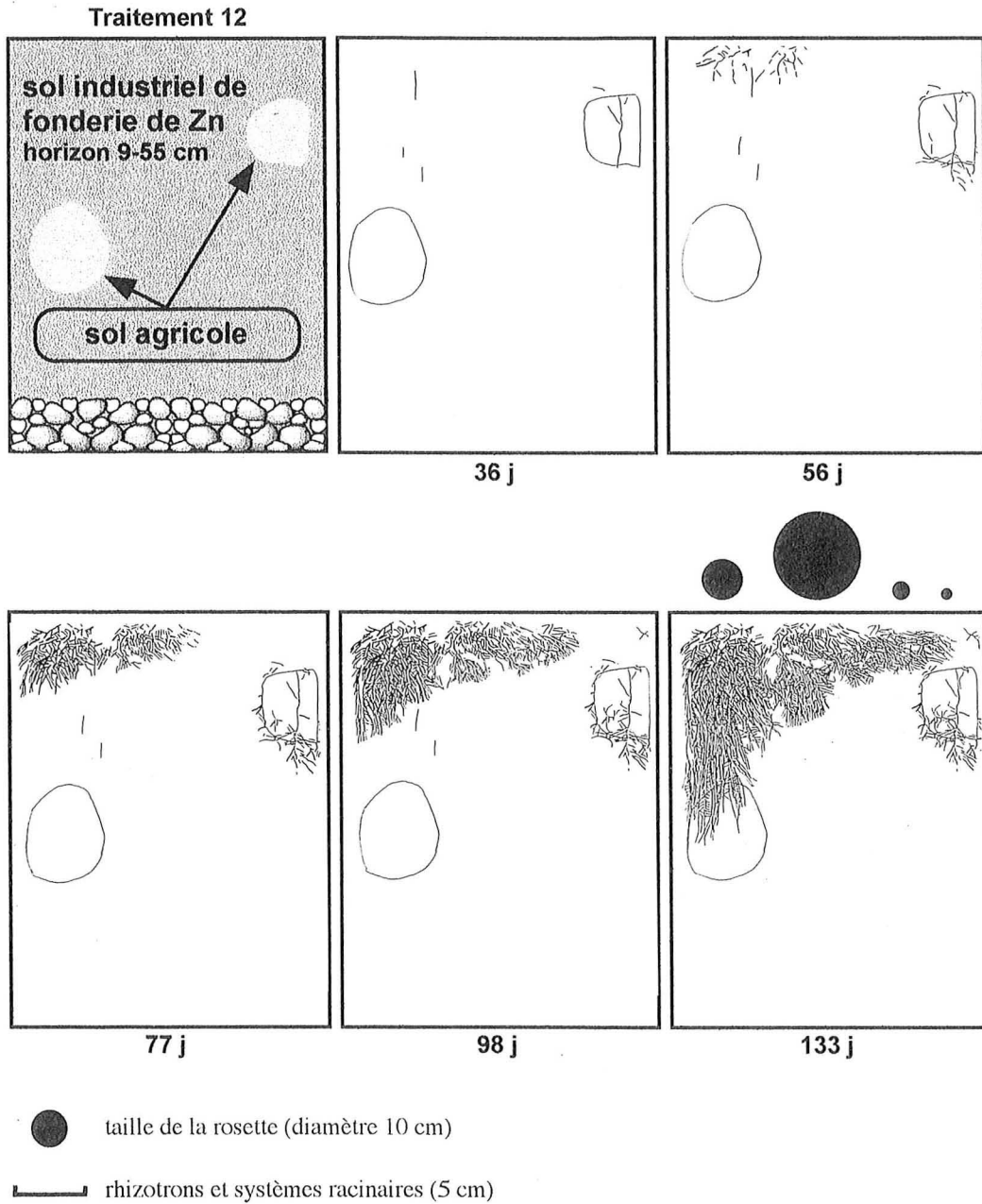


Figure 37. Cinétique de croissance et architecture du système racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé sur la terre de fonderie de Zn avec des taches de la terre agricole

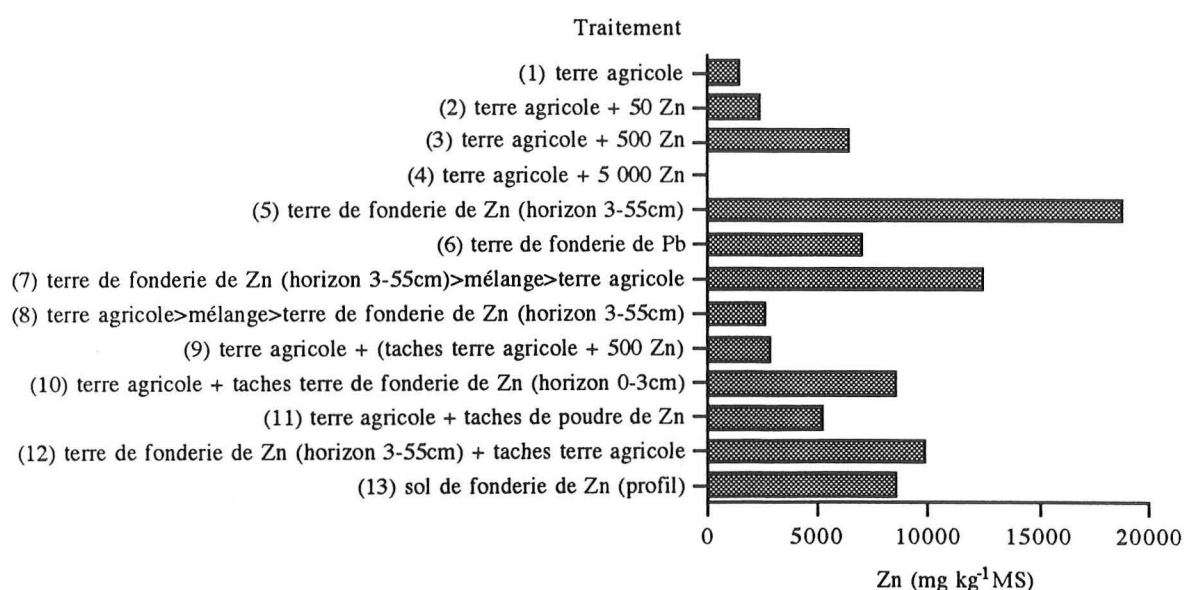
2.6. Modifications de pH dans la rhizosphère

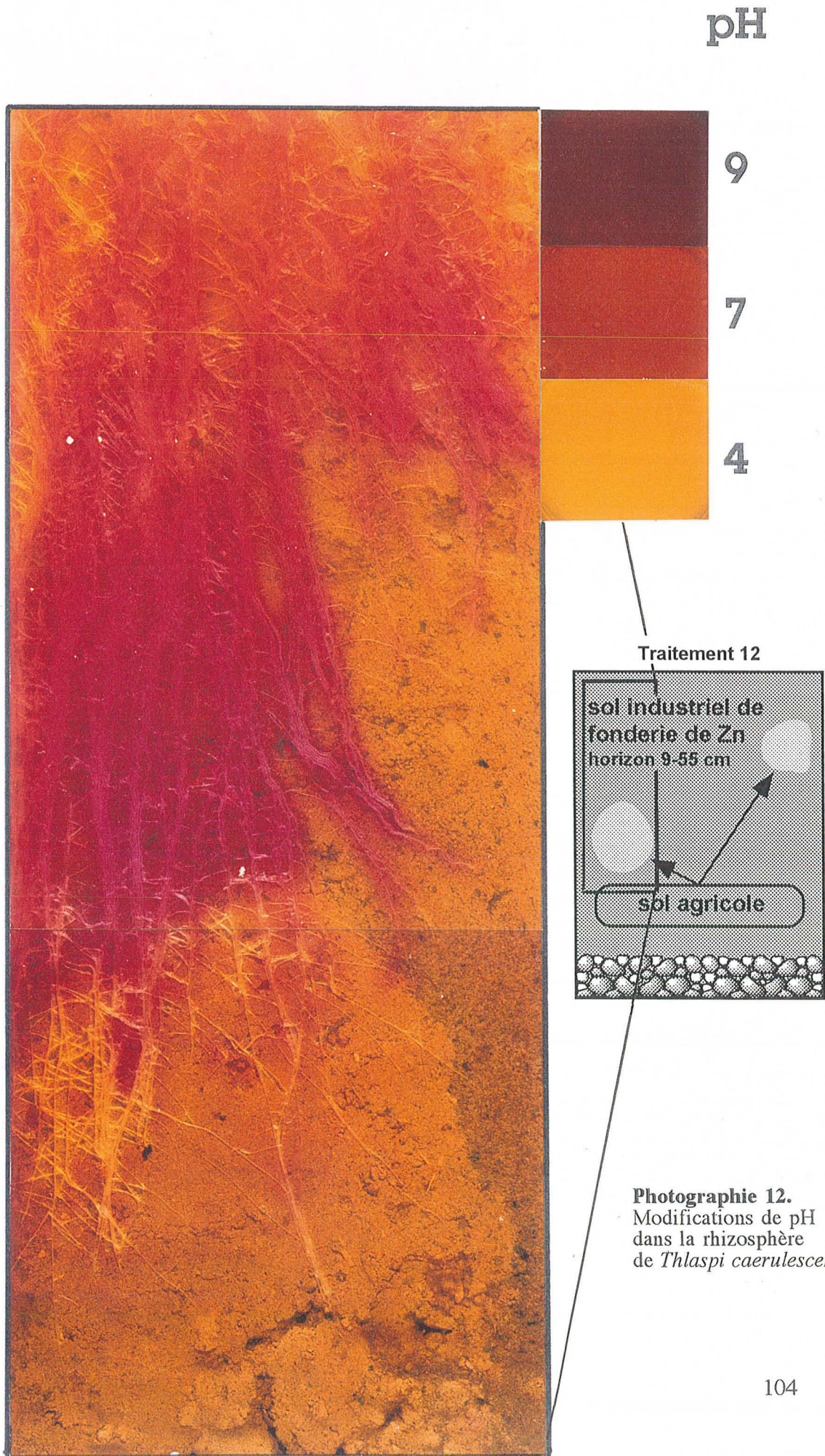
Le pourpre de bromocrésol indique un changement de pH entre pH 5,2 et 6,8 ; la coloration est jaune en-dessous de pH 5,2 et pourpre au-dessus de pH 6,8. Au voisinage des jeunes racines ou des apex racinaires, une coloration jaune s'est développée, indiquant l'acidification. Au contraire, au voisinage des racines plus âgées ou inactives, une augmentation du pH était enregistrée. Dans le traitement (12), la couleur jaune près des racines explorant la tache de sol agricole, indiquait une acidification, alors que près des racines dans le sol industriel la couleur était pourpre (Photographie 12). Dans le cas de la terre du sol de fonderie de Zn (5) au contraire, le gel était uniformément jaune au voisinage des racines. Cependant, les changements de couleur étaient moins intenses pour le traitement (5) que pour le traitement (12).

2.7. Extraction des métaux

La teneur de Zn la plus élevée dans la plante a été observée sur la terre d'ancienne fonderie de Zn (Figures 38 et 39). Lorsque cette terre était disposée en couches avec de la terre agricole ou renfermait des taches de terre agricole, la teneur du Zn dans les parties aériennes ont diminué. Dans le cas de la terre agricole polluée artificiellement par Zn, les teneurs de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens*, étaient proportionnelles aux doses croissantes d'apport de Zn. Les minéralomasses de Zn étaient inférieures à 10 mg par plante dans le cas des terres agricoles, de la terre de fonderie de Zn (profil entier non remanié), de la terre de fonderie de Pb et des terres agricoles avec des inclusions de terres polluées. Elles étaient les plus élevées, supérieures à 20 mg par plante, pour les plantes développées sur la terre d'ancienne fonderie de Zn (horizon 3-55 cm) homogène ou en couche supérieure en association avec de la terre agricole.

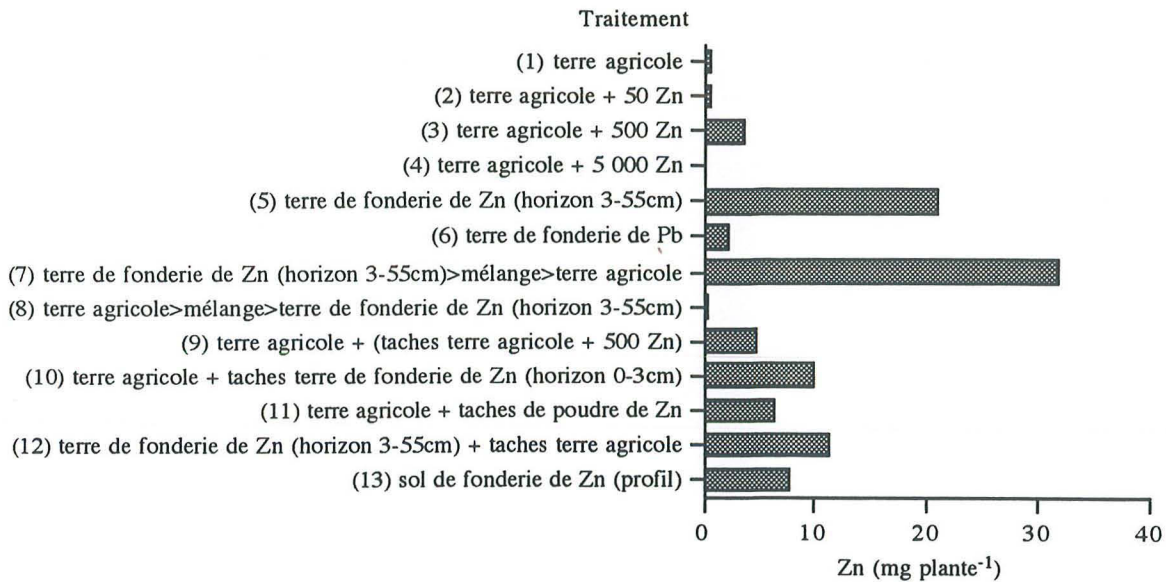
Figure 38. Teneurs de Zn des parties aériennes de *T. caerulescens* cultivé 130 j en rhizotrons





Photographie 12.
Modifications de pH
dans la rhizosphère
de *Thlaspi caerulescens*

Figure 39. Minéralomasse du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* cultivé 130 j en rhizotrons



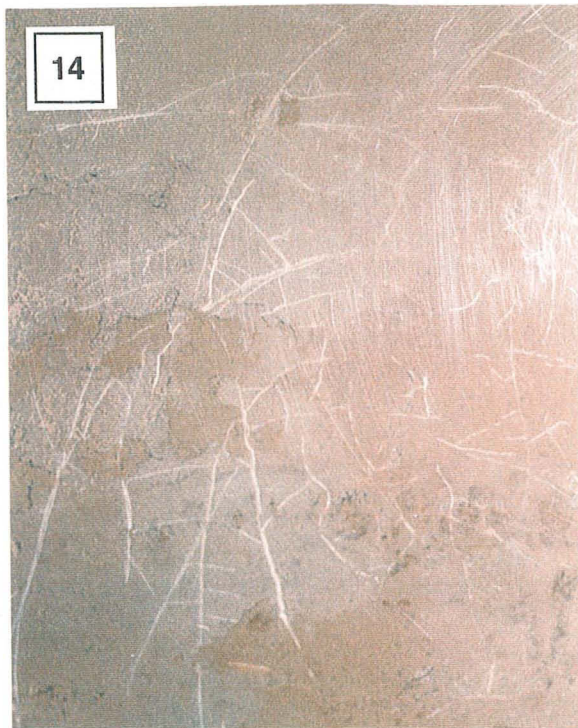
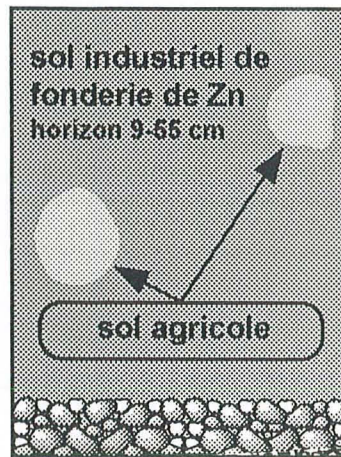
Les racines explorent les taches de terre agricole polluée par $ZnSO_4$ et de terre de fonderie de Zn et elles extraient le métal. Elles n'explorent pas les taches de poudre de Zn pour des raisons mécaniques. Cependant, elles enserrant fortement ces taches et prélèvent du Zn dans les zones de diffusion des taches.

3. Discussion

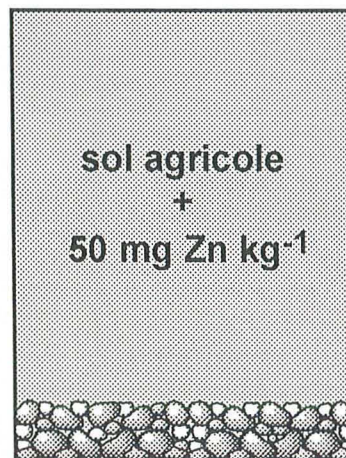
Contrairement aux racines des plantes de grande culture non-tolérantes qui s'installent préférentiellement dans les zones non contaminées des sols et pénètrent de façon limitée les sols contaminés (Wallace, 1980 ; Romney *et al.*, 1981; Perronnet, 1997), les racines de l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens* explorent de façon prédominante les zones polluées par le Zn. Elles ont montré deux principaux types de morphologies racinaires en fonction de la présence de Zn dans le sol - racines courtes en amas en présence de Zn et racines longues et fines dans des sols non contaminés (Photographies 13 et 14). Des expérimentations menées par Siegmar et Breckle (1986) ont montré que le système racinaire de *Fagus sylvatica* devient plus compact et plus ramifié en conséquence d'un stress métallique de Cd ou Pb. L'avantage d'une architecture racinaire dense pourrait être une production plus importante de cytokinine et une augmentation du prélèvement d'eau grâce à l'augmentation du nombre d'apex racinaires. Dans notre essai, l'architecture racinaire et la production de biomasse sèche de *T. caerulescens* ont varié considérablement en fonction de l'origine des terres, de la teneur, de la localisation et de la mobilité du Zn. La croissance racinaire était fortement réduite lorsque l'ensemble du profil était pollué par du Zn soluble ($ZnSO_4$) mais, quand seule une fraction du système racinaire était soumise à la pollution par le Zn, la croissance de l'ensemble du système racinaire a été stimulée et la morphologie générale des racines a changé. En dehors du mélange poudre de Zn et terre, la



Traitement 12



Traitement 2



Photographie 13 et 14.

Morphologies du système racinaire de *Thlaspi caerulescens*
racines courtes en amas en présence de Zn (13)
racines longues et fines dans une terre non contaminée (14)

densité apparente et la texture des sols n'ont pas été des facteurs contrôlant le développement racinaire. L'initiation et l'organisation des racines de *T. caerulescens* semblent être une réponse spécifique à la teneur et à la localisation du Zn dans le sol. Le principal facteur déterminant l'architecture racinaire de *T. caerulescens* semble être le Zn biodisponible du sol. Cette espèce qui co-accumule le Cd présente aussi le même comportement dans le cas d'inclusions de Cd dans de la terre non contaminée (Perronnet, 1997).

Les racines qui ont une forte vitesse d'élongation acidifient de façon intense la rhizosphère. C'est le concept de la « croissance acide » (Versel & Mayor, 1985). Nous avons observé un gradient de pH le long des axes racinaires de *T. caerulescens*. L'acidification était associée aux apex racinaires alors que les autres parties des racines montraient des pH plus élevés, comportement commun à de nombreuses espèces (Marschner, 1986). En absence de Zn, les racines en croissance de l'hyperaccumulateur ont induit une diminution du pH rhizosphérique qui a pu se répercuter sur la mobilité des métaux et des éléments nutritifs. Dans des terres polluées par le Zn, le même processus pourrait se produire mais un plus grand nombre de racines croissent et se divisent induisant une augmentation de l'acidification. Ainsi, plus le Zn est présent dans le sol, plus les racines seraient actives et l'absorption active du cation entraînerait une libération accrue de protons, et plus l'acidification de la rhizosphère est prononcée. La prolifération racinaire augmente la surface des racines par unité de volume de sol. Cela pourrait significativement augmenter l'extraction et satisfaire le besoin de Zn de la plante avec ou sans mobilisation par une acidification localisée. L'acidification semble moins intense sur l'ensemble du système racinaire sur sol industriel (5) qu'au voisinage des apex des racines sur sol agricole (12). Ceci suggère que dans un sol homogène l'acidification serait répartie le long de la racine en raison d'une forte quantité de Zn disponible. Lorsque l'acidification est surtout localisée aux extrémités racinaires, ce serait pour mobiliser d'autres éléments nutritifs des sols non contaminés en exsudant des protons qui seraient normalement exsudés tout le long de la racine jusqu'à l'apex parce que certains éléments nutritifs (par exemple P) sont peu mobiles dans les sols industriels. Ainsi la racine peut mobiliser P sans provoquer une toxicité accrue de Zn. Il est également possible que *T. caerulescens* ait besoin de zones de sol non contaminé où il pourrait acquérir d'autres éléments nutritifs. Ainsi la production de biomasse aérienne était plus élevée sur les traitements mixtes dans lesquels du sol agricole était présent.

4. Conclusion

La production de biomasse aérienne par *T. caerulescens*, les teneurs de métaux dans les feuilles et les minéralomasses extraites sont fonction de la nature, de l'intensité et de la localisation de la pollution métallique. Il en est de même pour la croissance et le développement du système racinaire. A des teneurs faibles de métaux dans les sols, la plante développe un système racinaire très ramifié et explore un grand volume de sol. A des teneurs moyennes à fortes de

métaux dans les sols, la plante développe un système racinaire peu ramifié, très dense et explore un faible volume de sol. Dans ce cas, les minéralomasses de Zn sont très élevées. Les variations dans la morphologie du système racinaire pourrait s'expliquer par une réponse à un stress, en analogie à la réponse à des excès ou des manques d'eau ou à une carence en éléments nutritifs. Les variations de pH dans la rhizosphère de *T. caerulescens* sont aussi fonction de la nature, de l'intensité et de la localisation de la pollution métallique; elles pourraient jouer un rôle significatif dans le transfert des métaux du sol aux parties aériennes de la plante. L'architecture du système racinaire a une signification dans l'exploitation des métaux, c'est à dire dans la tolérance et le prélèvement sous la diversité des situations sol / métaux. Dans des sols non pollués ou dans des sols présentant une localisation en taches de la pollution en Zn (ou éventuellement en Cd), le système racinaire de la plante explorerait un large volume de sol afin d'augmenter l'acquisition de Zn. Dans des sols pollués de façon homogène, l'exploration du sol serait plutôt faible. Dans des sols à contamination hétérogène, caractéristique de la majorité des sols urbains et industriels pollués, la majeure partie du système racinaire explorerait les zones polluées alors que le reste du système racinaire se développerait dans des zones moins polluées, assurant une augmentation du taux d'extraction des métaux. La diversité de la morphologie du système racinaire de *T. caerulescens* est une voie par laquelle cette espèce assure ses performances d'hyperaccumulation. En fait, la spécificité des hyperaccumulateurs pour certains métaux, *i.e.* *T. caerulescens* pour le Zn (et le Cd) qui s'exprime ici par un développement spécifique du système racinaire, est probablement le principal facteur qui contrôle l'efficacité de l'extraction des métaux. Ceci devra être vérifié pour la population de *T. caerulescens* originaire de Viviez.

CHAPITRE 6

**Phytoextraction de Cd et Zn
par *Thlaspi caerulescens*
en conditions de plein champ**

Après avoir étudié le comportement de *T. caerulescens* en conditions contrôlées, il était nécessaire de suivre son implantation ainsi que l'extraction des métaux dans les conditions du terrain afin de prendre en compte l'action des facteurs pédo-climatiques. Cette partie du travail devait permettre d'acquérir des informations sur l'aptitude de l'hyperaccumulateur à s'installer durablement sur des sols aux propriétés différentes de celles de son milieu d'origine et, sur le plan pratique, d'estimer la durée nécessaire à l'obtention d'une teneur en métaux dans le sol conforme à un objectif de dépollution. Deux situations ont été envisagées. Dans le premier cas, il s'agissait de tester l'aptitude de *T. caerulescens* à extraire les métaux apportés par des boues d'épuration urbaines chargées en métaux dans la perspective d'un maintien de la teneur du sol au niveau initial. Dans le second cas, l'essai était destiné à tester la capacité de *T. caerulescens* à s'installer et à extraire les métaux sur un sol de friche industrielle de cokerie dont l'une des caractéristiques majeures est de présenter des pollutions mixtes, métaux et hydrocarbures aromatiques polycycliques. Dans ce dernier cas, afin de favoriser l'implantation du végétal, le sol a été amendé avec une boue d'épuration présentant des teneurs faibles de métaux. Enfin un bilan de l'extraction du Zn par différentes espèces métallophytes et pseudo-métallophyte d'une pelouse métallicole sur le site d'une ancienne fonderie de Zn a été réalisé.

1. Phytoextraction de Cd et Zn d'un sol agricole amendé par une boue d'épuration urbaine chargée en métaux

L'objectif de ce premier essai de plein champ était de connaître l'aptitude d'une culture de plante hyperaccumulatrice à extraire les métaux apportés par une boue urbaine contaminée à un sol agricole. Deux campagnes de culture de *B. napus* (colza d'hiver) et de *T. caerulescens* après des apports de doses croissantes de boue d'épuration urbaine à fortes teneurs en métaux ont été conduites successivement pendant deux ans.

1.1. Dispositif expérimental

L'essai a été implanté sur une parcelle de la Ferme Expérimentale de l'ENSAIA située à la Bouzule (Meurthe et Moselle), sur un sol de type brun lessivé dont le profil et les caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans la Figure 5. Le pH de la terre de l'horizon de surface est de 7,3. Des sondages à la tarière ont permis de définir un secteur homogène sur une parcelle de pente très faible. La boue apportée est une boue urbaine digérée anaérobie déshydratée sur filtre à bande ayant subi un séchage thermique et présentant de fortes quantités

de métaux. Elle contient 46 g kg⁻¹ d'azote total dont 30 % d'azote ammoniacal. Son rapport C/N est de 6,8 et les teneurs de Cd, Ni, Pb et Zn sont respectivement 24, 101, 420 et 2 347 mg kg⁻¹ MS (Tableau 16). La valeur limite de teneur du métal de la norme est donc dépassée pour Cd (> 20 mg kg⁻¹ MS) et approchée pour Zn (3 000 mg kg⁻¹ MS). La boue a été apportée aux doses de 3 t MS ha⁻¹ an⁻¹ (B1) correspondant à 30 t MS ha⁻¹ 10 ans⁻¹, maximum préconisé par la norme NFU44041, et 15 t MS ha⁻¹ an⁻¹ (B2) soit 5 fois la quantité autorisée par la norme. Les quantités de Cd et de Zn maximales autorisées par la norme sont respectivement 60 g ha⁻¹ an⁻¹ et 9 kg ha⁻¹ an⁻¹. La boue apporte donc 7 et 35 kg Zn ha⁻¹ an⁻¹ et 73 et 366 g Cd ha⁻¹ an⁻¹ respectivement pour les doses d'apport B1 et B2. Les teneurs de Ni et Pb sont plus faibles que celles autorisées par la norme. Un traitement témoin (B0) n'a pas reçu de boue. Les apports de boue ont été faits chaque année. Le dispositif comportait 48 parcelles (16 parcelles B0, B1 et B2) de 2 m² chacune dont 36 ont été cultivées (12 parcelles pour chaque traitement B0, B1 et B2) et 12 ont été laissées nues (4 parcelles B0, B1 et B2) (Photographie 15 et Figure 40). L'essai a été conduit pendant deux cultures successives, en 1995-1996 et en 1996-1997.

1.2. Conduite des cultures

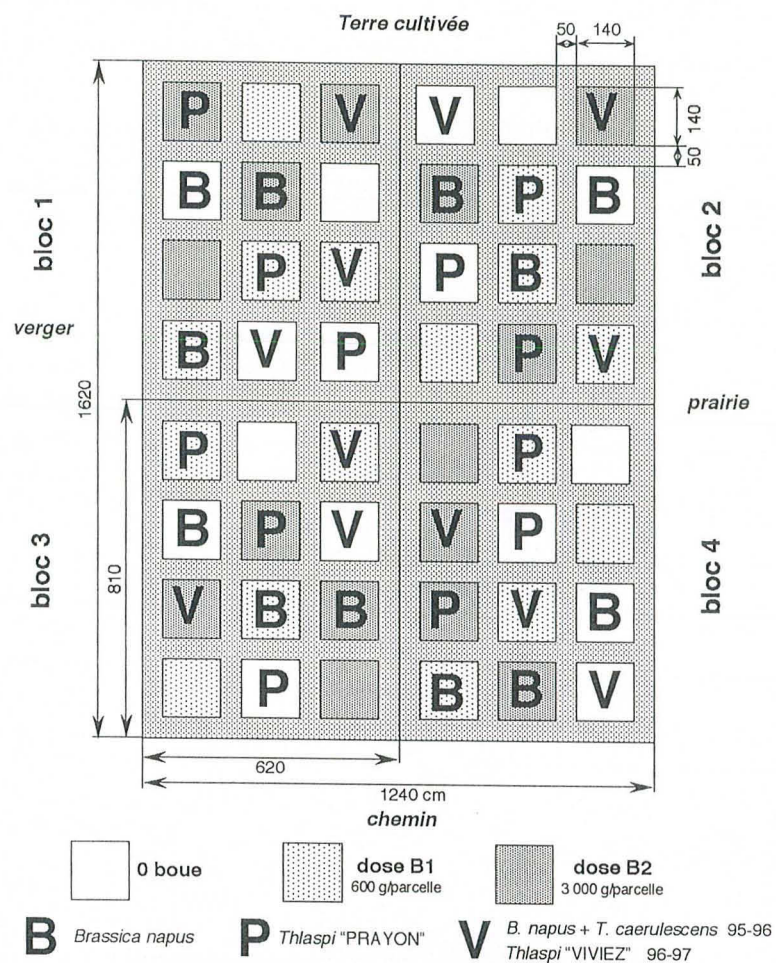
Les boues ont été réparties manuellement de façon homogène sur les parcelles B1 et B2 aux doses d'apport respectives de 600 et 3 000 g de matière sèche par parcelle et incorporées dans les 20 premiers cm du profil par un travail du sol manuel à la bêche. Lors de la campagne 1995-1996, les espèces cultivées étaient le colza d'hiver var. Goéland repiqué début octobre 1995 au stade 6 feuilles à la densité de 60 pieds m² et *T. caerulescens* originaire de Prayon semé à la densité de 100 pieds m². Une troisième modalité était l'association de ces deux plantes avec une densité de 18 pieds de colza m² et 50 pieds de *T. caerulescens* m². Les plantules de *T. caerulescens* n'ayant pas résisté à l'hiver, nous avons repiqué des plantes le 27 mars 1996. En 1996-1997, les plantes cultivées étaient le colza var. Goéland, *T. caerulescens* originaire de Prayon et *T. caerulescens* originaire de Viviez qui a été cultivé sur les parcelles qui étaient en association végétale durant la campagne précédente. Une fertilisation uniforme de 130 kg de sulfate d'ammoniaque ha⁻¹ a été effectuée le 30 avril 1995 et le 3 avril 1997 sur toutes les parcelles. Le désherbage a été effectué à la main. Des traitements insecticides et anti-limaces ont été effectués en fonction des attaques parasitaires. Les données météorologiques locales ont été fournies par le Centre INRA de Champenoux voisin de l'essai (Figure 41, p.126).

1.3. Récolte et analyses

A l'issue de chaque campagne, le colza a été récolté à la maturité des graines soit le 11 juillet 1996 et le 7 juillet 1997. En 1996, tous les individus ont été récoltés. En 1997, 15 pieds ont été récoltés par parcelle suivant un plan aléatoire en éliminant les 2 rangs périphériques. Durant cette campagne, une récolte supplémentaire de 15 pieds par parcelle a été effectuée au stade fin floraison afin de déterminer les teneurs des métaux dans les feuilles. Pour *T. caerulescens*, les récoltes ont eu lieu le 30 juillet 1996 et le 9 juillet 1997. Chaque individu de chaque parcelle a

Figure 40., Photographie 15.

Plan et vue aérienne de l'essai en conditions de plein champ



été prélevé, lavé à l'eau courante séché à l'étuve et pesé individuellement. Les plantes ont été réparties dans des classes de poids de matière sèche ensuite broyées et homogénéisées pour constituer des échantillons pour analyse représentatifs de chaque parcelle et de chaque classe de poids. La production de biomasse aérienne et les minéralomasses aériennes de Cd et Zn ont été déterminées par organe pour le colza et pour la plante entière *T. caerulescens*. Le développement du système racinaire de *T. caerulescens* a été observé à la récolte de la campagne 96-97.

1.4. Résultats

1.4.1. Production de biomasse

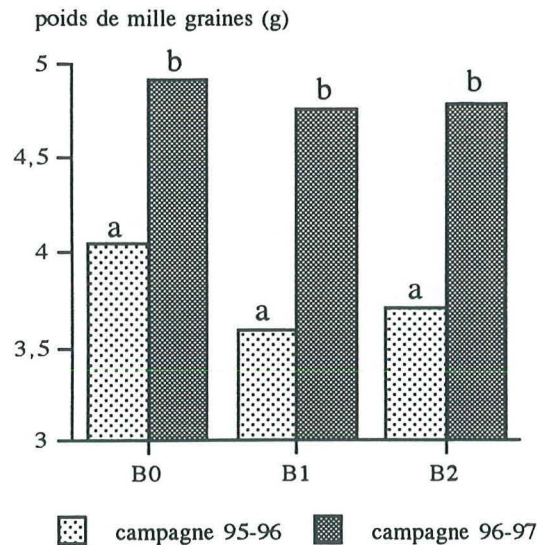
Le colza s'est développé normalement durant les deux campagnes. Le principal résultat est une production de biomasse accrue en présence de boues. La réponse aux boues était plus marquée sur la production de tiges que sur la production de siliques (Tableau 37). La production de biomasse par le colza a été divisée par deux lorsque la densité est passée de 18 à 60 pieds m².

Tableau 37. Production de biomasse sèche aérienne par le colza en fonction des doses croissantes de boue d'épuration urbaine en conditions de plein champ (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| | dose de boue urbaine | | |
|--|------------------------|-----------|-----------|
| | B0 | B1 | B2 |
| Campagne 95-96 18 pieds m ² | g plante ⁻¹ | | |
| tiges | 17 ± 9 | 15 ± 5 | 22 ± 9 |
| siliques | 9 ± 3 | 16 ± 5 | 15 ± 5 |
| Campagne 95-96 60 pieds m ² | g plante ⁻¹ | | |
| tiges | 5 ± 2 | 6 ± 1 | 10 ± 6 |
| siliques | 5 ± 2 | 6 ± 1 | 7 ± 3 |
| Campagne 96-97 60 pieds m ² | g plante ⁻¹ | | |
| tiges | 4,3 ± 0,3 | 4,2 ± 0,8 | 5,7 ± 1,3 |
| siliques | 5,4 ± 1,0 | 5,7 ± 1,3 | 7,4 ± 1,7 |

Le poids de mille graines a subi une évolution inverse, avec la dose de 15 t ha⁻¹ le poids de mille graines a chuté de plus de 0,5 g. Cette diminution n'est toutefois pas significative. A la récolte 96-97 le poids de mille graines était pratiquement le double de celui de la première année (Figure 42).

Figure 42. Poids de mille graines du colza en fonction des doses croissantes de boues d'épuration urbaine en conditions de plein champ (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)



T. caerulescens s'est installé et développé sur les différents traitements à l'exception de l'association avec le colza lors de la campagne 95-96. Là aussi, un "effet boue" sur la production de matière sèche aérienne de *T. caerulescens* a été enregistré avec la dose de boue de 15 t ha⁻¹. Par contre, la dose réglementaire de 3 t ha⁻¹ n'a pas entraîné de modification de la production de biomasse par *T. caerulescens* par rapport au témoin (Tableau 38). Le poids des hampes florales composées des graines et de leurs enveloppes des plantes *T. caerulescens* originaire aussi bien de Prayon que de Viviez a montré un accroissement en présence de boues en 96-97 (Tableau 38 et Photographies 16 et 17). L'observation du système racinaire de *T. caerulescens* a permis de constater une colonisation préférentielle des amas de boue par les racines alors qu'en absence de boue, le système racinaire était plutôt diffus (Photographie 18). Les types morphologiques décrits en rhizotrons (Chapitre 5) ont ainsi été confirmés en conditions de terrain.

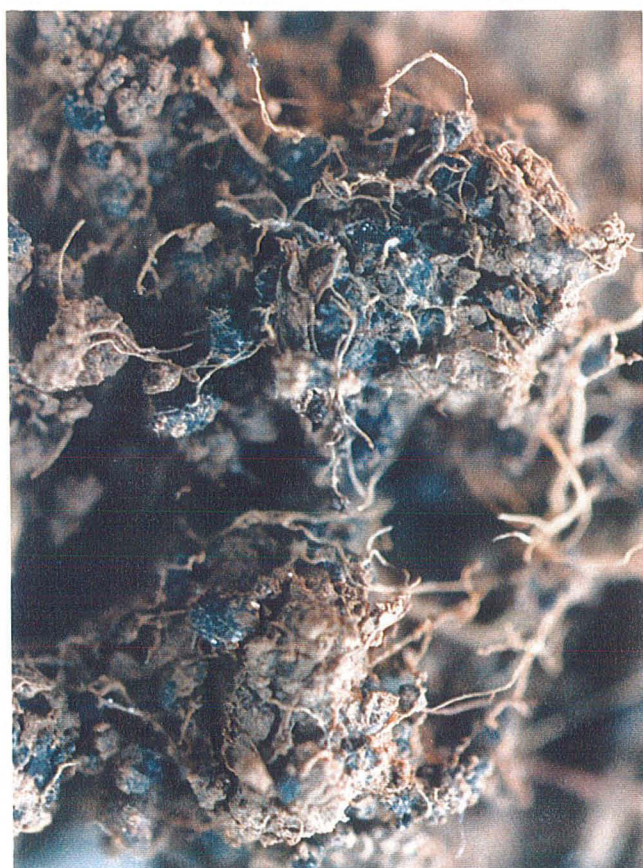
Tableau 38. Production de biomasse aérienne par *T. caerulescens* en fonction des doses croissantes de boue d'épuration urbaine en conditions de plein champ (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| | dose de boue | | |
|-------------------------------------|---------------------------|-------------|-------------|
| | B0 | B1 | B2 |
| Parties aériennes | g MS plante ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon 95-96 | 1,64 ± 0,65 | 1,62 ± 0,50 | 2,10 ± 1,00 |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon 96-97 | 1,71 ± 0,15 | 1,67 ± 0,18 | 2,55 ± 0,28 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez 96-97 | 1,08 ± 0,09 | 1,03 ± 0,08 | 1,59 ± 0,17 |
| Hampes florales campagne 96-97 | g MS plante ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 0,39 ± 0,11 | 0,43 ± 0,10 | 0,62 ± 0,26 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | 1,29 ± 0,64 | 0,89 ± 0,45 | 1,87 ± 0,66 |



Photographie 16 et 17.

Thlaspi caerulescens originaire de Prayon (16) et de Viviez (17) en graines sur le sol agricole ayant reçu un apport de boue urbaine



Photographie 18. Architecture racinaire de *Thlaspi caerulescens* cultivé en conditions de plein champ sur le sol agricole ayant reçu un apport de boue urbaine (gauche) et sans apport de boue urbaine (droite) vue générale (haut) et détail (bas)

La répartition des individus dans les classes de poids de matière sèche se fait au profit de la classe C3 lorsque la dose d'apport de boue augmente (Tableau 39).

Tableau 39. Pourcentage d'individus dans chaque classe de poids de matière sèche par plante (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g)
(B0 : aucun apport ; B1 : $3 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$; B2 : $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$)

| | dose de boue | | |
|-------------------------------|---|----|----|
| | B0 | B1 | B2 |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | % d'individus par rapport au total (n=1007) | | |
| C1 | 43 | 45 | 29 |
| C2 | 51 | 51 | 60 |
| C3 | 6 | 5 | 11 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | % d'individus par rapport au total (n=1114) | | |
| C1 | 61 | 61 | 44 |
| C2 | 47 | 34 | 40 |
| C3 | 2 | 5 | 16 |

1.4.2. Extraction des métaux

Colza

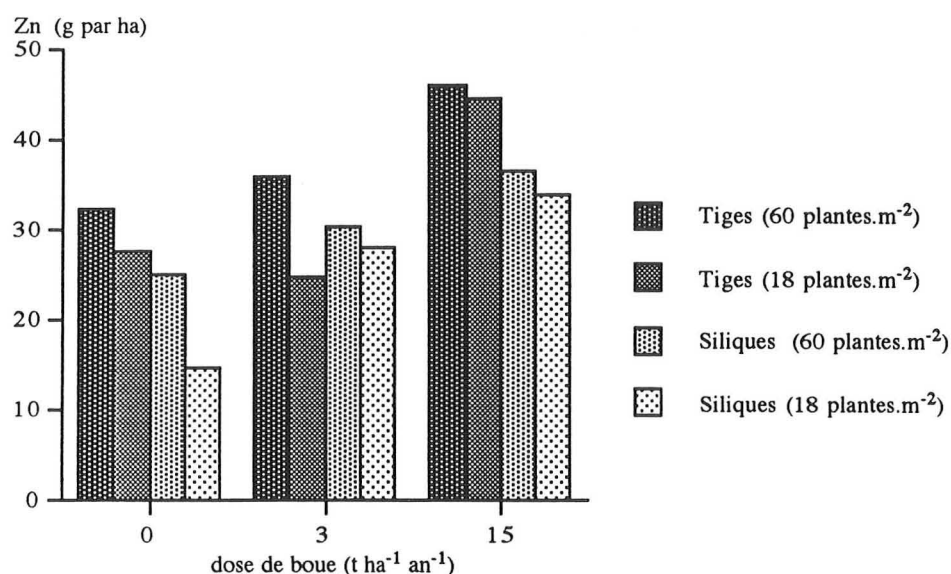
Les apports de boue n'ont pas entraîné d'augmentation significative de la teneur de Cd et Zn dans les tiges et les siliques et les graines du colza (Tableau 40). Les teneurs de Cd dans les graines du colza étaient très faibles et inférieures au seuil de détection de l'appareil de mesure. En 96-97, les teneurs de Zn dans les graines étaient respectivement de 42 et de 38 mg kg^{-1} pour les traitements B0 et B2. Par contre, la teneur du Zn des feuilles de colza récoltée au stade fin floraison a augmenté avec les doses de boue.

Tableau 40. Teneurs de Zn dans les parties aériennes du colza en fonction des doses croissantes de boue d'épuration urbaine en conditions de plein champ (B0 : aucun apport ; B1 : $3 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$; B2 : $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$)

| | dose de boue urbaine | | |
|--------------------------------------|----------------------|----------------|-----------------|
| | B0 | B1 | B2 |
| Campagne 95-96 18 pieds m^2 | mg kg^{-1} | | |
| tiges | $9,6 \pm 2,8$ | $9,5 \pm 1,9$ | $10,4 \pm 1,7$ |
| siliques | $8,9 \pm 0,8$ | $9,5 \pm 0,9$ | $11,6 \pm 1,1$ |
| Campagne 95-96 60 pieds m^2 | mg kg^{-1} | | |
| tiges | $13,7 \pm 1,3$ | $13,7 \pm 2,8$ | $12,8 \pm 1,1$ |
| siliques | $10,3 \pm 1,2$ | $12,0 \pm 3,3$ | $10,1 \pm 1,4$ |
| Campagne 96-97 60 pieds m^2 | mg kg^{-1} | | |
| feuilles | $16,0 \pm 5,5$ | $27,5 \pm 1,7$ | $38,2 \pm 15,5$ |

Les exportations de Zn par les parties aériennes, tiges et siliques, du colza cultivé sur les parcelles ayant reçu des apports de boue ont été, en 95-96, plus élevées que sur les parcelles témoins (Figure 43). Les tiges ont exporté plus de Zn que les siliques. Les exportations étaient plus élevées à la densité de 60 pieds m^{-2} qu'à celle de 16 pieds m^{-2} . Ces résultats non significatifs expriment une tendance qui n'a pas pu être confirmée en 96-97, ne disposant que des teneurs des métaux dans les feuilles de colza.

Figure 43. Exportations de Zn par les parties aériennes du colza en fonction des doses croissantes de boue d'épuration urbaine en conditions de plein champ, 95-96



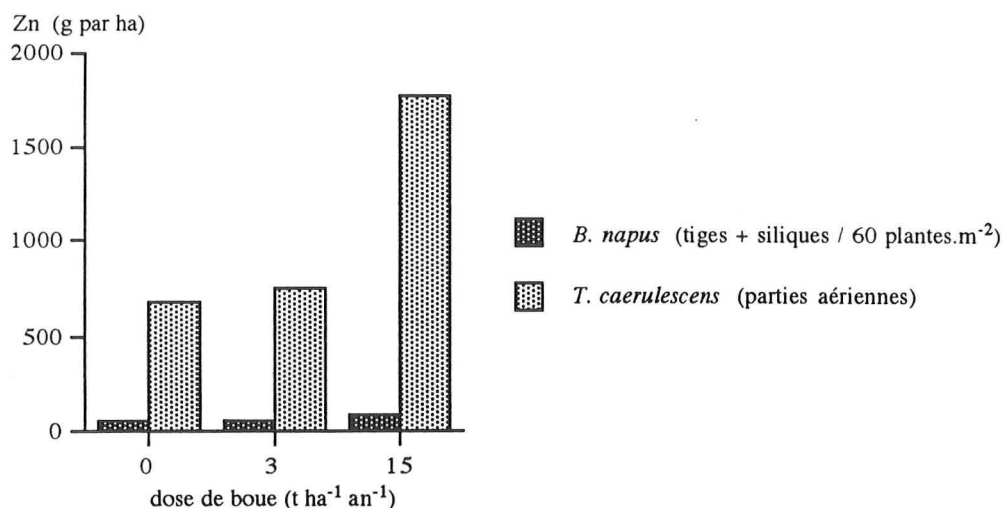
Thlaspi

La teneur du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* de Prayon et de Viviez aux deux campagnes de culture a augmenté avec les apports de boues (Tableau 41). La teneur du Zn a été environ multipliée par 2 par rapport au témoin avec la dose B2. La teneur du Cd n'a pas été modifiée dans *T. caerulescens* Prayon. Par contre, dans *T. caerulescens* Viviez elle a fortement augmenté avec les doses de boue (Tableau 41). Elle était 2,4 fois plus élevée dans les parcelles B2 que dans les parcelles B0.

Tableau 41. Teneurs de Zn et Cd dans les parties aériennes de *T. caerulescens* en fonction des doses croissantes de boue d'épuration urbaine en conditions de plein champ (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| Zn | dose de boue urbaine | | |
|-------------------------------|----------------------|------------|-------------|
| | B0 | B1 | B2 |
| Campagne 95-96 | mg kg ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 409 ± 79 | 480 ± 110 | 846 ± 234 |
| Campagne 96-97 | mg kg ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 1205 ± 250 | 1327 ± 277 | 1485 ± 208 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | 1366 ± 598 | 1993 ± 282 | 2582 ± 936 |
| Cd | | | |
| Campagne 95-96 | mg kg ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 0,6 ± 0,2 | 0,6 ± 0,1 | 0,6 ± 0,2 |
| Campagne 96-97 | mg kg ⁻¹ | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 0,8 ± 0,4 | 1,2 ± 0,5 | 0,7 ± 0,2 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | 16,0 ± 5,5 | 27,5 ± 1,7 | 38,2 ± 15,5 |

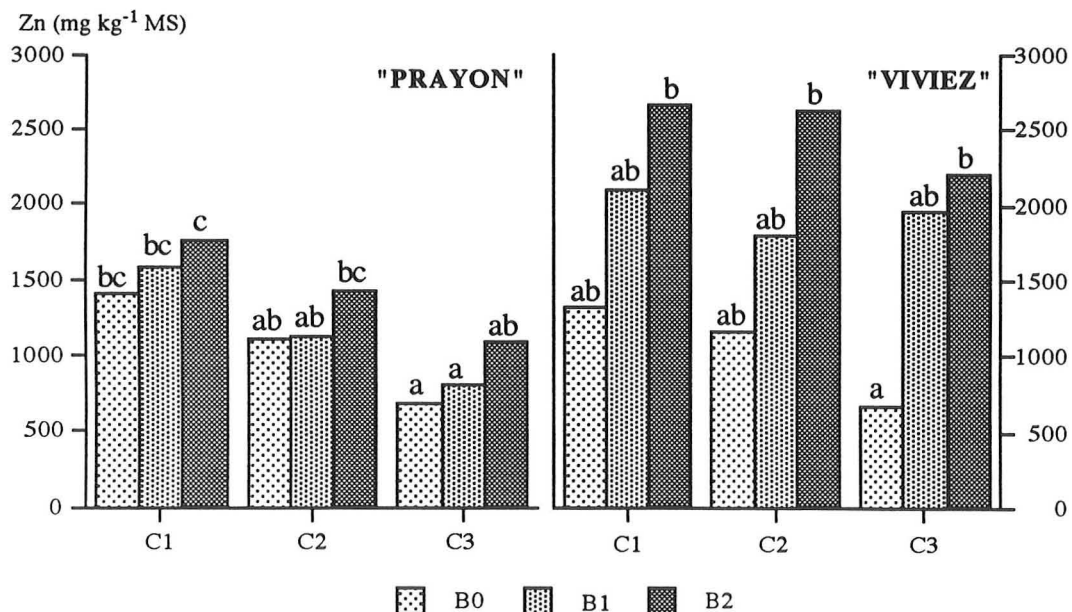
Les parties aériennes de *T. caerulescens* ont exporté plus de 10 fois plus de Zn du sol que le colza malgré une production de biomasse environ 10 fois inférieure (Figure 44). Quant au Cd, *T. caerulescens* Viviez a exporté de 14 (B1) à 30 (B2) fois plus de Cd que *T. caerulescens* Prayon.

Figure 44. Exportations de Zn par les parties aériennes du colza et de *T. caerulescens* en fonction des doses croissantes de boue urbaine en conditions de plein champ Campagne 96-97

1.4.3. Teneurs des métaux et classes de poids des plantes

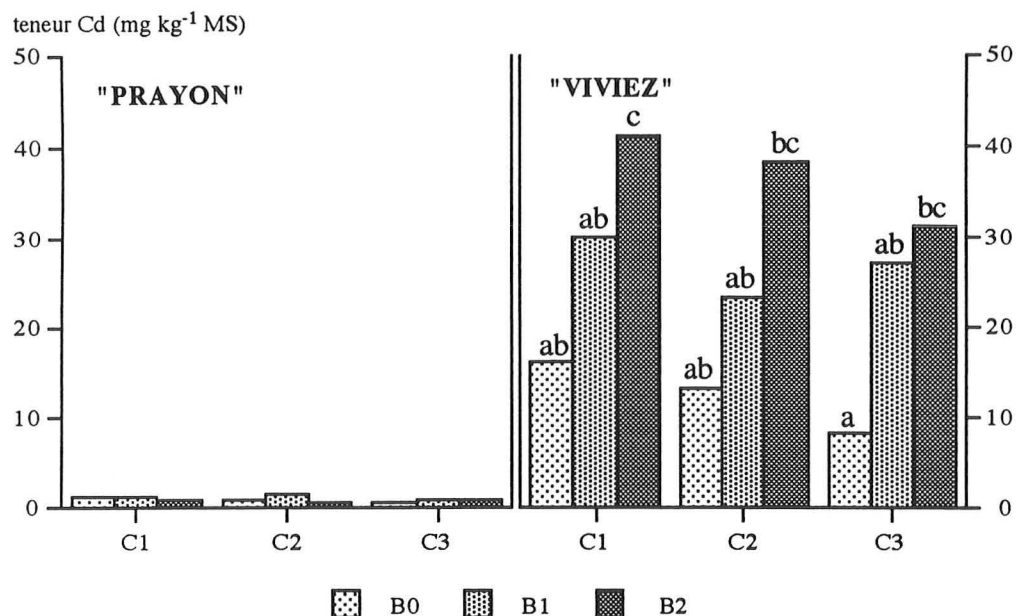
Les teneurs des métaux en fonction des classes de poids des plantes ont été établies pour la campagne 96-97. La teneur du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* Prayon et Viviez tend à diminuer lorsque la taille de la plante augmente (Figure 45). Toutefois la diminution n'est significative que pour *T. caerulescens* Prayon entre C1 et C3. Pour *T. caerulescens* Viviez, en dehors du traitement B0, la teneur du Zn est remarquablement constante d'une classe de poids à l'autre. Au sein de chaque classe de poids la teneur du Zn dans *Thlaspi* a augmenté avec les doses de boue. La différence n'est significative que pour *T. caerulescens* Viviez de la classe C3 (≥ 5 g). Aux doses B1 et B2, les teneurs du Zn des plantes d'une même classe de poids pour *T. caerulescens* Viviez sont systématiquement supérieures à celles de Prayon.

Figure 45. Teneurs de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon et Viviez) en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante et de la dose de boue urbaine apportée pendant 2 ans (B0 : aucun apport ; B1 : $3 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$; B2 $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$) (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g)



Les teneurs du Cd dans les parties aériennes de *Thlaspi* en fonction des classes de poids suivent la même évolution que celles du Zn (Figure 46). Il faut surtout remarquer que *T. caerulescens* Viviez offre toujours des teneurs de Cd très nettement supérieures à celles de Prayon qui sont négligeables. *Thlaspi* Viviez s'avère donc un véritable accumulateur de Cd. Il montre une très forte réponse à la présence de boue pour le Cd comme pour le Zn. Là aussi, les teneurs du Cd en fonction des classes de poids varient peu.

Figure 46. Teneurs de Cd dans les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon et Viviez) en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante et de la dose de boue urbaine apportée pendant 2 ans (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 15 t ha⁻¹ an⁻¹) (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g)



Les exportations de Cd et de Zn sont exprimées en masse de métal par plante. Malgré une production de biomasse supérieure, *Thlaspi* Prayon exporte moins de Zn que *Thlaspi* Viviez (Figure 47). la différence n'est significative que pour la classe de poids élevée (C3). Pour *Thlaspi* Viviez, la production de biomasse semble s'accompagner d'un prélèvement de Zn plus élevé. Viviez aurait des besoins en Zn beaucoup plus élevés que Prayon car, quand il produit une grande quantité de biomasse, il accumule plus de Zn. Les exportations de Cd montrent des résultats encore plus spectaculaires liés au fait que la biomasse de *Thlaspi* Viviez est plus concentrée en Cd. Là aussi, ce sont les plus grosses plantes qui exportent le plus de Cd, car l'augmentation de biomasse ne s'est pas traduite par une baisse de la concentration du Cd dans les tissus (Figure 48). *Thlaspi* Viviez constitue donc un meilleur outil de base que Prayon pour développer la phytoextraction des métaux toxiques comme Cd.

Figure 47. Exportations de Zn par les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon et Viviez) en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante et de la dose de boue urbaine apportée pendant 2 ans (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 15 t ha⁻¹ an⁻¹) (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g)

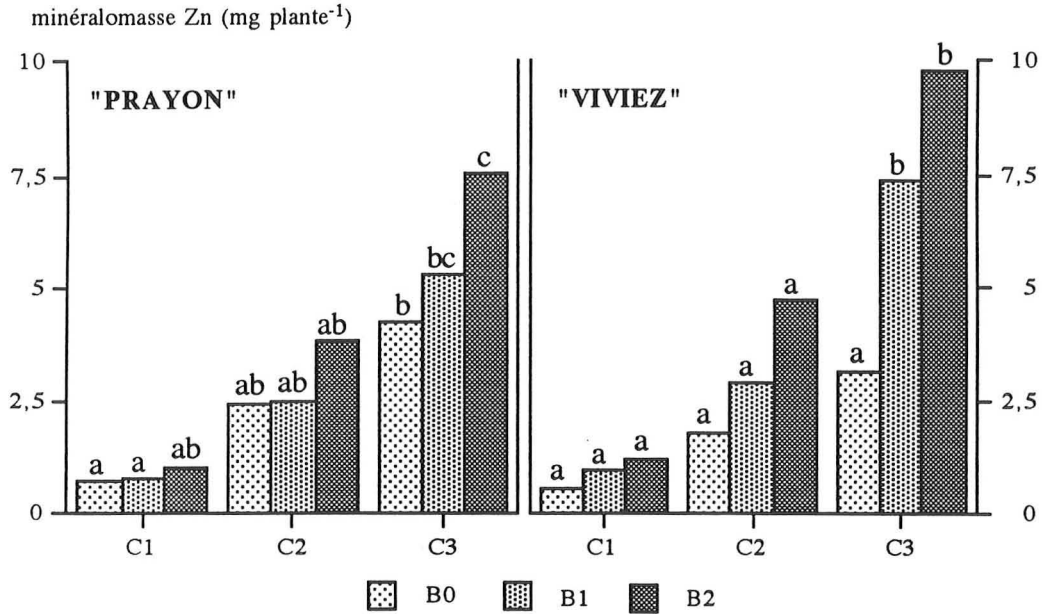
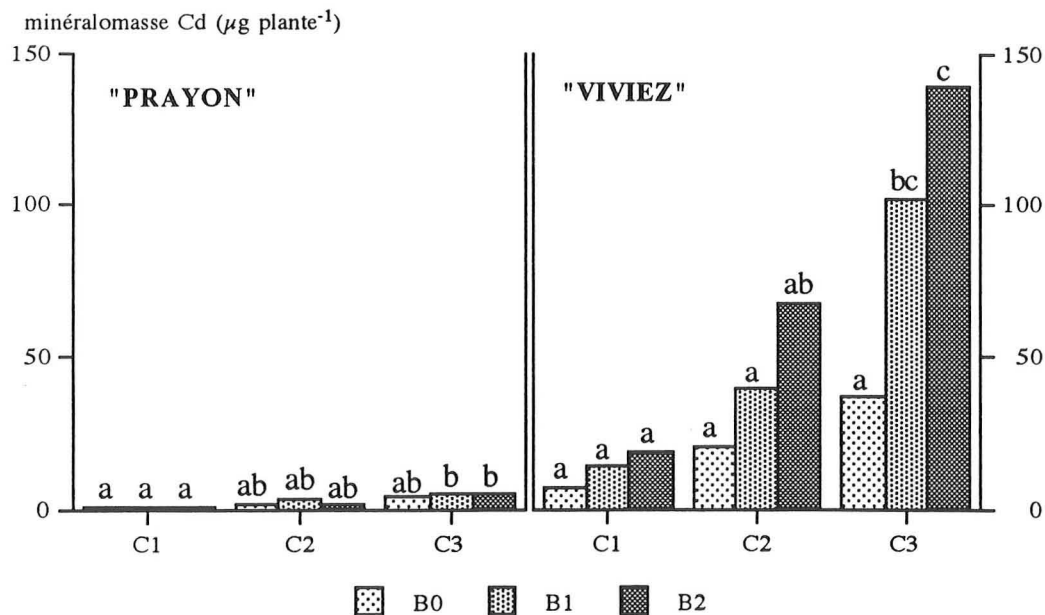


Figure 48. Exportations de Cd par les parties aériennes de *T. caerulescens* (Prayon et Viviez) en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante et de la dose de boue urbaine apportée pendant 2 ans (B0 : aucun apport ; B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 15 t ha⁻¹ an⁻¹) (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g)



1.5. Discussion

Des apports répétés de boue d'épuration favorisent le rendement des cultures en raison notamment d'un effet azote marqué (Juste & Solda, 1977 ; Morel *et al.*, 1988) mais aussi de la valeur phosphatée des boues (Sommellier *et al.*, 1996) et d'une action positive sur la structure du sol (Morel & Jacquin, 1980). Notre essai, conduit en conditions de plein champ, confirme une nouvelle fois l'action favorable des boues sur le rendement, avec un arrière effet sensible deux années après l'épandage.

Les boues d'épuration urbaines introduisent aussi dans les sols agricoles des métaux qui ont tendance à s'accumuler dans l'horizon de surface (Morel & Guckert, 1984 ; MacGrath, 1987 ; McGrath & Lane, 1989 ; Ferguson, 1990 ; Juste & Mench, 1992 ; McGrath & Cegarra, 1992 ; Juste *et al.*, 1995 ; McBride, 1995 ; Tsalidas *et al.*, 1995). L'accumulation peut alors compromettre la qualité du sol dans la mesure où les métaux apportés par les boues peuvent être transférés vers les parties aériennes des végétaux. C'est une raison pour laquelle on assimile souvent épandage de boue et contamination des sols par les métaux (Chassin & Juste, 1997). Dans notre expérimentation, les boues utilisées contenaient des niveaux élevés de métaux. Leur incorporation dans le sol s'est accompagnée d'une augmentation de la teneur du Zn et du Cd totaux dans la terre de surface qui peut être estimée à 0,05 et 0,24 mg Cd kg⁻¹ et 5 et 23 mg Zn kg⁻¹ respectivement pour les doses d'apport B1 et B2. Les plantes cultivées sur ces parcelles ont répondu de manière différente à la présence des métaux dans le sol. Tout d'abord, le colza n'a pas montré d'accroissement significatif de Cd et Zn dans les tissus avec les apports de boues. Pour *Thlaspi*, par contre, les teneurs de ces deux métaux ont été fortement augmentées par les apports de boues. En général, pour la plupart des espèces, lorsque la biomasse augmente, la teneur des éléments traces tend à diminuer dans les tissus. Dans le cas de *Thlaspi*, cet effet de dilution est très modéré, traduisant son fort besoin interne de Zn. La même conclusion peut-être faite pour le Cd dont la concentration dans les tissus est peu modifiée par l'accroissement de biomasse. Il en résulte que les exportations de Zn et de Cd augmentent considérablement alors de la production de biomasse s'accroît. Par conséquent, dans une perspective de développement de la phytoextraction, il serait préférable de s'orienter prioritairement vers les espèces hyperaccumulatrices que vers d'autres espèces produisant plus de biomasse mais dans laquelle les métaux absorbés auront tendance à être dilués. Nos travaux montrent que la biomasse de *Thlaspi* peut être augmentée fortement par une fertilisation appropriée où l'azote paraît jouer un rôle essentiel.

Le genre *Thlaspi* présente plusieurs espèces hyperaccumulatrices de Zn avec des capacités d'accumulation différentes. Dans le cas de *T. caerulescens*, de telles différences sont observables d'une population à l'autre. En effet, *Thlaspi* originaire de Viviez a montré une remarquable capacité à extraire le Cd du sol alors que *Thlaspi* Prayon ne présentait que des teneurs faibles de cet élément dans les tissus. Dans le même temps, la teneur du Zn était légèrement plus faible pour *Thlaspi* Prayon que pour *Thlaspi* Viviez. La similitude du devenir de

ces deux métaux, Cd et Zn, dans le système sol-plante est une nouvelle fois mise en évidence. Par conséquent, la population de *T. caerulescens* de Viviez offre un potentiel élevé pour le développement de la phytoextraction. Enfin, pour une même origine, la réponse des plantes varie très largement tant en ce qui concerne la production de biomasse que la teneur des métaux ce qui représente un atout important pour la sélection des individus les plus efficaces.

2. Phytoextraction de Cd et Zn d'un sol de friche industrielle de cokerie

Les sols de friches industrielles sont des lieux de transfert et des sources potentielles de métaux pour l'homme et les écosystèmes. Des particules de terre polluée peuvent ainsi être entraînées par le vent et contaminer des végétaux potentiellement ingérés par l'homme. Des métaux peuvent également migrer vers les eaux souterraines par lessivage ou vers les eaux de surface par ruissellement. La décontamination doit être entreprise si la présence des métaux constitue un risque en raison de leur biodisponibilité. Par ailleurs, une alternative au recyclage en agriculture et à l'incinération des boues urbaines pourrait être la valorisation des boues pour des opérations de reverdissement et de stabilisation de terrains dégradés qui n'ont pas une vocation agricole comme des friches industrielles par exemple. Des applications massives de boues ont par exemple permis de réhabiliter des sols dégradés ou de végétaliser des terrils miniers favorisant l'installation rapide et durable de la végétation (Clément *et al.*, 1978 ; Morel *et al.*, 1992). Notre essai était destiné à tester la capacité de *T. caerulescens* à s'installer et à extraire les métaux sur un sol de friche industrielle de cokerie dont l'une des caractéristiques majeures est de présenter des pollutions mixtes, métaux et hydrocarbures aromatiques polycycliques. Afin de favoriser l'implantation, le sol a été amendé avec une boue d'épuration urbaine présentant des teneurs faibles de métaux.

2.1. Dispositif expérimental

L'installation d'un essai sur une friche industrielle se heurte à l'hétérogénéité horizontale et verticale marquée des sols. Aussi, des observations ont été conduites sur une zone d'environ 6000 m² du site de l'ancienne cokerie décrite au chapitre 2. Toute la zone présentait une forte colonisation par des végétaux herbacés variés. Quinze profils d'une profondeur maximum de 30 cm ont été ouverts suivant un maillage carré et 15 échantillons de terre ont été effectués. L'observation des profils a permis d'estimer l'aptitude des sols à supporter des végétaux (présence de végétation spontanée, épaisseur de l'horizon de surface, texture, structure, teneur en éléments grossiers, présence de dalles de béton...). Au total, 3 t de la terre de l'horizon de surface ont été prélevées sur trois zones ainsi sélectionnées. La terre a été tamisée à 50 mm, homogénéisée à la pelle et transportée en camion depuis le site de cokerie jusqu'à l'ENSAIA/INPL pour remplir des bacs lysimétriques. Les caractéristiques physico-chimiques de la terre et les teneurs des métaux sont décrites dans le Chapitre 2 (Figure 8, Tableau 16). Le pH de la terre est de 8,8. Les teneurs de Cd et de Zn extractibles à l'eau régale sont

respectivement 0,68 mg kg⁻¹ et 1 340 mg kg⁻¹, les teneurs de Zn extractible au nitrate d'ammonium et à l'eau sont respectivement 0,3 et 0,2 mg kg⁻¹. La terre étudiée est donc polluée par Zn mais pas par Cd, la teneur étant très légèrement supérieure à la moyenne des sols français de 0,53 mg kg⁻¹. L'essai est réalisé à moins grande échelle que sur le site agricole précédemment étudié mais toujours en conditions naturelles. Il est composé de 24 bacs (L 80 X l 60 X h 40) disposés en 4 blocs (Photographie 19). Le fond des bacs est constitué d'une couche drainante de 5 cm d'épaisseur de graviers. Les bacs sont reliés à des bonbonnes permettant de récupérer les eaux de percolation après les épisodes pluvieux. Les traitements suivants sont appliqués au sol. Le quart des bacs ne reçoit pas d'apports de boue (B0). Les 18 bacs restants reçoivent un épandage de boue à la dose de 15 t ha⁻¹ an⁻¹ (B2) soit cinq fois la dose préconisée par la norme NFU44041 (150 t MS ha⁻¹ 10 ans⁻¹). La boue provient d'une station d'épuration urbaine et contient 51,2 g kg⁻¹ d'azote total dont 21 % d'azote ammoniacal. Son rapport C/N est de 8,1 et les teneurs de Cd, Ni, Pb et Zn sont respectivement 2,4 ; 31 ; 122 et 868 mg kg⁻¹ MS, se situant nettement en dessous des valeurs de la norme NFU44041 et à hauteur des concentrations moyennes des métaux dans les boues d'épuration urbaines françaises (Juste *et al.*, 1995).

Les boues sont réparties manuellement de façon homogène sur les bacs B2. Le travail du sol a été effectué manuellement et les boues ont été incorporées dans les 15 premiers cm du profil. Les espèces cultivées sont le colza d'hiver var. Goéland, le colza de printemps var. Jaguar et *T. caerulescens* originaire de Prayon. Le colza d'hiver et *T. caerulescens* ont été semés le 3 octobre 1996 aux densités relatives de 60 et 200 pieds m⁻². Le colza n'ayant pas survécu à l'hiver 96-97, un nouveau semis de colza de printemps var. Jaguar a été réalisé le 30 avril 1997 à une densité de 60 pieds m⁻². Une fertilisation uniforme de 130 kg de sulfate d'ammoniaque ha⁻¹ a été effectuée le 14 mai 1997. Le désherbage a été effectué manuellement laissant les plantes arrachées sur les bacs. Des traitements insecticides et anti-limaces ont été réalisés en fonction des risques pour les cultures. Les données météorologiques locales ont été enregistrées par une station météorologique implantée sur le site de l'essai (Figure 41).

2.2. Récolte et analyses

T. caerulescens a été récolté le 15 juillet 1997, lavé à l'eau, séché à l'étuve et pesé individuellement. Le colza a été récolté au stade fin floraison le 4 juillet 1997. Tous les individus ont été récoltés individuellement. La production de biomasse aérienne a été déterminée pour *Thlaspi* et le colza. Les tiges, les feuilles et les siliques du colza ont été pesées séparément. Les plantes ont été broyées dans un broyeur en agate et homogénéisées pour constituer des échantillons représentatifs de chaque traitement. Les minéralomasses aériennes de Cd et Zn ont été déterminées pour la plante entière *Thlaspi*. Le développement du système racinaire de *T. caerulescens* a été observé à la récolte.

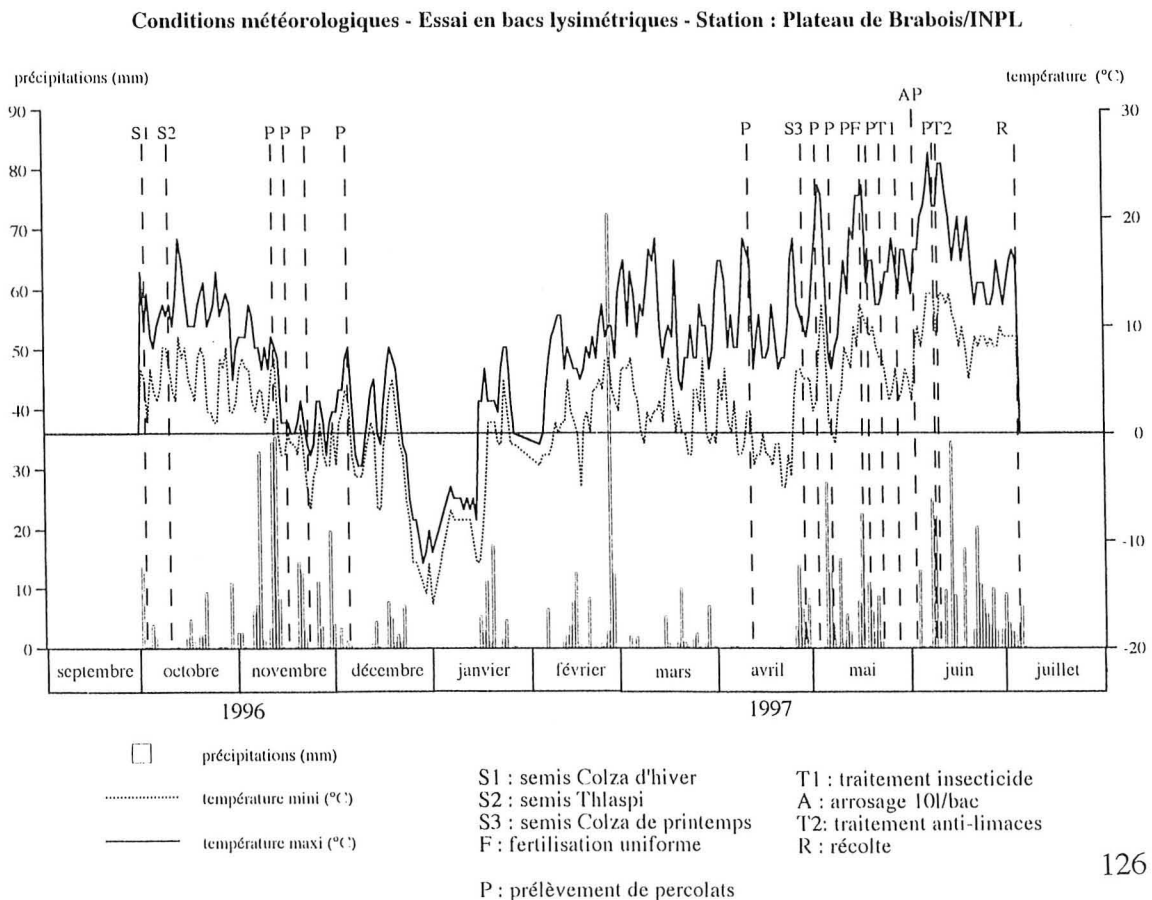
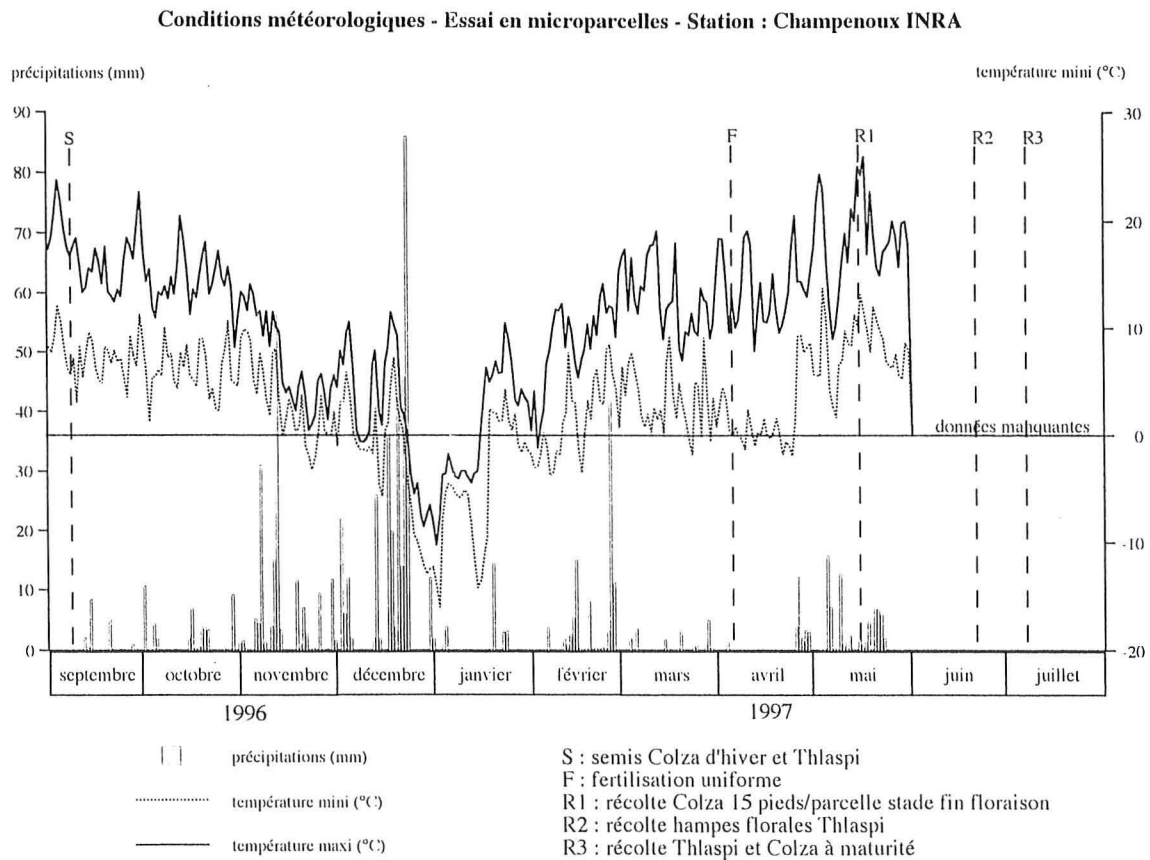


Photographie 19. Bacs lysimétriques de terre de friche industrielle de cokerie



Photographie 20. *Thlaspi caerulescens* sur terre de friche industrielle de cokerie ayant reçu un apport de boue urbaine

Figure 41. Conditions météorologiques des deux sites d'essais en conditions de plein champ



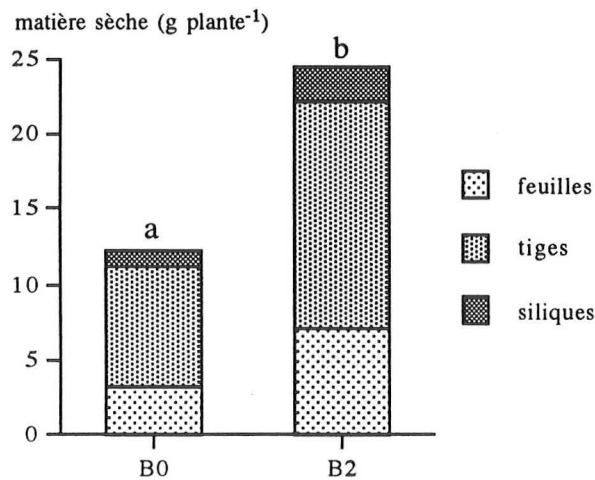
2.3. Résultats

Thlaspi et le colza ont été cultivés en lysimètres sur un sol de cokerie présentant une multipollution et amendé avec une boue d'épuration. Nous allons successivement décrire les productions de biomasse, *i.e.* l'aptitude des plantes à s'installer et les extractions de Zn, *i.e.* la phytoextraction.

2.3.1. Production de biomasse

La production de biomasse aérienne du colza de printemps cultivé sur le sol de cokerie a augmenté significativement en présence de boue urbaine (Figure 49).

Figure 49. Production de biomasse sèche par les parties aériennes du colza récolté au stade fin floraison en fonction de l'organe et de la dose de boue urbaine (B0 : aucun apport ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)



Contrairement au colza d'hiver, *T. caerulescens* semé sur la terre de cokerie installée dans les bacs à l'automne 1996 a très majoritairement survécu aux conditions climatiques lorraines de l'hiver 96-97 (Figure 41). L'hyperaccumulateur s'est développé et a formé un couvert végétal très dense sur toute la surface des bacs (Photographie 20). L'apport de boue d'épuration urbaine au sol de cokerie a eu un effet spectaculaire sur la production de biomasse par *T. caerulescens* (Tableau 42, Photographies 21, 22, 23). Le système racinaire de *Thlaspi* était très dense et a colonisé tout le volume de terre des bacs (Photographie 24 et 25).



Photographie 21.
Thlaspi caerulescens sur
terre de friche industrielle
de cokerie ayant reçu
un apport de boue urbaine



Photographie 22.
Thlaspi caerulescens sur
terre de friche industrielle
de cokerie



Photographie 23.
Terre de friche industrielle
de cokerie nue



Photographie 24.
Colonisation racinaire de la terre de friche industrielle de cokerie par *Thlaspi caerulescens*

Photographie 25.
Architecture racinaire de *Thlaspi caerulescens*

Photographie 26.
Variabilité de la taille de *Thlaspi caerulescens*
(3 plantes ayant subi les mêmes traitements)

Tableau 42. Production de biomasse des parties aériennes de *T. caerulescens* en fonction de la dose de boue urbaine en bacs-lysimétriques (B0 : aucun apport ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| dose de boue urbaine | |
|------------------------|-------------|
| B0 | B2 |
| g plante ⁻¹ | |
| 1,17 ± 0,05 | 1,53 ± 0,15 |

Avec un apport de boue le nombre des individus des classes supérieures de poids de matière sèche s'accroît, en tendance, au détriment des autres classes (Tableau 43).

Tableau 43. Pourcentage d'individus dans chaque classe de poids de matière sèche (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g (B0 : aucun apport ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹))

| | dose de boue urbaine | |
|----|-------------------------------|----|
| | B0 | B2 |
| | % du nombre total d'individus | |
| C1 | 56 | 54 |
| C2 | 43 | 40 |
| C3 | 1 | 6 |

2.3.2. Extraction des métaux

Les teneurs de métaux dans les parties aériennes du colza n'ont pas été déterminées. La teneur du Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* Prayon est plus faible que celle obtenue dans l'essai de plein champ sur sol agricole amendé avec une boue contaminée. Elle est inférieure à 1000 mg Zn kg⁻¹ MS, correspondant à la moitié du niveau atteint sur sol de fonderie de Pb (Chapitre 3). Lorsque la boue urbaine est apportée à la terre de cokerie un léger accroissement de la teneur de Zn est observé (Tableau 44). Les teneurs de Cd sont très faibles et ne sont pas modifiées par l'apport de boue (Tableau 44).

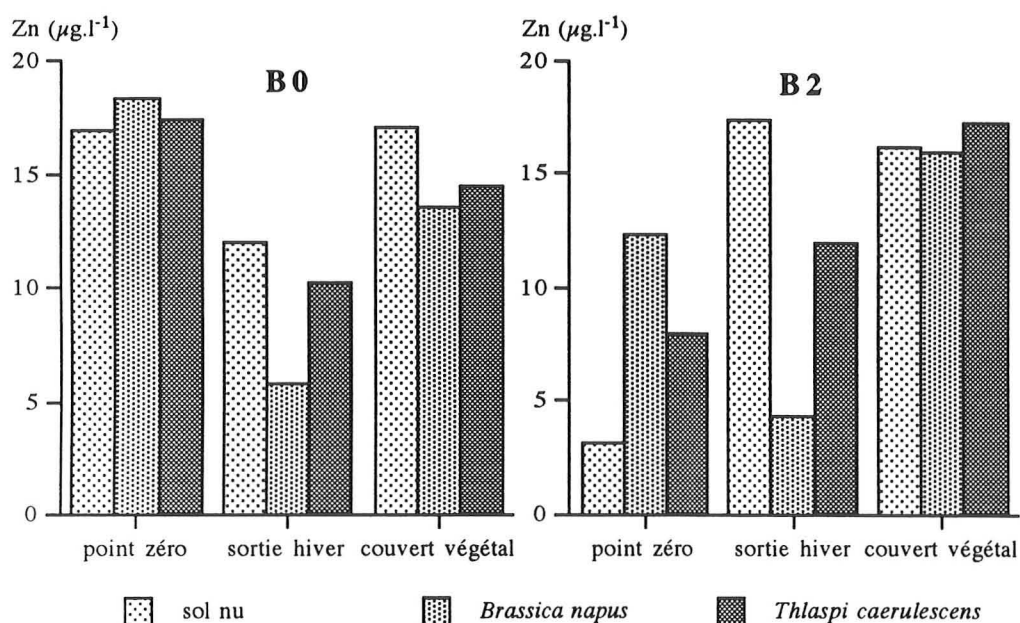
Tableau 44. Teneurs de Cd et de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* Prayon en fonction de la dose de boue urbaine apportée au sol de cokerie (B0 : aucun apport ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| | dose de boue urbaine | |
|----|----------------------|-----------|
| | B0 | B2 |
| | mg kg ⁻¹ | |
| Zn | 704 ± 96 | 877 ± 106 |
| Cd | 1,0 ± 0,2 | 1,1 ± 0,2 |

2.3.3. Teneur du Zn dans les eaux de percolation

Trois campagnes de prélèvement d'eau de drainage ont été réalisées, au moment de l'épandage de boue, à la sortie de l'hiver et en présence d'un couvert végétal (Figure 41). Les volumes d'eau récoltés n'étaient pas significativement différents entre les lysimètres. Les dosages de Zn dans les eaux ont été effectués sur une seule répétition et ne peuvent être interprétés qu'en tendance. Les teneurs de Zn étaient toujours inférieures à $20 \mu\text{g l}^{-1}$ (Figure 50) et variaient en fonction de l'apport de boue et de la date de prélèvement. En absence de boue, les teneurs de Zn étaient supérieures au début de l'essai à celles mesurées à la sortie de l'hiver. C'est avec le colza que les teneurs étaient les plus faibles. Puis une remontée des teneurs a été observée en période de forte activité biologique. L'incorporation de la boue a été suivie d'une baisse du Zn dans les eaux de percolation. Par contre, à la sortie de l'hiver, en sol nu, la teneur du Zn était relativement élevée.

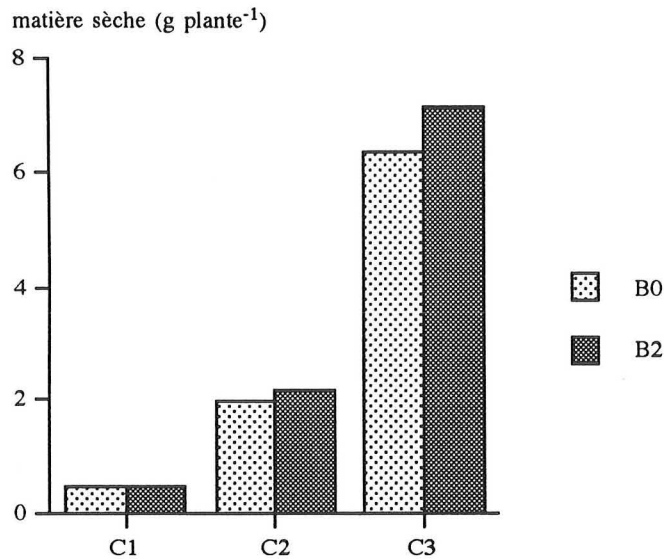
Figure 50. Teneurs du zinc dans les eaux de percolation en fonction de l'apport de boue d'épuration urbaine à un sol de cokerie (B0 : aucun apport ; B2 $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$) de l'espèce végétale cultivée et de la date de prélèvement
point zéro : 12.11.96 ; sortie hiver : 11.04.97 ; couvert végétal : 09.06.97



2.3.4. Relations entre les teneurs des métaux et les classes de poids des plantes

Là aussi une très forte variabilité de la croissance de *Thlaspi* est observée en fonction des individus. Alors que certaines plantes produisent très peu de biomasse (<1 g MS), d'autres, au contraire, atteignent une masse très importante (jusqu'à 13 g MS) (Photographie 26). L'apport de boues augmente la matière sèche moyenne des plantes (Figure 51).

Figure 51. Classes de poids de matière sèche de *T. caerulescens*
 C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g
 dose de boue urbaine B0 : aucun apport ; B2 : $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$



La teneur du Zn dans les parties aériennes de *Thlaspi* tend à diminuer avec l'augmentation de la biomasse. En absence de boue la diminution n'est pas significative. Avec les boues, la teneur du Zn est supérieure mais elle décroît significativement de la classe C1 à la classe C2 (Figure 52).

Figure 52. Teneurs du zinc dans les parties aériennes de *T. caerulescens*
 en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante
 (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g) et de la dose de boue urbaine
 apportée pendant 1 ans (B0 : aucun apport ; B2 : $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$)

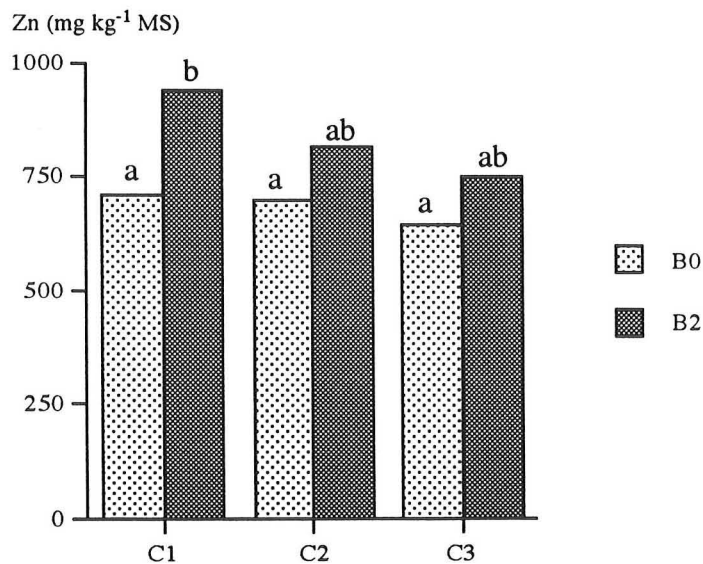
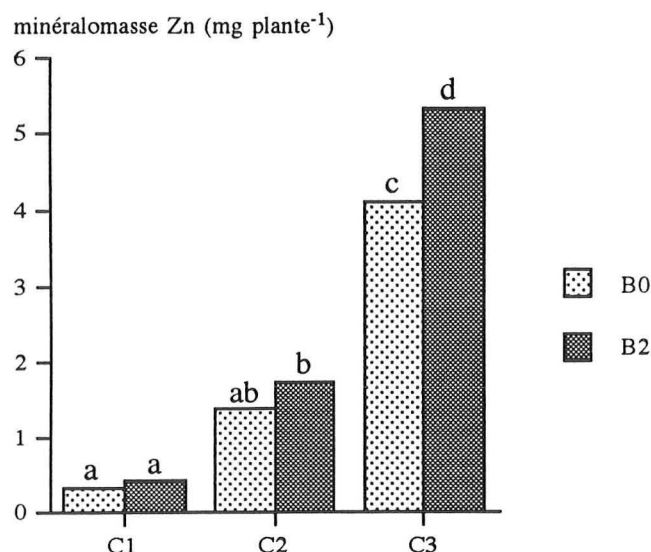


Figure 53. Exportations du Zn par les parties aériennes de *T. caerulescens* en fonction de la classe de poids de matière sèche par plante (C1 : ≤ 1 g ; C2 : > 1 g et < 5 g ; C3 : ≥ 5 g) et de la dose de boue urbaine (B0 : aucun apport ; B2 $15 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$)



2.4. Discussion

L'essai en lysimètres était destiné à étudier l'installation de *T. caerulescens* Prayon, son développement et l'extraction des métaux sur un sol de friche industrielle de cokerie présentant une pollution mixte organique et métallique. La plante installée à l'automne par semis s'est installée et développée de façon beaucoup plus importante que dans l'essai sur sol agricole, offrant un couvert végétal continu. Contrairement à l'essai sur sol agricole, les plantes n'ont pas produit de fleurs, restant essentiellement au stade végétatif. La production de biomasse a bénéficié de l'apport de boues d'épuration par leur effet azote. Le système racinaire, bien que non quantifié dans ce travail, présentait un chevelu très dense occupant la quasi totalité de la profondeur des lysimètres. Là aussi, de grandes différences sont apparues en fonction des individus, qui ont été classés par groupes de taille. Comme dans le cas de l'autre essai de plein champ, les teneurs du Zn dans la plante ne sont pas significativement différentes en fonction de la taille de l'individu, même si une légère tendance à la diminution a été observée lorsque la taille des individus s'accroît. Il en résulte une efficacité de l'extraction considérablement augmentée lorsque la biomasse produite s'élève. La terre de cokerie utilisée dans cet essai présentait donc des caractéristiques favorables au développement de *Thlaspi* qu'il est difficile d'identifier mais qui peuvent être liées aux teneurs du Zn et à sa biodisponibilité. La présence de composés organiques de type HAP n'ont par contre pas provoqué de phytotoxicité. Néanmoins, il sera nécessaire d'élucider les facteurs qui ont induit ce fonctionnement particulier de *Thlaspi* dont les conséquences en matière de phytoextraction sont essentielles. Enfin, seule la population de *T. caerulescens* de Prayon a été testée dans cet essai mais, compte tenu des précédents résultats, il est probable que Viviez se serait comporté de façon analogue avec un prélèvement accru de métaux. Ce point reste toutefois à vérifier.

3. Phytoextraction du Zn du sol d'une ancienne fonderie de Zn

La connaissance des flux d'éléments traces à partir des sites industriels fortement pollués est nécessaire pour établir les bases du traitement et, plus généralement, de la gestion des sites. La gestion des flux peut consister à les réduire ou à reconsidérer l'usage des sols si cette réduction est impossible (Robert & Juste, 1997). La friche industrielle de fonderie de Zn de Mortagne du Nord (Nord) a été retenue dans le cadre d'un projet du Ministère de l'Environnement concernant la caractérisation des polluants des sols, l'évaluation des risques de transfert des métaux vers l'homme et les écosystèmes et leur diminution par des voies biologiques. Le site présente l'intérêt de regrouper des sols aux teneurs de métaux croissantes. Notre objectif a été de réaliser un inventaire floristique et de déterminer les teneurs des métaux des végétaux prélevés sur 4 zones formant un gradient de pollution afin de mieux connaître la contribution de différentes espèces métallophiles aux flux de métaux dans cet écosystème.

3.1. Conditions expérimentales

Le site a été décrit dans le Chapitre 2. La cartographie des sols de la friche industrielle a permis de délimiter des zones d'intensité décroissante de pollution par les métaux et plus particulièrement Zn (Baize & Maucorps, 1995 ; van Oort & Thiry, 1995). Les teneurs de Zn dans les sols se classent suivant 4 zones, I : > 10000 ; II : 5000 - 6000 ; III : 2000 - 3000 et IV : 1000 - 2000 mg kg⁻¹. La zone I est occupée par une pelouse métallophile et la zone II est en bordure de cette pelouse sous un couvert d'arbres clairsemés. Les zones III et IV sont sous forêt (Photographies 27-30). Nous avons réalisé des prélèvements de végétaux sur chacune de ces zones le 27 juin 1997. Un cerceau de 50 cm de diamètre a été lancé aléatoirement et les parties aériennes des végétaux ont été récoltées sur les placettes ainsi délimitées. Nous avons effectué 5 répétitions pour la zone I et 3 répétitions pour les zones II, III et IV. Les végétaux ont été triés par espèce, lavés, séchés à l'étuve, pesés puis analysés pour leur teneur en Zn.

3.2. Résultats

3.2.1. Production de biomasse

Les espèces végétales rencontrées sur le site sont majoritairement *Armeria maritima*, *Cardaminopsis halleri* et *Arrhenatherum elatius*. *A. maritima* et *C. halleri* sont des métallophytes, respectivement hyperaccumulatrices de Pb et Zn. *A. elatius* ou avoine élevée est une espèce pseudométallophyte. La flore adaptée exclusive dans la zone la plus contaminée tend à disparaître et sa biomasse se réduit lorsqu'on s'éloigne de cette zone (Figure 54). Ainsi *A. maritima* est fortement majoritaire sur la zone la plus polluée et disparaît sur les autres zones. La biomasse produite par *C. halleri* augmente de la zone I à la zone IV pour redevenir très faible

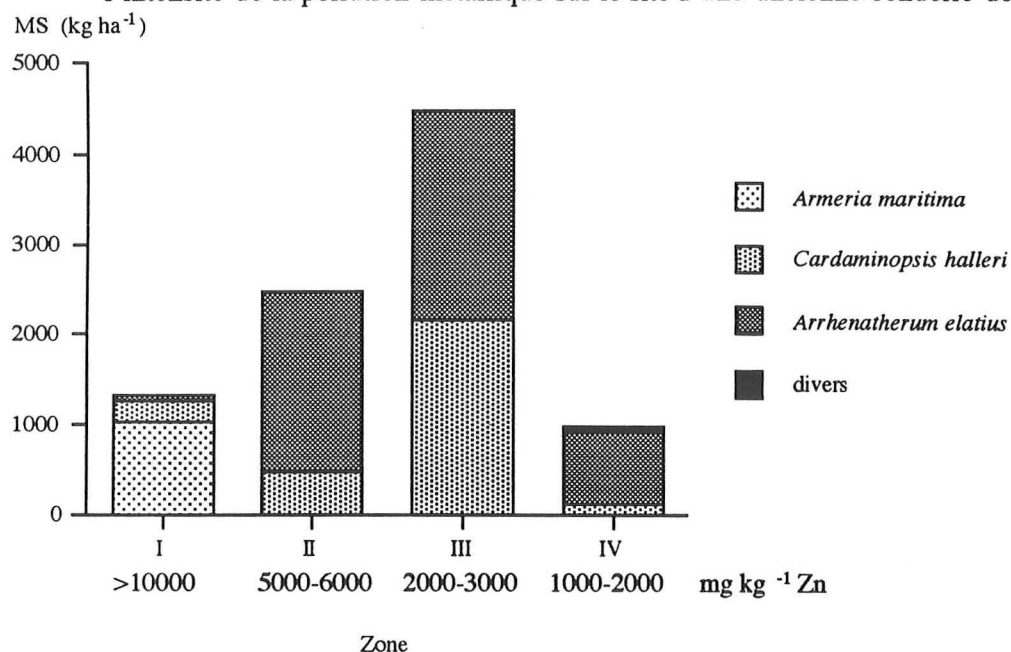


Photographie 27, 28, 29, 30.

Site de l'ancienne fonderie de Zn
Zone I (27) ; Zone II (28) ; Zone III (29) ; Zone IV (30)

sur la zone la moins polluée. *A. elatius* est majoritaire dans les zones II-IV et contribue très faiblement à la colonisation de la zone I. Des espèces non métalphytes comme le gaillet n'apparaissent que sur la zone IV et d'une façon très diffuse sur les autres zones.

Figure 54. Production de matière sèche aérienne en fonction de l'espèce végétale et de l'intensité de la pollution métallique sur le site d'une ancienne fonderie de zinc



3.2.2. Extraction de Zn

L'hyperaccumulateur de Zn *C. halleri* présente des teneurs de Zn en moyenne 8,5 fois plus élevées que la moyenne des autres espèces (Tableau 45). Les teneurs de Zn dans les parties aériennes de toutes les espèces diminuent avec des teneurs décroissantes de Zn dans le sol.

Tableau 45. Teneur de Zn dans les parties aériennes de différentes espèces végétales en fonction de l'intensité de la pollution sur le site d'une ancienne fonderie de zinc
zone I : > 10000 ; zone II : 5000-6000
zone III : 2000-3000 ; zone IV : 1000-2000 mg Zn kg⁻¹ sol sec

| | Zone | | | |
|------------------------------|------------|-------|-------|-------|
| | I | II | III | IV |
| | mg kg⁻¹ MS | | | |
| <i>Armeria maritima</i> | 966 | 922 | - | - |
| <i>Cardaminopsis halleri</i> | 6 269 | 5 644 | 4 422 | 4 881 |
| <i>Arrhenatherum elatius</i> | - | 752 | 498 | 73 |
| divers | 583 | - | - | 546 |

La quantité de Zn cumulée extraite par l'ensemble des espèces augmente de la zone I à la zone III (Tableau 46). Dans ces conditions, lorsque les teneurs de Zn dans le sol sont réduites de moitié, les quantités extraites par l'ensemble des plantes sont multipliées par 1,5 de la zone I à la

zone II et par 2,5 de la zone II à la zone III. Ce phénomène est accentué pour *C. halleri* avec des quantités de Zn extraites multipliées par 1,6 de la zone I à la zone II et 3,3 de la zone II à la zone III. *C. halleri* contribue respectivement à 59, 65, 88 et 86 % de l'extraction de Zn des zones I à IV. La contribution des espèces non-métallophytes à l'extraction de Zn est négligeable. Elle représente moins de 1% du total extrait dans la zone I et 6% dans la zone IV.

Tableau 46. Exportations de Zn par les parties aériennes de différentes espèces végétales en fonction de l'intensité de la pollution sur le site d'une ancienne fonderie de Zn
zone I : > 10000 ; zone II : 5000-6000
zone III : 2000-3000 ; zone IV : 1000-2000 mg Zn kg⁻¹ sol sec

| | Zone | | | |
|------------------------------|--------------------|-------|--------|-----|
| | I | II | III | IV |
| | g ha ⁻¹ | | | |
| <i>Armeria maritima</i> | 1 104 | 59 | - | - |
| <i>Cardaminopsis halleri</i> | 1 654 | 2674 | 8 874 | 603 |
| <i>Arrhenatherum elatius</i> | - | 1351 | 1 167 | 52 |
| divers | 24 | - | - | 44 |
| total | 2 782 | 4 084 | 10 041 | 699 |

3.2.3. Discussion

Les observations faites sur la friche industrielle montrent que les plantes contribuent fortement aux flux de métaux dans l'écosystème. Les quantités prélevées dépendent du degré de pollution du sol et ne sont pas nécessairement les plus fortes dans les zones les plus polluées. En effet, dans ces zones, la présence d'une concentration importante de métaux biodisponibles est parallèle à une réduction de la production de matière sèche des plantes, y compris celle des hyperaccumulateurs, comme *Cardaminopsis halleri* qui contribue le plus fortement à l'exportation du Zn. Ceci pourrait s'interpréter comme un effet phytotoxique du métal vis-à-vis de la plante hyperaccumulatrice, dont il est difficile encore de déterminer le mécanisme. Dans les zones moins polluées, la plante prélève moins de Zn mais sa production de biomasse est nettement accrue. Alors l'exportation du métal est pratiquement multipliée par 4 par rapport à la zone la plus polluée. Il existe donc une interaction forte entre le développement de la plante, la teneur du métal dans les tissus et celle du métal biodisponible du sol. La phytoextraction apparaît dès lors comme le compromis entre l'effet phytotoxique du métal, lié à sa concentration dans le sol et ensuite dans les tissus végétaux, et l'accumulation du métal par la plante. Il existerait donc une concentration de métal biodisponible optimale dans le sol qui permette le rendement maximal de la phytoextraction. Dans le cas de cette friche industrielle et des plantes étudiées, cette concentration serait voisine de celle de la zone III. La recherche d'espèces et leur sélection par rapport à la tolérance aux métaux (Zn), à la réponse à la fertilisation, et l'affinité pour un élément comme Cd est une voie à privilégier. Dans cette optique, la population *Thlaspi*

Viviez qui présente un comportement tout à fait particulier, tolérant plus le Zn et le Cd dans ses tissus et produisant moins de biomasse, paraît beaucoup mieux adapté que *Thlaspi Prayon*.

Enfin, un autre facteur qui aurait pu contribuer à la production de biomasse plus élevée dans cette zone par rapport à la zone I est la présence d'éléments nutritifs assimilables en plus forte quantité. En effet, la minéralisation de l'azote en présence de fortes concentrations de métaux dans la litière est peut-être en partie inhibée dans la zone I, expliquant ainsi la plus faible production de biomasse.

L'extraction par des espèces se développant naturellement est relativement importante puisqu'elle atteint plus de 10 kg de Zn par ha pour une récolte faite en juin. Compte tenu des résultats obtenus avec les essais de fertilisation tant au laboratoire qu'au champ, ce potentiel peut être certainement augmenté substantiellement. Dans la friche, les végétaux n'étant pas récoltés, ils restent sur place et contribuent à la constitution d'une litière importante. Des quantités importantes de Zn sont ainsi restituées chaque année au sol et accumulées en surface. Sur les différentes zones de la friche, la matière végétale peu décomposée constitue une litière riche en matière organique qui contribue au maintien du couvert végétal. Néanmoins la litière contribue également à l'enrichissement en métaux de l'horizon de surface. L'analyse de la litière de la zone I que nous avons effectuée indique des teneurs très élevées de Cd, Pb et Zn avec respectivement 21 ; 394 et 3360 mg kg⁻¹. Si la litière semble jouer un rôle majeur dans l'interruption du cycle des métaux, leur mobilisation n'est pas impossible. Dans un tel site, les plantes hyperaccumulatrices participent au cycle des métaux de façon très importante. Il y a donc redistribution du métal tant dans l'espace que dans la forme chimique. Cela pose différentes questions quant à l'accumulation du métal dans la litière eu égard à sa biodisponibilité et aux flux éventuels vers la faune.

4. Conclusion

Ce chapitre a permis de montrer que *Thlaspi* peut être implanté dans des conditions de plein champ, tant sur des sols agricoles que sur des sols de friches industrielles présentant des pollutions mixtes. Dans ces conditions, la plante se développe et répond aux apports de boues d'épuration qui jouent un rôle majeur dans la nutrition azotée. L'extraction des métaux n'est pas significativement pénalisée par une forte production de biomasse et certains individus ont montré une forte production de biomasse accompagnée d'une teneur en métaux élevée. Les mesures faites à partir du site industriel de fonderie de Zn confirment bien que la production de biomasse est un facteur essentiel dans les performances des hyperaccumulateurs. Par conséquent, dans une perspective d'accroissement de l'extraction des métaux, il apparaît essentiel de focaliser sur trois aspects : l'hyperaccumulation, la capacité à extraire plusieurs métaux et la production de biomasse. Cette dernière est le résultat de la tolérance de la plante aux fortes teneurs de métaux biodisponibles dans le sol et sa réponse à la fertilisation.

CHAPITRE 7

Discussion générale

**Connaissance du système
sol-plante hyperaccumulatrice
et applications à la phytoextraction**

Nos travaux ont permis d'acquérir des connaissances nouvelles sur l'aptitude de plantes hyperaccumulatrices à se développer et à extraire les métaux des sols. Conduits à différentes échelles allant du sol rhizosphérique à la parcelle, ils concernaient des sols agricoles ayant subi des apports de déchets et produits dérivés, des sols agricoles de périphérie de sites industriels, des sols de friches industrielles et des boues. Dans la discussion générale, nous allons dans un premier temps considérer les connaissances acquises sur le fonctionnement de la plante hyperaccumulatrice et discuter des conditions d'installation, d'exploration du milieu et de mobilité des métaux nécessaires à la phytoextraction. Dans un deuxième temps, nous proposerons de passer aux applications des connaissances fondamentales acquises. Après avoir exposé les attentes et les besoins d'industriels de la gestion des déchets ou de la dépollution des sites, nous présenterons des simulations de phytoextraction réalisées pour deux grands types de situations, un sol agricole ayant reçu des apports de boue urbaine et un sol de friche industrielle. Une généralisation des résultats de ces simulations permettra de déterminer, à partir de nos conditions expérimentales, des domaines de faisabilité de la phytoextraction du Cd et du Zn. Sa mise en œuvre sera décrite dans une proposition d'itinéraire technique de la phytoextraction. Enfin, nous discuterons de la contribution de la phytoextraction à la diminution des risques liés à la présence de métaux dans les sols. Une dernière partie traitera des perspectives de recherche.

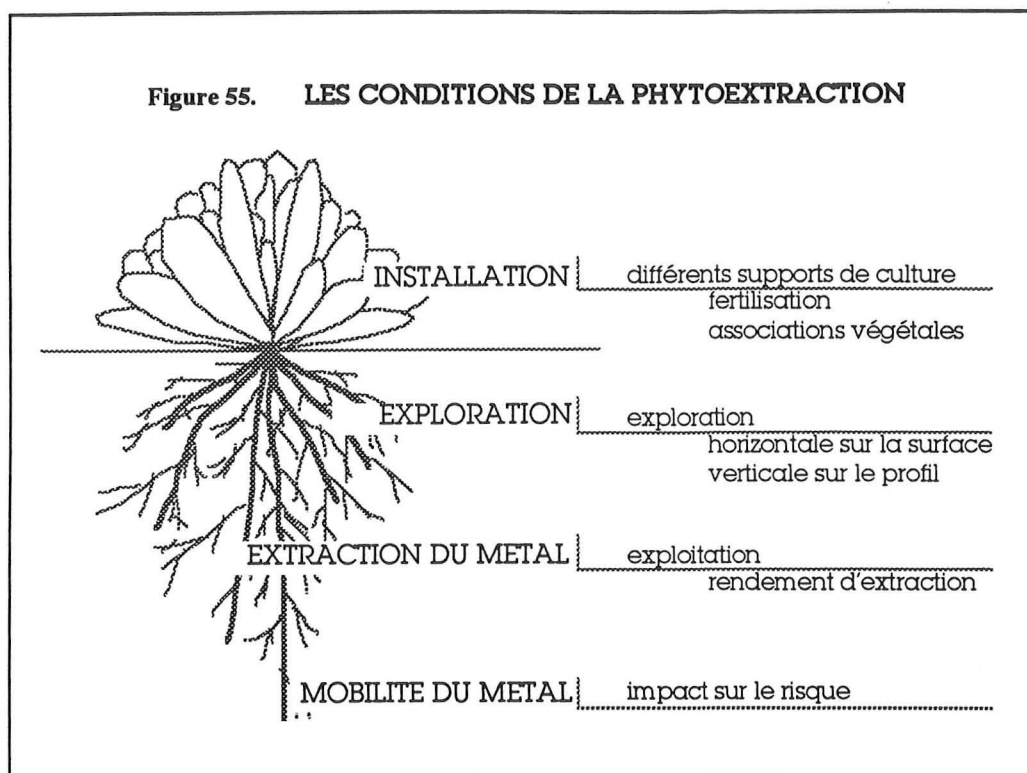
1. Fonctionnement du système sol-plante hyperaccumulatrice

1.1. Conditions nécessaires à la phytoextraction

La phytoextraction consiste à extraire les métaux des sols à l'aide de cultures de plantes hyperaccumulatrices. Les résultats de nos travaux permettent de dégager quatre conditions indispensables à la réalisation de cet objectif : l'installation des plantes hyperaccumulatrices sur les sols à traiter, l'exploration des sols à traiter par les plantes hyperaccumulatrices, la mobilité des métaux à extraire et enfin l'extraction des métaux des sols par les plantes hyperaccumulatrices (Figure 55).

1.1.1. Installation et croissance des plantes hyperaccumulatrices

Thlaspi caerulescens, plante hyperaccumulatrice modèle, s'implante sur des milieux très divers et autres que les sols de sites métallifères où elle se développe naturellement. Les premiers essais de phytoextraction ont été conduits sur des sols agricoles amendés par des boues (Baker *et al.*, 1991). Nous montrons que la plante germe, croît et se développe sur des supports aussi variés que des sols agricoles, des sols agricoles ayant subi des apports de boue urbaine, des sols agricoles de périphérie de site industriel, des sols de friches industrielles présentant des pollutions métalliques ou des pollutions mixtes métalliques et organiques ou une boue de curage de rivière fortement contaminée.



La plante répond à la fertilisation et plus particulièrement à la fertilisation azotée. La production de biomasse aérienne peut être multipliée par trois grâce à un apport d'azote et les courbes de réponse à l'azote présentent une allure classique avec un maximum de biomasse obtenu avec la dose d'azote la plus forte. *T. caerulescens* valoriserait mieux le nitrate que l'ammonium, comme les autres espèces (Recous, 1988). Il est possible aussi que la plus faible biomasse en présence de la forme ammoniacale soit liée à des phénomènes de toxicité ammoniacale intervenant surtout dans les premiers temps de la culture. L'évaluation des coefficients d'utilisation de l'azote permettrait de confirmer ces conclusions. Dans nos conditions d'expérimentation, la fertilisation phosphatée n'a pas eu d'effet sur la production de biomasse, certainement en relation avec des besoins faibles de la plante. Comme pour les plantes de grande culture, la réponse à la fertilisation est variable en fonction du type de sol. Enfin, les deux populations de *Thlaspi* testées, Prayon en Belgique et Viviez dans le sud de la France, présentent non seulement des morphologies différentes mais aussi des réponses très contrastées à la fertilisation et à la contamination. Les différences entre ces deux types paraissent supérieures à celles relevées à l'intérieur d'une même population (Prayon) et offrent un large potentiel de sélection.

1.1.2. Exploration du milieu par les racines

Lorsque la plante s'est installée, elle doit pouvoir explorer le sol pour exploiter les éléments nutritifs et les métaux. En appliquant une densité de semis de 100 à 400 individus par m², il est possible d'obtenir un couvert continu de plantes hyperaccumulatrices. Ceci a été observé en bacs lysimétriques avec *Thlaspi* sur sol de cokerie, mais aussi *in situ* avec *Thlaspi* sur sol

agricole ayant reçu des épandages de boue urbaine, ou *Cardaminopsis halleri* et *Armeria maritima* sur sol de fonderie de Zn. Contrairement aux racines des plantes de grande culture non-tolérantes qui s'installent préférentiellement dans les zones non contaminées des sols et pénètrent de façon limitée les sols pollués par les métaux (Wallace, 1980 ; Romney *et al.*, 1981 ; Perronnet, 1997), les racines de l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens* explorent préférentiellement les zones polluées. Les racines ont montré deux principaux types de morphologies en fonction de la présence de Zn dans le sol - racines courtes en amas en présence de Zn et racines longues et fines dans des sols non contaminés. Ce résultat obtenu en conditions contrôlées a été confirmé par des observations de terrain sur sol de cokerie et sur sol agricole ayant reçu des apports de boue. L'initiation et l'organisation des racines de *T. caerulescens* semblent être une réponse spécifique à la teneur et à la localisation du Zn dans le sol. Le principal facteur déterminant l'architecture racinaire de *T. caerulescens* semble être le Zn et le Cd biodisponibles du sol.

1.1.3. Mobilité des métaux

La mobilité est une condition majeure du transfert des métaux du sol aux parties aériennes des plantes hyperaccumulatrices. Dans les sols fortement contaminés, la mobilité des métaux serait assez élevée pour permettre leur absorption, leur translocation et leur accumulation dans les feuilles des hyperaccumulateurs. Les sols à teneurs moyennes à faibles de métaux constituent, cependant, la majorité des surfaces de sols contaminés. Ce sont par exemple des sols agricoles ayant reçu des apports de déchets et produits dérivés ou des sols agricoles situés en périphérie d'industries ayant reçu des retombées atmosphériques diffuses. Si les hyperaccumulateurs prélèvent les métaux dans les compartiments solubles et échangeables du sol, une augmentation de la biodisponibilité des métaux serait alors nécessaire si l'objectif de la phytoextraction est de réduire la teneur du métal total dans le sol. Cette mobilisation des métaux pourrait être acquise par l'apport de substances complexantes au sol. Il faut alors envisager le risque de départ massif de métaux depuis le sol vers l'écosystème et l'homme via les eaux. Néanmoins, une augmentation de la mobilité des métaux pourrait être obtenue naturellement au niveau de la rhizosphère des hyperaccumulateurs. L'absence de fertilisation phosphatée favoriserait l'extraction de Zn et de Cd en augmentant leur mobilité dans le sol. Nous avons observé une acidification associée aux apex racinaires de *T. caerulescens* alors que les autres parties des racines montraient des pH plus élevés, comportement commun à de nombreuses espèces (Marschner, 1986). Ainsi, plus Zn est présent dans le sol, plus les racines seraient actives en réponse à un stress, acidifieraient la rhizosphère et plus Zn serait mobilisé. L'acidification semble moins intense sur l'ensemble du système racinaire sur sol industriel qu'au voisinage des apex des racines sur sol agricole. Ceci suggère que dans un sol homogène l'acidification serait répartie le long de la racine en raison d'une forte quantité de Zn disponible. Lorsque l'acidification est surtout localisée aux extrémités racinaires, ce serait pour mobiliser d'autres éléments nutritifs des sols non contaminés en exsudant des protons qui seraient normalement

exsudés tout le long de la racine jusqu'à l'apex parce que certains éléments nutritifs (par exemple P) sont peu mobiles dans les sols industriels. Ainsi la racine peut mobiliser P sans provoquer une toxicité accrue de Zn. L'ensemble des hypothèses émises méritent des investigations complémentaires pour conclure sur l'effet des racines sur le sol rhizosphérique.

1.1.4. Extraction des métaux

Pour une plante hyperaccumulatrice, le rendement est la quantité de métal extraite par hectare qui dépend directement de la production de biomasse et de la teneur des métaux dans les tissus végétaux. La courbe dose-réponse des plantes hyperaccumulatrices à des teneurs croissantes de métaux du sol est similaire à celle décrite pour des plantes non-hyperaccumulatrices mais elle est décalée vers des valeurs très élevées de métaux dans le sol et dans la plante. En absence de Zn biodisponible, *T. caerulescens* prélève le Cd et le Pb en plus forte quantité. Il est possible qu'un mécanisme de compensation se mette en jeu. Dans des sols à contamination hétérogène, caractéristique de la majorité des sols urbains et industriels pollués, la majeure partie du système racinaire se développe dans les zones polluées. La diversité de la morphologie du système racinaire de *T. caerulescens* permettrait d'assurer ses performances d'hyperaccumulation. Le transfert des métaux vers la plante est différent d'un individu à l'autre provenant d'une même population et entre les individus des deux populations différentes, probablement en raison d'une forte variabilité génétique. Cette variabilité doit présenter des individus particulièrement efficaces à sélectionner par le génie génétique ou plutôt par la sélection classique. La teneur des métaux dans *Thlaspi* est étroitement dépendante de la fertilisation azotée avec, là aussi, une différence considérable de réponse entre les deux populations. *Thlaspi*-Viviez accumule près de dix fois plus de Cd que *Thlaspi*-Prayon et l'augmentation du prélèvement du Cd avec les apports d'azote constitue un résultat essentiel dans une perspective de mise en œuvre de la phytoextraction. L'absence de fertilisation P tend à favoriser le transfert des métaux du sol vers les parties aériennes de *T. caerulescens*. Il peut s'agir, lorsque P est très peu disponible, d'un effet indirect de l'action de la plante sur son milieu en particulier par le biais de l'exsudation de composés acides et/ou complexants du type acides organiques par les racines qui favoriserait la mise en solution du P, du Zn et du Cd. Quelle signification peut-on apporter à un effet de dilution des métaux dans la biomasse relativement faible chez *Thlaspi* ? Ceci confirme en fait les très grands besoins de la plante vis-à-vis du Zn (Chaney *et al.*, 1997). Pourquoi dans le cas de *Thlaspi* Viviez Cd est beaucoup plus accumulé que dans Prayon ? Il est possible que Prayon soit beaucoup plus sélectif vis-à-vis des éléments qu'il prélève que Viviez. Il faut rappeler que le Cd et le Zn empruntent les mêmes voies de transfert par transport actif dans les cellules racinaires (Costa & Morel, 1994 ; Cataldo *et al.*, 1981). Ces phénomènes peuvent-ils avoir une signification en termes d'évolution ? Les populations de *Thlaspi* ont des milieux d'origine différents de par la qualité des sols et les conditions climatiques. Cd compléterait Zn dans *Thlaspi* Viviez si on admet par exemple que l'hyperaccumulation est liée à la résistance à la sécheresse.

La question du rôle respectif de la production de biomasse et de la teneur des métaux dans les tissus des plantes hyperaccumulatrices dans l'efficacité de la phytoextraction est rémanente. (Salt *et al.*, 1995, 1996 ; Cunningham *et al.*, 1996 ; Chaney *et al.*, 1995 ; Canarutto, 1993). Pour répondre à cette question, nous avons montré que dans nos conditions, l'efficacité des plantes hyperaccumulatrices pour extraire les métaux est toujours supérieure à celle des plantes non-hyperaccumulatrices même si ces dernières ont parfois des productions de biomasse jusqu'à 10 fois plus élevées. Les exportations de Zn par *T. caerulescens* sont d'autant plus importantes que les plantes sont de grande taille. C'est pourquoi il faut insister sur l'importance de la domestication des hyperaccumulateurs de métaux et de la sélection de cultivars efficaces.

Les recherches menées jusqu'à ce jour ont montré que pour une phytoextraction efficace, chaque élément métallique doit être considéré individuellement en raison de ses caractéristiques particulières dans le sol et dans la physiologie de la plante. Dans le cas de *T. caerulescens* originaire de Viviez, nous avons montré qu'une même espèce d'une population particulière peut être efficace pour la phytoextraction de deux métaux, Cd et Zn. Il semble qu'il y ait une interaction entre le développement de la plante, la teneur du métal dans la plante et la teneur du métal dans le sol. Il existerait une teneur de métal biodisponible dans le sol qui favoriserait la phytoextraction. Cette teneur permettrait d'atteindre un compromis entre le prélèvement par la plante et la phytotoxicité du métal ou entre la teneur du métal dans les tissus et la quantité de biomasse produite.

En résumé, nous avons montré que les plantes hyperaccumulatrices germent et se développent sur des supports de cultures très différents. Leurs racines privilégient les zones du sol les plus chargées en métaux. Les prélèvements se font dans le compartiment mobile des métaux du sol qui est alors très fortement réduit après une culture d'hyperaccumulateur. Ces principaux résultats montrent que *T. caerulescens* est une plante qui remplit les conditions de la phytoextraction que nous avons définies. Les conditions d'installation, d'exploration, d'extraction et de mobilité des métaux étant remplies, nous allons envisager les applications possibles de la phytoextraction et la quantifier en fonction de différentes situations de pollution.

2. Phytoextraction des métaux des sols pollués

La synthèse des résultats que nous avons obtenus sur le fonctionnement du système sol-boue-plante hyperaccumulatrice doit permettre de définir la contribution des hyperaccumulateurs à la décontamination des sols et plus globalement à la gestion des sites pollués. Cette contribution répond à une demande sociale de décontamination des sites pollués. Nous avons effectué une enquête auprès d'industriels afin de savoir quels étaient leurs besoins et leurs attentes en matière de phytoremédiation. Il ressort des divers entretiens que de multiples besoins sont venus motiver la recherche entreprise. A la question, quel substrat ou matériau étudier trois réponses sont données : des sols agricoles, des sols de friches industrielles et des boues d'épuration urbaine. Ces trois possibilités sont associables car des sols agricoles peuvent être situés en périphérie de zones industrielles en activité ou en friche, des boues de stations d'épuration

peuvent être ou avoir été épandues sur des sols agricoles en tant qu'amendement ou en reconstitution de sol et des boues pourraient faciliter la réhabilitation de sols industriels. De plus, l'impact psychologique qu'aurait une méthode de décontamination biologique mettant en œuvre des végétaux est considéré comme un atout majeur. Enfin, une meilleure connaissance de la biodisponibilité des métaux pour les plantes est un souci partagé par tous les partenaires. Si la prise en compte de la norme est un critère d'estimation de la qualité d'un sol ou d'une boue, la notion de risque est primordiale pour évaluer la qualité d'un sol.

2.1. Simulations de phytoextraction

Des simulations de phytoextraction sont réalisées à partir des résultats expérimentaux pour deux types de situations, un sol agricole ayant reçu des apports de boue urbaine et un sol de friche industrielle. Pour ces deux situations, les hypothèses de calcul sont différentes en raison de teneurs de métaux dans les sols très différentes. Il est nécessaire de connaître le comportement des plantes hyperaccumulatrices sur les sols pollués en focalisant sur leur efficacité à diminuer le risque lié à la présence de fortes concentrations de métaux biodisponibles. C'est pourquoi, dans le cas du sol de friche industrielle, les simulations sont effectuées sur les quantités de métal extractible à l'eau et au nitrate d'ammonium pour prendre en compte le risque de transfert de ces métaux vers les eaux ou les plantes. Dans le cas du sol agricole ayant reçu des apports de boue urbaine, les simulations sont effectuées sur les quantités de métal total. Cette hypothèse intègre un principe de précaution vis-à-vis du transfert de métaux vers des plantes de grande culture. Sur sol agricole, l'efficacité de la plante hyperaccumulatrice est comparée à celle du colza.

2.1.1. sols agricoles amendés par des boues d'épuration urbaine

Les simulations d'extraction sont basées ici sur les d'une densité de 100 plantes m⁻² pour *Thlaspi* et 60 plantes m⁻² pour le colza. L'estimation permet de calculer le nombre de cultures nécessaires pour extraire les quantités totales de métaux introduits par la boue (Tableau 48). *Thlaspi* Viviez est un candidat nettement meilleur que *Thlaspi* Prayon pour la phytoextraction de Cd. Cette différence est moins marquée pour le Zn (Tableau 48). Le nombre de cultures nécessaires pour extraire la quantité totale de métal apporté après deux années d'épandage de boue urbaine est relativement grand. Néanmoins, la boue apportée présente des teneurs élevées de métaux. De plus, les teneurs de ces métaux extractibles à l'eau ou au nitrate d'ammonium sont très faibles de telle sorte qu'une seule culture de *T. caerulescens* suffirait à les extraire. Les simulations par rapport à l'élément total prennent alors en compte le risque de mobilisation des métaux à moyen ou long terme.

La simulation d'extraction du Zn apporté par la boue par le colza montre que cette espèce n'est pas un outil envisageable de phytoextraction (Tableau 49). Les quantités de Cd extraites par le colza sont négligeables.

Tableau 48. Simulation d'extraction de Cd et Zn apportés par la boue d'épuration urbaine par une culture de *T. caerulescens* - densité : 100 plantes m⁻² (B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)

| Cd | | |
|---|------------------------|-----|
| dose de boue urbaine | B1 | B2 |
| Campagne 96-97 | g Cd ha ⁻¹ | |
| quantité de Cd apportée (cumul 95-97) | 146 | 732 |
| quantité de Cd exportée par <i>T. caerulescens</i> Prayon | 2 | 2 |
| quantité de Cd exportée par <i>T. caerulescens</i> Viviez | 28 | 61 |
| nombre de cultures pour extraire | | |
| la quantité de Cd apportée de 95 à 97 | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 73 | 366 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | 6 | 12 |
| Zn | | |
| dose de boue urbaine | B1 | B2 |
| Campagne 96-97 | kg Zn ha ⁻¹ | |
| quantités de Zn apportée (cumul 95-97) | 14 | 70 |
| quantité de Zn exportée par <i>T. caerulescens</i> Prayon | 2,2 | 3,8 |
| quantité de Zn exportée par <i>T. caerulescens</i> Viviez | 2,1 | 4,1 |
| nombre de cultures pour extraire | | |
| la quantité de Zn apportée de 95 à 97 | | |
| <i>T. caerulescens</i> Prayon | 7 | 19 |
| <i>T. caerulescens</i> Viviez | 7 | 17 |

Tableau 49. Simulation d'extraction du zinc apporté par la boue d'épuration urbaine par une culture de le colza (feuilles au stade fin floraison) - densité : 60 plantes m⁻² (B1 : 3 t ha⁻¹ an⁻¹ ; B2 : 15 t ha⁻¹ an⁻¹)




| dose de boue urbaine | B1 | B2 |
|--|---------------------|------|
| Campagne 96-97 | kg ha ⁻¹ | |
| quantités de Zn apportée (cumul 95-97) | 14 | 70 |
| quantité de Zn exportée par le colza | 0,14 | 0,30 |
| nombre de cultures pour extraire la quantité de Zn apportée de 95 à 97 | 100 | 233 |

2.1.2. sol de friche industrielle

Les simulations de phytoextraction du Cd et du Zn sont réalisées pour un sol de fonderie de Zn caractérisé par une multipollution métallique à dominante de Cd et de Zn dont les teneurs totales dans le sol sont respectivement 16,3 mg kg⁻¹ et 1280 mg kg⁻¹ (tableaux 47). La terre est sablo-limoneuse de pH 5,8. Ces caractéristiques expliquent la forte mobilité du Zn. C'est sur cette terre que nous avons déterminé la plus forte teneur de Zn dans les parties aériennes de *T. caerulescens* (23 000 mg kg⁻¹). Les simulations sont basées sur les hypothèses suivantes : l'horizon de surface du sol représente 3 000 t de terre ha⁻¹, le métal mobile est estimé par sa teneur extractible à l'eau, le métal échangeable ou mobilisable est estimé par sa teneur extractible

au nitrate d'ammonium. Les tableaux de simulation croisent plusieurs hypothèses concernant la production de biomasse par plante, la teneur du métal dans la plante et la densité de semis. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de cultures nécessaires pour extraire tout le métal d'un compartiment. La production de biomasse se répartit en 3 classes, (1) biomasse moyenne observée sur le sol considéré, (2) biomasse maximale observée sur le sol considéré et (3) biomasse potentielle ou biomasse maximale observée sur toutes les expérimentations. La teneur du métal dans les parties aériennes se répartit également en 3 classes : (1) teneur moyenne observée sur le sol considéré, (2) teneur maximale observée sur le sol considéré et (3) teneur potentielle ou teneur maximale observée sur toutes les expérimentations.

Tableau 47. Simulation de la phytoextraction de Zn et de Cd d'un sol de fonderie de Zn (x) nombre d'années

 : simulations d'extraction par rapport au métal extractible à l'eau
 : simulations d'extraction par rapport au métal extractible au nitrate d'ammonium
 : simulations d'extraction par rapport au métal total

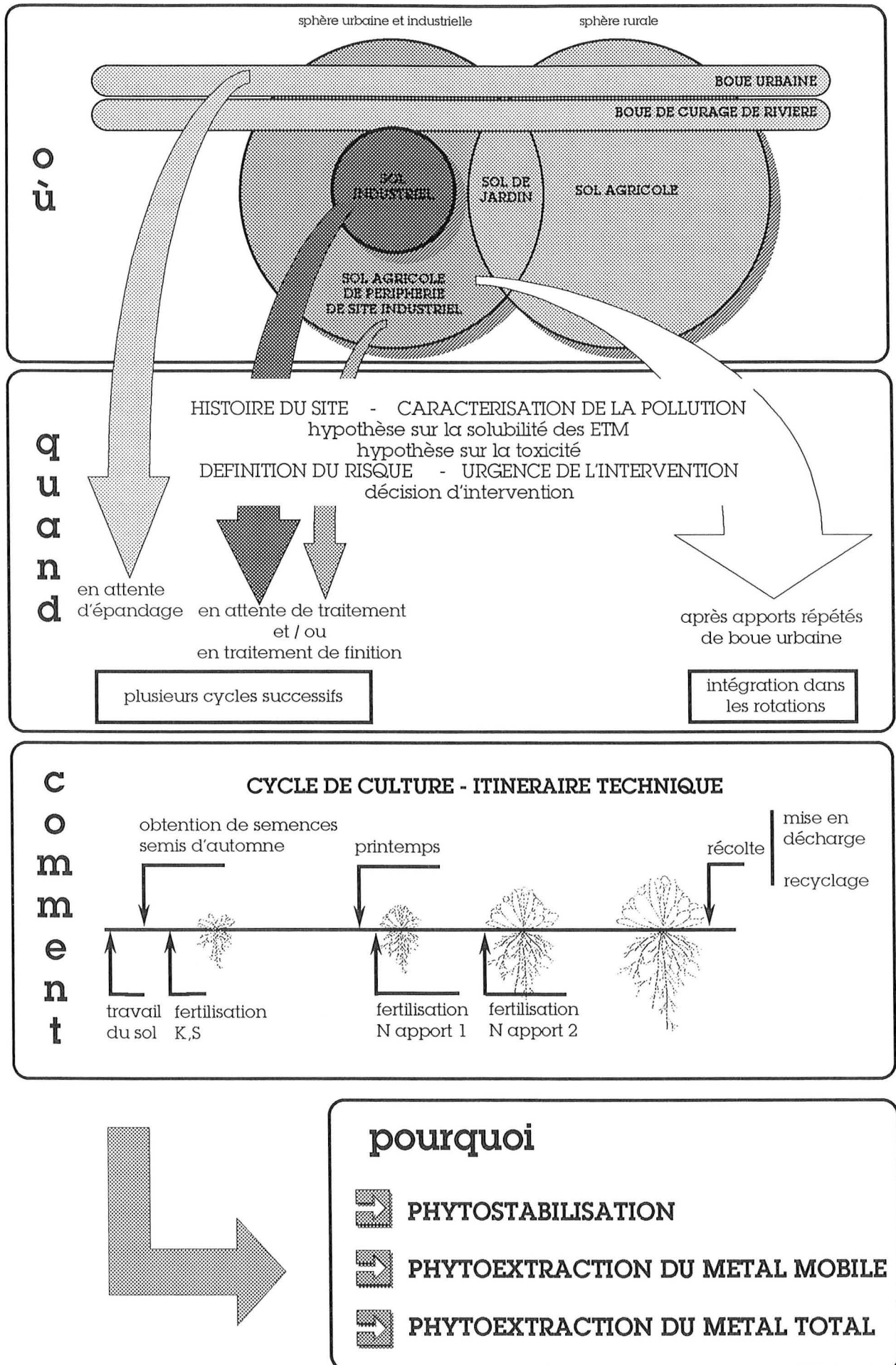
| Zn extractible par <i>Thlaspi caerulescens</i> (kg ha ⁻¹) | | | | |
|---|-------------------------------------|-----------------------------|-----------|-------------|
| production de biomasse sèche | densité plantes.m ⁻² | teneur de Zn dans la plante | | |
| | | moyenne | maximale | potentielle |
| moyenne | 200 | 50 (2) | 61 (1) | |
| | 400 | 101 (1) | 122 (1) | |
| maximale | 200 | 98 (1) | 118 (1) | |
| | 400 | 196 (10) | 237 (8) | |
| potentielle | 200 | 381 (10) | 460 (9) | |
| | 400 | 763 (5) | 920 (5) | |
| Zn sol de surface (kg ha⁻¹) | total | 3840 | | |
| | NH₄NO₃ | 1809 | | |
| | H₂O | 65 | | |
| Cd extractible par <i>Thlaspi caerulescens</i> (kg ha ⁻¹) | | | | |
| production de biomasse sèche | densité plantes.m ⁻² | teneur de Cd dans la plante | | |
| | | moyenne | maximale | potentielle |
| moyenne | 200 | 0,35 (2) | 2,79 (7) | 7,66 (3) |
| | 400 | 0,70 (1) | 5,57 (4) | 15,32 (2) |
| maximale | 200 | 0,68 (1) | 5,42 (4) | 14,91 (2) |
| | 400 | 1,37 (1) | 10,84 (2) | 29,82 (2) |
| potentielle | 200 | 2,66 (6) | 21,14 (3) | 58,15 (1) |
| | 400 | 5,33 (6) | 42,29 (2) | 116,30 (1) |
| Cd sol de surface (kg ha⁻¹) | total | 48,87 | | |
| | NH₄NO₃ | 18,00 | | |
| | H₂O | 0,52 | | |

2.2. Propositions d'itinéraires techniques pour la phytoextraction des sols et des boues pollués par les métaux

Le traitement de sols pollués par des métaux est une procédure à plusieurs étapes rassemblées dans une méthodologie d'approche valable pour la phytoextraction (Figure 56). Pour définir le traitement à appliquer, une caractérisation des sols succède à une phase de pré-diagnostic du site. Durant le traitement de phytoextraction, les minéralomasses de Cd et Zn sont augmentées par les apports d'azote, avec un plus fort effet de la forme nitrique. Sur le plan pratique, la dose d'azote optimale donnant la quantité de métaux dans les parties aériennes la plus élevée est, dans la majorité des cas, 80 mg N kg^{-1} soit 240 kg N ha^{-1} fractionnés en deux apports de 120 kg ha^{-1} . Si la fertilisation peut être raisonnée en fonction des objectifs d'extraction des métaux, il convient que les doses d'azote soient compatibles avec les règles de bonnes pratiques agricoles. La plante est adaptée aux conditions climatiques tempérées continentales et plus particulièrement aux hivers rigoureux. Les plantules développées à l'automne passent l'hiver au stade d'une dizaine de feuilles. A la sortie de l'hiver, les plantes sont plus vigoureuses que des plantes semées au printemps et nous observons une intensification de l'implantation racinaire. Ces observations permettent d'établir un parallèle entre la conduite de l'hyperaccumulateur et les itinéraires techniques suivis pour les cultures d'hiver. La diminution de l'efficacité de la phytoextraction en cas d'associations végétales pose le problème de la gestion des adventices. Leur contrôle est surtout nécessaire aux premiers stades de la culture. Il faudra définir si des herbicides sont applicables. Cependant, à une densité de semis suffisante, supérieure à 100 plantes par m^2 , l'hyperaccumulateur domine les adventices. Lors d'une phytoextraction, les plantes pourront être récoltées au moment de la floraison afin d'éviter la montée à graine et leur dissémination. On évite ainsi la chute de feuilles. Dans le cas d'une plantation prévue pour la récolte de semences, il faudra récolter les plantes directement après la maturité des graines. Les ravageurs et les maladies pourraient constituer un frein à l'installation et au développement des hyperaccumulateurs. Il a été démontré que les hyperaccumulateurs ne sont pas appétents (Pollard & Baker, 1997). Ainsi les insectes et autres ravageurs ne s'attaqueront pas ou très peu aux métalophytes si d'autres plantes sont à proximité.

Aucune maladie n'est venue perturber la culture des hyperaccumulateurs en dehors de quelques faibles attaques d'oïdium. Les hyperaccumulateurs s'installent sur une large gamme de matériaux. Néanmoins, leur croissance diminue lorsque les teneurs en métaux et essentiellement en Zn diminuent dans les sols. Il y aura donc peu de risques que ces plantes se développent sur des sols agricoles voisins de sites pollués à traiter. Si tel était le cas, la répartition de l'implantation des hyperaccumulateurs sur des zones voisines du site contaminé permettrait d'effectuer une cartographie de la pollution. Le couvert végétal permet de stabiliser le sol vis-à-vis de l'érosion éolienne ou hydrique. De plus, la présence d'un tapis de verdure sur des sites souvent nus à l'origine, aura un intérêt paysager.

Figure 56. Cadre de la phytoremédiation



2.3. Domaines de faisabilité de la phytoextraction

A partir de nos résultats expérimentaux et dans nos conditions de culture, il est possible de définir les domaines d'application de la phytoremédiation. Afin d'atteindre les objectifs de remédiation fixés, il faudra souvent mettre en œuvre une combinaison de traitements. Elle sera composée d'une technique dominante choisie en fonction de la qualité initiale du sol et de l'objectif de décontamination. La phytoextraction pourrait ainsi dans certains cas se concevoir comme un traitement d'attente avant la mise en œuvre d'un traitement physico-chimique lourd et/ou en traitement de finition. Les tableaux 50 et 51 décrivent des domaines d'application de la phytoremédiation (phytoextraction et phytostabilisation). La phytoextraction peut être envisagée eu égard aux quantités totales ou mobiles de métaux des sols en fonction de l'objectif de décontamination. La présence d'un couvert végétal permettra dans tous les cas un confinement partiel de la pollution que nous appelons phytostabilisation. Les composantes de la phytoremédiation ainsi décrites pourraient s'appliquer seules ou en association en fonction du type et de l'intensité de la pollution. Les propositions de domaines d'application de la phytoremédiation reposent sur une répartition en classes en fonction des teneurs de Cd et de Zn total et mobile des sols. Les classes de teneurs ont été établies suivant les teneurs des supports testés dans les expérimentations de la thèse et correspondent donc à nos conditions de culture.

2.4. Contribution de la phytoremédiation à la diminution des risques liés à la présence de métaux dans les sols et les boues

La contamination désigne l'augmentation notable de la concentration d'un composé ou d'un élément dans l'environnement par rapport à une teneur «normale». Elle ne préjuge pas de la modification de la qualité du compartiment de l'environnement concerné (Alloway, 1990). Il y a pollution lorsque l'augmentation de la teneur d'un élément ou d'un composé et leur accumulation présente un danger pour les organismes ou l'écosystème. On emploie le terme pollution si l'usage qui est habituellement fait de l'environnement peut être compromis. Définir la contamination et la pollution initiales du sol et son utilisation ultérieure sont alors des prérequis si l'on veut fixer des objectifs de dépollution. Actuellement, l'évaluation de la qualité du sol se fait majoritairement suivant les teneurs en métaux totaux. Les valeurs limites sont variables en fonction des pays. Cependant la teneur de l'élément total ne renseigne pas sur sa mobilité. Sur un site pollué, un des premiers objectifs est d'identifier les mesures d'urgence à appliquer pour réduire ou éliminer les risques de transfert de métaux vers les écosystèmes ou l'homme. Les objectifs de dépollution seront variables en fonction de l'occupation du site qui peut être agricole, forestière, industrielle en activité ou en friche, commerciale, à usages sensibles (zones d'habitat, de loisirs, écoles, hopitaux,...). A chaque catégorie de sol correspondent des types de pollution et des objectifs de dépollution particuliers. Le degré de décontamination dépend du type de pollution à traiter. Dans tous les cas, un assainissement total du sol n'est pas à envisager.

Tableau 50. Domaines d'application de la phytoremédiation en fonction des teneurs de Zn dans les conditions de culture des expérimentations de la thèse

| MOBILITE Zn Zn extractible H ₂ O | TENEUR TOTALE Zn | | |
|---|--|--|--|
| | faible < 600 mg kg ⁻¹ | moyenne 600 - 1400 mg kg ⁻¹ | élevée > 1400 mg kg ⁻¹ |
| faible < 1 mg kg ⁻¹ | 1. phytostabilisation 2. pas de traitement | 1. phytoextraction élément mobile | 1. autre traitement 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |
| moyenne > 1 mg kg ⁻¹ < 6 mg kg ⁻¹ | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile 3. phytoextraction élément total | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile | 1. autre traitement 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |
| élevée > 6 mg kg ⁻¹ | 1. phytoextraction élément mobile 2. phytoextraction élément total 3. phytostabilisation | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile 3. phytoextraction élément total | 1. phytoextraction d'attente ou de finition d'un traitement physico-chimique 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |

Tableau 51. Domaines d'application de la phytoextraction en fonction des teneurs de Cd dans les conditions de culture des expérimentations de la thèse

| MOBILITE Cd Cd extractible H ₂ O | TENEUR TOTALE Cd | | |
|---|--|--|--|
| | faible < 2 mg kg ⁻¹ | moyenne 2 - 8 mg kg ⁻¹ | élevée > 8 mg kg ⁻¹ |
| faible < 0,03 mg kg ⁻¹ | 1. phytostabilisation 2. pas de traitement | 1. phytoextraction élément mobile | 1. autre traitement 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |
| moyenne > 0,03 mg kg ⁻¹ < 0,07 mg kg ⁻¹ | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile 3. phytoextraction élément total | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile | 1. autre traitement 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |
| élevée > 0,07 mg kg ⁻¹ | 1. phytoextraction élément mobile 2. phytoextraction élément total 3. phytostabilisation | 1. phytostabilisation 2. phytoextraction élément mobile 3. phytoextraction élément total | 1. phytoextraction d'attente ou de finition d'un traitement physico-chimique 2. phytostabilisation 3. phytoextraction élément mobile |

Les champs d'application de la phytoextraction peuvent être de deux grands types. D'une part, les sols peuvent faire l'objet de pollutions aiguës dans le cas d'apparition brusque et d'évolution rapide sur sites industriels ou par apports massifs de boues urbaines. D'autre part, les sols peuvent être le réceptacle de pollutions chroniques de durée longue et de développement lent en périphérie de sites industriels ou par épandages réglementaires de boues d'épuration urbaines. La connaissance du degré de pollution et surtout du pool des métaux biodisponibles est indispensable pour juger des possibilités d'implantation des hyperaccumulateurs. Il est nécessaire de décrire les profils de sol afin de connaître la localisation de la pollution.

Une culture de plante hyperaccumulatrice induit un appauvrissement significatif du compartiment du métal assimilable des sols. Ainsi la plante hyperaccumulatrice *Alyssum murale* préleve exclusivement le Ni dans le pool des ions isotopiquement échangeables (Shallari, 1997). La phytoextraction est alors définie comme un moyen de diminuer le risque écotoxicologique lié à la présence des métaux biodisponibles. Le cycle des métaux est interrompu ou ralenti (Figures 58 et 59). Les végétaux de la pelouse métallicole de Mortagne du Nord permettent de stabiliser la pollution sur l'horizon superficiel du sol. La phytoremédiation est alors assimilable à un mode de gestion à long terme des sites contaminés. De nouveaux écosystèmes adaptés aux métaux apparaissent et forment une barrière à leur transfert vers les écosystèmes voisins. On peut assimiler ce type de traitement à un confinement où la diminution de la mobilité des métaux pourrait entraîner l'implantation sur le site d'espèces plus sensibles aux métaux. Une acidification du milieu, évolution normale d'un sol, induirait une mobilisation des métaux et leur possible transfert vers la chaîne alimentaire ou les eaux. Dans cette situation, la présence d'hyperaccumulateurs minimiserait le risque de flux sortants. En effet, la plante pourrait extraire les métaux, évitant ainsi leur départ vers les eaux. En absence de récolte, le cycle des métaux serait interrompu dans le système sol de surface-plante-litière. Cela pose différentes questions quant à l'accumulation du métal dans la litière eu égard à sa biodisponibilité et aux flux éventuels vers la faune.

Si les plantes sont récoltées, les métaux pourraient être mis en décharge contrôlée ou être recyclés en industrie des métaux non ferreux après incinération de la matière végétale. Dans ce dernier cas, par analogie avec les traitements physico-chimiques, la phytoextraction peut être comparée à un lavage ou à un pompage. L'avantage de la phytoremédiation est qu'elle laisse un sol fertile après traitement. Un traitement par phytoremédiation n'aboutira pas à l'extraction de tous les métaux du sol. Le pool des éléments mobiles pourra être réalimenté par les métaux échangeables. Il ne faut pas négliger l'évaluation de l'impact résiduel du traitement par phytoextraction.

De nombreuses réglementations concernant les teneurs en métaux des sols et de l'environnement existent dans différents pays industrialisés. Les valeurs de référence ou les valeurs seuils sont variables aussi bien quantitativement que par leurs protocoles d'obtention. Peut-être est-il souhaitable de situer les niveaux de référence, non seulement par rapport à des concentrations, mais aussi par rapport à des données écotoxicologiques relatives aux risques d'accumulation de polluants dans la chaîne alimentaire.

Figure 58. Cycle des métaux dans le système sol- plante

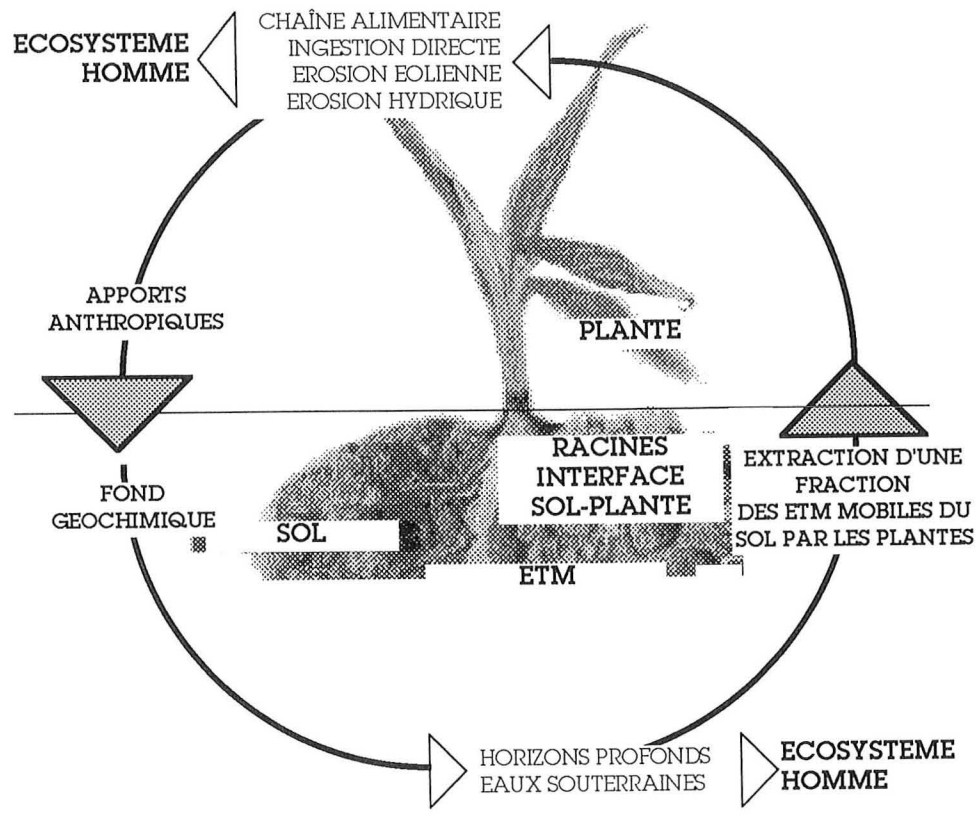
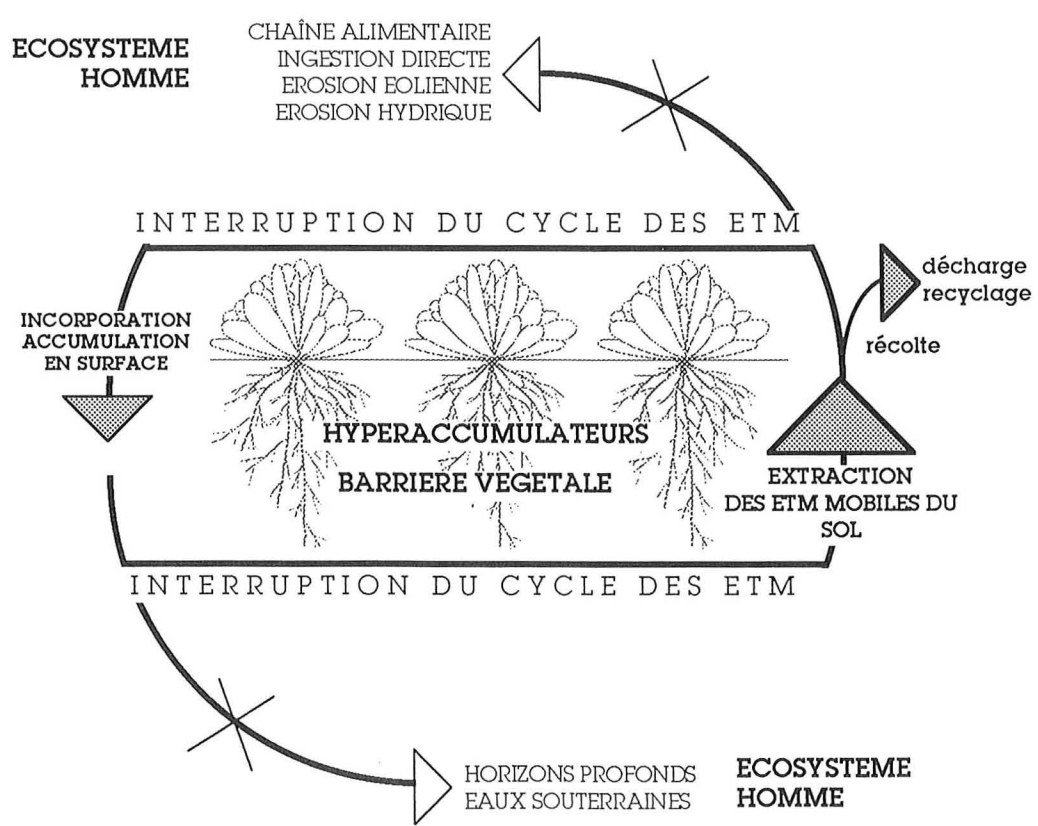


Figure 59. Phytoextraction et diminution des risques de transfert des métaux vers les écosystèmes et l'homme



3. Perspectives d'optimisation des filières de phytoremédiation

Tous les aspects de la phytoextraction n'ont pas été abordés. Des progrès sont encore nécessaires à son optimisation et à la définition de ses limites. Un effort de recherche pluridisciplinaire regroupant la physiologie végétale, la pédochimie, la microbiologie, la génétique, et plus généralement l'agronomie et le génie de l'environnement est indispensable. Si nous avons acquis des connaissances sur l'adaptation de la phytoextraction à différentes conditions édaphiques ou de nature de pollution et sur la domestication des plantes hyperaccumulatrices, des travaux restent à mener sur la compréhension des mécanismes physiologiques de l'hyperaccumulation des métaux. Comme pour la production agricole, la dynamique de l'azote apparaît donc essentielle et les processus de transformation de l'azote dans les sols industriels pollués par les métaux mériteraient une attention toute particulière (Yevdokimova, 1994). Dans certains cas, la phytoextraction d'un élément pourrait nécessiter l'apport d'agents chélatants au sol car les propriétés chimiques de la plante ou du sol réduisent le prélèvement de l'élément et son transfert vers les parties aériennes (Huang & Cunningham, 1996 ; Blaylock *et al.*, 1997). Il faudra définir si la microflore rhizosphérique et l'exsudation racinaire des métallobytes contribuent à l'exploration du sol et surtout à l'exploitation des métaux. L'amélioration génétique des performances des plantes sauvages est également une voie d'optimisation de la phytoextraction. Enfin, la poursuite du recensement des espèces hyperaccumulatrices, outils potentiels de décontamination, est indispensable avant qu'elles ne disparaissent. La remédiation de sols contaminés par différents éléments comme As, Cu, Cs, Sr ou U en utilisant des hyperaccumulateurs n'a pas encore été démontrée. Elle sera réalisable si des recherches créatives sont entreprises sur la connaissance et le traitement des multipollutions. En fait, il conviendrait de rechercher les espèces ou les sélectionner de façon à avoir à la fois une espèce ou une variété qui tolère le plus le métal, répond à la fertilisation par un accroissement de la biomasse, et présente une forte affinité pour les métaux les plus toxiques.

Conclusion générale

Conclusion générale

La phytoextraction est, dans son principe, l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices pour extraire les métaux des sols pollués. Il s'agirait donc d'implanter des végétaux sélectionnés pour leur aptitude à extraire les métaux, de les conduire à l'aide de méthodes agronomiques adaptées et de récolter les parties aériennes porteuses de la pollution métallique qui peuvent être incinérées, mises en décharge, voire utilisées comme minerai en fonderie. Les conditions de la phytoextraction des métaux sont l'installation des plantes hyperaccumulatrices sur les sols à traiter, l'exploration des sols par les racines, la mobilité des métaux à extraire et finalement l'extraction des métaux et leur transfert vers les parties aériennes des plantes. Le développement de cette approche nécessite donc la domestication d'une ou de plusieurs espèces végétales, c'est à dire l'établissement d'itinéraires techniques adaptés pour une efficacité maximale du traitement de sols dont les propriétés sont très différentes de celles sur lesquels les hyperaccumulateurs sont présents naturellement. Il était donc nécessaire, avant d'établir des scénarios de phytoextraction, de connaître le comportement des plantes hyperaccumulatrices sur les sols pollués en focalisant sur leur efficacité à diminuer le risque lié à la présence de fortes concentrations de métaux biodisponibles dans les sols. La connaissance des relations sol-plante hyperaccumulatrices devait nous permettre ensuite de situer le potentiel présenté par la phytoextraction pour gérer différentes situations de pollution de sols. Dans ce but, nous avons retenu comme plante modèle l'hyperaccumulateur de Zn *T. caerulescens* et effectué différentes expérimentations en conditions contrôlées pour mieux connaître la réponse de la plante aux contraintes des sols pollués et aux traitements agronomiques comme la fertilisation. Ces expérimentations ont été complétées par des essais de plein champ afin de valider les résultats obtenus et de mieux cerner le potentiel des hyperaccumulateurs et les possibilités d'application de la phytoextraction en fonction de l'urgence de la décontamination et de l'objectif de dépollution visé.

A l'issue de ce travail, nous disposons de nouveaux éléments de compréhension du fonctionnement du système sol-métal-hyperaccumulateur. Une première série d'expériences en vases de végétation a permis de démontrer que *Thlaspi caerulescens* peut germer et croître sur des milieux aussi différents que les sols agricoles, les sols de friches industrielles qu'ils soient pollués par le Zn ou par le Pb ou encore majoritairement par des hydrocarbures et sur des boues provenant de sédiments pollués de cours d'eau. Dans ces conditions, la production de biomasse par l'hyperaccumulateur varie grandement et l'extraction des métaux et leur stockage dans les parties aériennes dépend du niveau de métal total dans le sol et de sa biodisponibilité. Il a été noté qu'en absence, ou quasi absence de Zn, métal hyperaccumulé par cette espèce, le Cd voire le Pb offrent des concentrations relativement élevées dans les tissus. Ensuite, lorsque la conditions d'installation est remplie, nous avons montré que l'accumulation des métaux par les

plantes hyperaccumulatrices peut être modifiée par les pratiques agronomiques. Ainsi, dans nos conditions de culture, l'apport d'engrais azoté augmente la minéralomasse métallique extraite en favorisant la production de biomasse tout en pouvant déprimer fortement la teneur du Zn dans la plante. Dans le même temps, des apports d'engrais azoté provoquent une augmentation du prélèvement du Cd chez *Thlaspi Viviez* montrant que l'effet de la fertilisation azotée est variable en fonction de l'origine de l'espèce. La fertilisation phosphatée reste sans effet marquant sur la production de biomasse mais son absence a plutôt une action positive sur le prélèvement des métaux. Nous avons envisagé de pratiquer des associations de cultures afin d'extraire plusieurs métaux simultanément. Dans nos conditions, cette pratique diminue systématiquement l'efficacité de la phytoextraction. L'exploration du sol par les racines étant une condition indispensable à la phytoextraction, nous avons conduit, dans un troisième temps, une étude à l'aide de dispositifs rhizotroniques permettant le suivi quotidien du développement du système racinaire et mis en évidence que *T. caerulescens* installe et développe son système racinaire préférentiellement dans les zones polluées par le Zn où il offre alors une morphologie particulière. Les racines des plantes hyperaccumulatrices explorent préférentiellement les zones les plus contaminées et la présence simultanée de terres polluée et non polluée, configuration fréquente dans les sites contaminés, augmente l'efficacité de la phytoextraction probablement par une meilleure nutrition minérale de la plante ou une moindre phytotoxicité. Après avoir étudié le fonctionnement de *T. caerulescens* en conditions contrôlées nous avons suivi son implantation ainsi que l'extraction des métaux en conditions climatiques et édaphiques réelles. Cette partie du travail a permis d'acquérir des connaissances sur l'aptitude de l'hyperaccumulateur à s'installer durablement sur des sols aux propriétés différentes de celles de son milieu d'origine et à extraire les métaux.

Les connaissances nouvelles que nous avons acquises permettent de mieux comprendre le fonctionnement des hyperaccumulateurs. La réponse de l'hyperaccumulateur à des teneurs croissantes de métaux du sol s'effectue en trois étapes. Dans une première phase l'hyperaccumulation est faible jusqu'à un seuil de carence. La plante aurait un besoin interne du métal hyperaccumulé. Puis intervient une phase d'accumulation jusqu'à un seuil de tolérance au moins cent fois plus élevé que celui des plantes non hyperaccumulatrices. Enfin, la dernière phase est la toxicité. Comme pour les plantes non-hyperaccumulatrices, le métal est toxique pour les hyperaccumulateurs lorsque sa teneur biodisponible dépasse le seuil de tolérance. En conditions contrôlées comme en conditions de terrain, l'hyperaccumulation est réalisée à la condition que la plante puisse tolérer et même hypertolérer les métaux. Si cette condition est réalisée, les propriétés du sol qui contrôlent l'aptitude du système racinaire des hyperaccumulateurs à explorer le profil sont déterminantes. Ainsi, *T. caerulescens* explore préférentiellement les zones polluées des sols avec une affinité particulière pour le Zn. La diversité de la morphologie du système racinaire de *T. caerulescens* est une voie par laquelle cette espèce assure ses performances d'hyperaccumulation. Les variations de pH dans la

rhizosphère de l'hyperaccumulateur pourraient jouer un rôle significatif dans le transfert des métaux du sol à la plante. Une fertilisation raisonnée permet d'améliorer le potentiel d'exportation des métaux par l'hyperaccumulateur en favorisant la production de biomasse. Des compétitions s'établissent entre des plantes hyperaccumulatrices cultivées en association et diminuent la production de biomasse et l'extraction des métaux. Deux hyperaccumulateurs de la même espèce collectées sur des sites différents ont des stratégies d'acquisition des métaux différentes sur un même sol.

Des applications pratiques découlent des connaissances fondamentales acquises. Bien qu'encore au stade des essais *in situ*, la phytoextraction serait un outil complémentaire possible d'intervention sur des sols pollués par les métaux. Intéressant les horizons supérieurs du sol, elle constituerait notamment la première étape pour l'installation d'une flore durable sur les sites fortement contaminés. Nos résultats permettent de définir les domaines d'application de la phytoremédiation et de proposer des itinéraires techniques pour la phytoextraction des métaux des systèmes sols-boues. L'augmentation des exportations de Cd par *Thlaspi* Viviez avec les apports de fertilisation azotée constituent par exemple un résultat essentiel dans une perspective de mise en œuvre de la phytoextraction. Pour des sols ayant des teneurs de métaux très élevées, il n'est pas envisageable à court ou moyen terme d'extraire la totalité du métal. Cependant, une culture de plante hyperaccumulatrice provoque une diminution significative de la taille du compartiment du métal mobile ou assimilable des sols. Pour des sites dont les sols présentent des teneurs moyennes à faibles de métaux, la phytoextraction pourrait être envisagée pour diminuer leur fraction mobile. Ainsi, des cultures de plantes hyperaccumulatrices permettraient de maintenir des teneurs faibles de métaux biodisponibles dans des sols agricoles recevant des apports répétés de déchets ou de produits dérivés. Cette pratique permettrait de diminuer le risque de transfert de métaux vers les plantes de grande culture. De plus, les plantes hyperaccumulatrices constituent une barrière physique et chimique, autrement dit une zone tampon, interrompant ou réduisant les flux de métaux. La phytoextraction est alors définie comme un moyen de confiner un site fortement pollué, par analogie avec les techniques classiques de traitement des sites et de diminuer ainsi le risque écotoxicologique lié à la diffusion des métaux biodisponibles. Une voie de décontamination serait l'arrasement d'une litière de plantes hyperaccumulatrices après plusieurs années de culture sans récolte.

Nous avons à traiter des pollutions qui trouvent leur origine dans les activités industrielles passées, c'est à dire qui ont considérablement évolué sur le plan des formes chimiques et par conséquent de leur biodisponibilité. La description de la biodisponibilité des métaux des sols pour les plantes hyperaccumulatrices doit être approfondie afin de mieux connaître les limites de l'extraction. Il est notamment nécessaire de mieux comprendre les mécanismes de fourniture des métaux par la phase solide du sol à la solution du sol et aux hyperaccumulateurs. Leur connaissance permettra d'envisager des actions pour augmenter la mobilité des métaux et

faciliter leur prélèvement. La compréhension des processus de prélèvement et de translocation des métaux dans les plantes hyperaccumulatrices constitue un point clé du développement de la phytoextraction. Parallèlement, les techniques traditionnelles de sélection utilisant la diversité génétique naturelle disponible au sein d'une espèce afin de combiner les caractéristiques requises pour le succès de la phytoextraction doivent être encouragées. Il ne faudra pas occulter les conséquences possibles liées à une utilisation non maîtrisée de la technique. Ainsi des travaux devront être entrepris sur les risques liés à l'ingestion de plantes hyperaccumulatrices par des animaux. Il est ainsi nécessaire d'engager des phases d'essais complémentaires dans différents domaines de la phytoremédiation.

Nous avons vu que l'activité humaine peut volontairement ou involontairement être génératrice de biodiversité par la création d'écosystèmes particuliers. Ces écosystèmes sont par exemple d'anciens sites miniers ou industriels sur lesquels se développe une flore adaptée très particulière. De nouveaux écosystèmes agricoles et urbains sont également issus de l'activité humaine. Nos travaux ont montré que la culture de plantes hyperaccumulatrices de métaux peut améliorer et prolonger les relations de l'homme avec des sites dégradés. Si l'objectif actuel doit être le traitement des pollutions héritées des activités humaines, ultérieurement, lorsque les sites contaminés seront réhabilités, les plantes hyperaccumulatrices resteront peut-être des curiosités végétales ou des composantes d'écosystèmes nouveaux et originaux.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adriano, D.C. 1986. *Trace Elements in the Terrestrial Environment*. New York: Springer-Verlag.
- AFNOR. 1985. *Norme NFU 44041 Matières fertilisantes - boues des ouvrages de traitement des eaux usées urbaines*.
- AFNOR. 1994. *Qualité des Sols*. Eds Afnor, *Environnement*. Paris.
- Alexandre, D., et H. Ott. 1979. Treatment and use of sewage sludge. First European Symposium on the Treatment and the Use of Sewage Sludge, Cadarache.
- Allen, H.E., et P.H. Chen. 1993. Remediation of metal contaminated soil by EDTA incorporating electrochemical recovery of metal and EDTA. *Environmental Progress* 12:284, 293.
- Alloway, B.J., ed. 1990. *Heavy metals in soils*. Glasgow: Blackie and Son Ltd.
- ANRED, 1988. La valorisation des boues de stations d'épuration urbaines. *Cahiers techniques de la Direction de l'Eau et de la Prévention des Pollutions et de Risques*, 23, 117 p.
- Babut M., 1997. La démarche évaluation des risques appliquée aux boues. Journées Techniques Ademe Epandage des boues résiduelles - Aspects sanitaires et Environnementaux, Paris.
- Baize, D. 1993. Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français - premiers résultats du programme ASPITET. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 22:37-46.
- Baize, D., et J. Maucorps. 1995. Données pédo-géochimiques d'un profil de la pelouse métallicole de Mortagne du Nord. *SESCPF, Doc. Dact.*:6.
- Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* 3 (1-4):643-654.
- Baker, A.J.M. 1984. Environmentally-induced cadmium tolerance in the grass *Holcus lanatus* L. *Chemosphere* 13 (4):585-589.
- Baker, A.J.M. 1987. Metal tolerance. *New Phytol.* 106 (Suppl.):93-111.
- Baker, A.J.M., et R.R. Brooks. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1:81-126.
- Baker, A.J.M., R.R. Brooks, et R.D. Reeves. 1988. Growing for gold...and copper...and zinc. *New Scientist*:44-48.
- Baker, A.J.M., S.P. McGrath, C.M.D. Sidoli, et R.D. Reeves. 1993. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. International Conference on Environmental Biotechnology in Waste Treatment and Recycling, Hong Kong.
- Baker, A.J.M., S.P. McGrath, C.M.D. Sidoli, et R.D. Reeves. 1994. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources, Conservation and Recycling* 11:41-49.
- Baker, A.J.M., R.D. Reeves, et A.S.M. Hajar. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). *New Phytol.* 127:61-68.

- Baker, A.J.M., R.D. Reeves, et S.P. McGrath. 1991. *In situ* decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants-a feasibility study. In *In situ Bioreclamation : Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*, R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel eds. Boston/London: Butterworth-Heinemann.
- Baker, A.J.M., et P.L. Walker. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary Aspects*, A. J. Shaw ed. Boca Raton: CRC Press.
- Bakhsh, A., TH. Flowers, et I.D. Pulford. 1990. Effect of growing ryegrass on the distribution of zinc in soil pools. *Plant and soil* 129:187-194.
- Baltzer, C. 1993. Les métaux lourds dans les boues d'épuration urbaines du Bas-Rhin : quel risque en cas d'épandage agricole ? DESS Science de l'Environnement, Université Louis Pasteur Strasbourg.
- Bañuelos, G.S., G.E. Cardon, C.J. Phene, L. Wu, S. Akohoue, et S. Zambruski. 1993b. Soil boron and selenium removal by three plant species. *Plant and Soil* 148:253-263.
- Batjes, N.H., et E.M. Bridges. 1993. Soil vulnerability to pollution in Europe. *Soil Use and Management* 9 (1):25-29.
- Bell, P.F., D.R. Parker, et A.L. Page. 1992. Contrasting selenate-sulfate interactions in selenium-accumulating and nonaccumulating plant species. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1818-1824.
- Bell, R.M. 1992. Higher plant accumulation of organic pollutants from soils: EPA.
- Bernal, M.P., S.P. McGrath, A.J. Miller, et A.J.M. Baker. 1994. Comparison of the chemical changes in the rhizosphere of the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* with the non-accumulator *Raphanus sativus*. *Plant and Soil* 164:251-259.
- Bernard, A., et R. Lauwerys. 1984. Cadmium in human population. *Experientia* 40:143-151.
- Berthelin, J. 1983. Microbial weathering processes. In *Microbial Geochemistry*, W. E. Krumbein ed. Oxford: Blackwell Scientific Publ.
- Berti, W.R., et S.D. Cunningham. 1994. Remediating soil lead with green plants. In *Trace Substances, Environment and Health*, C. R. Cothorn ed. Northwood.
- Bick, W., P.C. Dekock, et O. Vergnano Gambi. 1982. A relationship between free amino acid and nickel contents in leaves and seeds of *Alyssum bertolonii*. *Plant and Soil* 66:117-119.
- Bitton, G., et B. Koopman. 1992. Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 125:1-22.
- Bitton, G., B. Koopman, et O. Agami. 1992. MetPAD : a bioassay for rapid assessment of heavy metal toxicity in wastewater. *Water Environment Research* 64:834-836.
- Bitton, G., E. Garland, I.C. Kong, J.L. Morel, B. Koopman. A direct solid-phase assay specific for heavy metal toxicity. I. Methodology. *Journal of Soil Contamination*, 5(4): 385-394
- Blaylock, M.J., et B.R. James. 1994. Redox transformations and plant uptake of selenium resulting from root-soil interactions. *Plant and Soil* 158:1-12.
- Blaylock, M.J., D.E. Salt, S. Dushenkov, O. Zakharova, C. Gussman, Y. Kapulnik, B.D. Ensley, et I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31:860-865.

- Boularbah, A., J.L. Morel, G. Bitton, et A. Guckert. 1992. Cadmium biosorption and toxicity to six cadmium-resistant gram-positive bacteria isolated from contaminated soil. *Environmental Toxicology and Water Quality : An International Journal* 7:237-246.
- Bourg, A., D.R. Thévenot, B. Boutier, et J.M. Mouchel. 1992. Caractérisation de la mobilité des métaux lourds dans les sédiments. *Recherche Etude Environnement Développement*:27-33.
- Boyd, R.S., et S.N. Martens. 1992. The raison d'être for metal hyperaccumulation by plants. The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils, Andover, Hampshire, UK.
- Boyd, R.S., et S.N. Martens. 1994. Nickel hyperaccumulated by *Thlaspi montanum* var. *montanum* is acutely toxic to an insect herbivore. *Oikos* 70:21-25.
- Boyd, R.S., J.J. Shaw, et S.N. Martens. 1994. Nickel hyperaccumulation defends *Streptanthus polygaloides* (Brassicaceae) against pathogens. *American Journal of Botany* 81 (3):294-300.
- Bramley, R.G.V. 1990. Cadmium in New Zealand agriculture. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 33:505-519.
- BRGM, ed. 1995. *Gestion des sites (potentiellement) pollués*. Orléans: Ministère de l'Environnement.
- Bridges, E.M. 1991. Dealing with contaminated soils. *Soil Use and Management* 7 (3):151-157.
- Brooks, R.R., et F. Malaisse. 1990. Metal-enriched sites in south central Africa. In *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary Aspects*, A. J. Shaw ed. Boca Raton: CRC Press.
- Brooks, R.R., R.S. Morrison, R.D. Reeves, T.R. Dudley, et Y. Akman. 1979. Hyperaccumulation of nickel by *Alyssum* Linnaeus (Cruciferae). *Proc. R. Soc. Lond.* 203:387-403.
- Brooks, R.R., S.D. Naidu, F. Malaisse, et J. Lee. 1987. The elemental content of metallophytes from the copper/cobalt deposits of Central Africa. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* 119:179-191.
- Brooks, R.R., et C.C. Radford. 1978. Nickel accumulation by european species of the genus *Alyssum*. *Proc. R. Soc. Lond.* 200:217-224.
- Brooks, R.R., R.D. Reeves, et T. Jaffré. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration* 7:49-57.
- Brooks, R.R., S. Shaw, et A. Asensi Marfil. 1981. The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species. *Physiol. Plant* 51:167-170.
- Brooks, R.R., J.M. Trow, J.M. Veillon, et T. Jaffré. 1981. Studies on manganese-accumulating *Alyxia* species from New Caledonia. *Taxon* 30 (2):420-423.
- Brown, S.L., R.L. Chaney, J.S. Angle, et A.J.M. Baker. 1994. Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and Bladder campion for zinc- and cadmium-contaminated soil. *J. Environ. Qual.* 23:1151-1157.
- Brown, S.L., R.L. Chaney, J.S. Angle, et A.J.M. Baker. 1995. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59:125-133.
- Bruckert, S., F. Cachau-Hereillat, H. Capdecombe, et B. Guillet. 1979. Intervention du cycle biogéochimique dans la genèse des concentration anormales du plomb - Exemple de la vallée du Rahin (Haute-Saône, France). *BCREDP* 3:281-297.

- Brune, A., W. Urbach, et K.J. Dietz. 1994. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plant, Cell and Environment* 17:153-162.
- Bugbee, G.J., et C.R. Frink. 1995. Phosphorus and zinc fertilization of corn grown in a Connecticut soil. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 26 (1-2):269-276.
- Bullock, P., et P.J. Gregory. 1991. *Soils in the Urban Environment.*, T.B.S.o.S.S.a. T.N.C. Council ed. London: Blackwell Scientific Publications.
- Calmano, W., J. Hong, et U. Förstner. 1993. Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Wat. Sci. Tech.* 28 (8-9):223-235.
- Canarutto, S. 1993. Decontamination of an heavy metal-contaminated soil by the growth of *Medicago sativa* L. : laboratory trials. *Fresenius Envir. Bull.* 2:711-716.
- Cataldo, D.A., T.R. Garland, et R.E. Wildung. 1978. Nickel in plants 1. uptake kinetics using intact soybean seedlings. *Plant Physiol.* 62:563-565.
- Cataldo, D.A., T.R. Garland, et R.E. Wildung. 1981. Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiol.* 68:835-839.
- Cataldo, D.A., et R.E. Wildung. 1978. Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. *Environmental Health Perspectives* 27:149-159.
- Conseil des Communautés Européennes, 1986 et 1988. Directive du Conseil du 12 juin 1986 modifiée par la Directive du 2 décembre 1988 relative à la protection de l'environnement et notamment des sols, lors de l'utilisation des boues d'épuration en agriculture. 86/278/CEE, *J.O. des Communautés Européennes* n° L 181/6
- CECAD. 1992. Le cadmium en "questions": Collectif pour l'Etude du Cadmium.
- Cellini Legittimo, P., L. Ducceschi, et M. Martini. 1995. Plant species as indicators of geochemical anomalies : experiences on *Ilex aquifolium* (Holly). *Environmental Geology* 25:114-118.
- Chaîneau, C., et J.L. Morel. 1995. Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. *Environmental Science and Technology* 29(6):1615-1621
- Chaîneau, C.H., J.L. Morel, et J. Oudot. 1996. Land treatment of oil based drill cuttings in an agricultural soil. *J. Environ. Qual.* 25:858-867
- Chaney, R.L., S.L. Brown, Y.M. Li, J.S. Angle, F.A. Homer, et C.E. Green. 1995. Potential use of metal hyperaccumulators. *Mining Environmental Management* 3 (3):9-11.
- Chaney, R.L., M. Malik, Y.M. Li, S.L. Brown, E.P. Brewer, J.S. Angle, et A.J.M. Baker. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinions in Biotechnology*, sous presse
- Chaney, R.L., et J.A. Ryan. 1994. *Risk based standards for arsenic, lead and cadmium in urban soils.* DEHEMA ed. Frankfurt.
- Chapuis, R., et P. Roudier. 1995. Les techniques de dépollution. *Face au Risque*, 13-15.
- Chassin, P., et C. Juste. 1997. Les micropolluants minéraux et l'épandage des boues. Journées Techniques Ademe - Epandage des boues résiduelles - Aspects sanitaires et Environnementaux, Paris.
- Chassin, P., M. Mench, et D. Baize. 1997. Qualité des produits végétaux récoltés et éléments traces - nécessité d'une base de données de référence sol-plante ? Journées Techniques Ademe - Epandage des boues résiduelles - Aspects sanitaires et environnementaux, Paris.
- Cleal, Q.A. 1994. Soil geochemistry in relation to the distribution of metallophyte angiosperms and lichens. Ph.D. thesis, University of Leeds, UK.

- Clément, A., J. Garbaye, F. Le Tacon, et J.L. Morel. 1978. Valorisation des boues résiduares de stations d'épuration urbaines en sylviculture. Conséquences sur l'Environnement: Convention Ministère de l'Environnement.
- Costa, G., et J.L. Morel. 1994. Efficiency of H⁺ ATPase activity on cadmium uptake by four cultivars of lettuce. *Journal of Plant Nutrition* 17(4):627-637.
- Cotter-Howells, J. 1996. Lead phosphate formation in soils. *Environ. Pollut.* 93:9-16.
- Coulaud, J., et T. McNeilly. 1992. Zinc tolerance in populations of *Deschampsia cespitosa* (Gramineae) beneath electricity pylons. *Plant Systematics and Evolution* 179:175-185.
- Cunningham, S.D., et W.R. Berti. 1993. Remediation of contaminated soils with green plants : an overview. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 29P (4):207-212.
- Cunningham, S.D., W.R. Berti, et J.W. Huang. 1995a. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* 13 (9):393-397.
- Cunningham, S.D., W.R. Berti, et J.W. Huang. 1995b. Remediation of contaminated soils and sludges by green plants. In *Bioremediation of inorganics*, edited by J. L. M. Robert E. Hinchee, David R. Burris.
- Cunningham, S.D., et C.R. Lee. 1995. Phytoremediation : plant-based remediation of contaminated soils and sediments. *Bioremediation : Science and Applications, SSSA Special Publication* 43:145-156.
- Cunningham, S.D., et D.W. Ow. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.* 110:715-719.
- Curl, et Truelove. 1986. *The rhizosphere*: Springer Verlag.
- Darmendrail, D., J.P. Prez, et P. Six. 1991. Devenir des produits de curage d'un cours d'eau pollué : exemple de la Marque (Nord). *TSM L'eau*:79-87.
- Dechelette, O., et J.P. Descaves. 1990. Contrôle des décharges et réhabilitation des friches industrielles d'origine sidérurgique en France. Les Sites Contaminés, la Revitalisation des Anciens Sites, Sarrebruck (D).
- Deneux-Mustin, S., J. Rouiller, S. Durecu, C. Munier-Lamy, et J. Berthelin. 1994. Détermination de la capacité de fixation des métaux par les biomasses microbiennes des sols, des eaux et des sédiments : intérêt de la méthode de titrage potentiométrique. *C.R. Acad. Sci. Paris* 319 (II):1057-1062.
- Didier, V., A. Gomez, M. Mench, P. Masson, et C. Lambrot. 1992. Contrôle de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux des sols contaminés : efficacité de différents composés du fer et d'autres composés minéraux: Ministère de l'Environnement.
- Didier, V., M. Mench, A. Gomez, A. Manceau, D. Tinet, et C. Juste. 1993. Réhabilitation de sols pollués par le cadmium : évaluation de l'efficacité d'amendements minéraux pour diminuer la biodisponibilité du cadmium. *C.R. Acad. Sci., Paris* 316:83-88.
- DIN, Deutsches Institut für Normung. 1993. Bodenbeschaffenheit; Ammoniumnitratextraktion zur Bestimmung mobiler Spurenelemente in Mineralböden. In *Boden - Chemische Bodenuntersuchungsverfahren*, DIN. Berlin.
- Dinkelaker, B., G. Hahn, V. Röhmeld, G.A. Wolf, et H. Marschner. 1993. Non-destructive methods for demonstrating chemical changes in the rhizosphere I. Description of methods. *Plant and Soil* 155-156:67-70.
- Dinkelaker, B., V. Röhmeld, et H. Marschner. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant, Cell and Environment* 12:285-292.

- Domergues, F.L., et J.C. Védy. 1992. Mobility of heavy metals in soil profiles. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 46:13-23.
- Dudley, T.R. 1964. Synopsis of the genus *Alyssum*. *Journal of the Arnold Arboretum* XLV (3):358-373.
- Dushenkov, V., N.P.B.A. Kumar, H. Motto, et I. Raskin. 1995. Rhizofiltration : the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ. Sci. Technol.* 29:1239-1245.
- Duvigneaud, P. 1966. Note sur la biogéochimie des serpentines du sud-ouest de la France. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* 99:271-329.
- Duvigneaud, P., et S. Denaeyer-De-Smet. 1963. Cuivre et végétation au Katanga. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* 96:93-224.
- Dzombak, D.A., P.A. Labieniec, et R.L. Siegrist. 1993. The need for uniform soil clean-up goals. *Environ. Sci. Technol.* 27:765-766.
- Ernst, W., ed. 1974. *Schwermetallvegetation der Erde*. R. Tüxen. Geobotanica Selecta ed. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Ernst, W.H.O., A.C. Verleij, et H. Schat. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.* 41 (3):229-248.
- Fardeau, J.C. 1981. Cinétiques de dilution isotopique et phosphore assimilable des sols. Thèse Doct. Sci., Université de Paris VI.
- Farrell, M. 1996. Purifying wastewater in greenhouses. *Biocycle* 37 (1):30-33.
- Felix, H.R. 1995. *In situ* decontamination of heavy metal polluted soils using heavy-metal-accumulating plants. Phytoremediation by hyperaccumulator plants-current research and future requirements, Rothamsted.
- Ferguson, J.E. 1990. *The Heavy Elements : Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*: Pergamon Press.
- Fetzer, K.D., R. Hindel, Ch. König, et H.J. Both. 1991. Geochemische Untersuchungen im Saarland - Eine Bewertung aus Bodenkundlicher Sicht: Geologisches Landesamt des Saarlandes.
- Fiorenza, S., K.L. Duston, et C.H. Ward. 1991. Decision making-Is bioremediation a viable option ? *Journal of Hazardous Materials* 28:171-183.
- Gabbrielli, R., R. Birtolo, et O. Vergnano Gambi. 1981. Evaluation of nickel tolerance in *Alyssum*. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali* 88:143-153.
- Gabbrielli, R., L. Grossi, et O. Vergnano. 1989. The effect of nickel, calcium and magnesium on the acid phosphatase activity of two *Alyssum* species. *New Phytol.* 111 (4):631-636.
- Gabbrielli, R., C. Mattioni, et O. Vergnano. 1991. Accumulation mechanisms and heavy metal tolerance of a nickel hyperaccumulator. *Journal of Plant Nutrition* 14 (10):1067-1080.
- Gabbrielli, R., T. Pandolfini, et B. Pucci. 1995. Physiological role of root surface phosphatases in adaptation strategies of *Alyssum bertolonii* Desv. to serpentine edaphic conditions. *Phyton* 35 (2):189-197.
- Gabbrielli, R., T. Pandolfini, et O. Vergnano. 1990. Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies. *Plant and Soil* 122 (2):271-277.
- Gabbrielli, R., O. Vergnano, et B. Pulli. 1988. Relationship between Ni²⁺ and acid phosphatase activity in phosphorus nutrition of *Alyssum bertolonii*. *Giornale Botanico Italiano* 122 (suppl. 2):161-162.

- Gallais, A., et H. Bannerot, eds. 1994. *Amélioration des espèces végétales cultivées - Objectifs et critères de sélection*. INRA eds.
- Gardner, W.K., et D.G. Parbery. 1981. Proteoid root morphology and function in *Lupinus albus*. *Plant and Soil* 60:143-147.
- Gardner, W.K., D.G. Parbery, et D.A. Barber. 1982. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. *Plant and Soil* 68:33-41.
- Gerke, J., W. Römer, et A. Jungk. 1994. The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.; effects on soil solution concentrations of phosphate, iron, et aluminium in the proteoid rhizosphere in samples of an oxisol and a luvisol. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 157:289-294.
- Godin, P. 1983. Les sources de pollution des sols : essai de quantification des risques dus aux éléments traces. *Sci. Sol Bull. AFES* 2.
- Godin, P.M. 1982. Sources de contamination et enjeux. *Eléments Traces et Pollution des Sols*, Paris.
- Gomez, A., C. Juste, B. Nicibar, P. Lessart, A. Heres, et D. Alexandre. 1982. Définition des seuils de phytotoxicité de différents métaux susceptibles d'être rencontrés dans les boues de station d'épuration pour des sols à très faible ou à très fort pouvoir de fixation vis-à-vis des cations: Ministère de l'Environnement/INRA.
- Goubier, R. 1994. The rehabilitation of polluted soils. *Analisis Magazine* 22 (2):25-26.
- Grimal, J.Y. 1994. Influence de l'exsudation racinaire de *Zea mays* L. sur la mobilisation de formes de phosphore difficilement biodisponibles. Thèse de Doctorat, INPL, Nancy.
- Guiraud, G. 1984. Contribution du marquage isotopique à l'évaluation des transferts d'azote entre les compartiments organiques et minéraux dans les systèmes sol-plante. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- Harrison, R.M., et W.R. Johnston. 1985. Deposition fluxes of lead, cadmium, copper and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) on the verges of a major highway. *The Science of the Total Environment* 46:121-135.
- Heinrichs, H., et R. Mayer. 1977. Distribution and cycling of major and trace elements in two central european forest ecosystems. *J. Environ. Qual.* 9:111.
- Herms, U., et G. Brümmer. 1977. Der Einfluß des pH-Wertes auf die Löslichkeit von Schwermetallen in Böden und Komposten. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 25:139-142.
- Hewitt, C.N., et M.B. Rashed. 1991. The deposition of selected pollutants adjacent to a major rural highway. *Atmospheric Environment* 22:979-983.
- Hicks, R.E., et S. Tondorf. 1993. Electrorestoration of metal contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* 28:2203-2210.
- Hoffland, E., G.R. Findenegg, et J.A. Nelemans. 1989a. Solubilization of rock phosphate by rape I. Evaluation of the role of the nutrient uptake pattern. *Plant and Soil* 113:155-160.
- Hoffland, E., G.R. Findenegg, et J.A. Nelemans. 1989b. Solubilization of rock phosphate by rape II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant and Soil* 113:161-165.
- Homer, F.A., R.S. Morrison, R.R. Brooks, J. Clemens, et R.D. Reeves. 1991a. Comparative studies of copper uptake by some nickel hyperaccumulators of the genus *Alyssum*. *Plant and Soil* 138:195-205.

- Homer, F.A., R.D. Reeves, R.R. Brooks, et A.J.M. Baker. 1991b. Characterization of the nickel-rich extract from the nickel hyperaccumulator *Dichapetalum gelonioides*. *Phytochemistry* 30:2141-2145.
- Huang, J.W., et S.D. Cunningham. 1996. Lead phytoextraction : species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologist* 134:75-84.
- Ibekwe, A.M., J.S. Angle, R.L. Chaney, et P. Berkum van. 1995. Sewage sludge and heavy metal effects on nodulation and nitrogen fixation of legumes. *J. Environ. Qual.* 24 (6):1199-1204.
- Ingrouille, M.J., et N. Smirnoff. 1986. *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. (*T. alpestre* L.) in Britain. *New Phytol.* 102:219-233.
- Jaffré, T. 1980. *Etude écologique du peuplement végétal des sols dérivés de roches ultrabasiques de Nouvelle Calédonie*: ORSTOM, Paris.
- Jaffré, T., R.R. Brooks, J. Lee, et R.D. Reeves. 1976. *Sebertia acuminata* : a hyperaccumulator of nickel from New Caledonia. *Science* 193:579-580.
- James, B.R. 1996. The challenge of remediating chromium-contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* 30:248-251.
- James, D.W., C.J. Hurst, et T.A. Tindall. 1995. Alfalfa cultivar response to phosphorus and potassium deficiency : elemental composition of the herbage. *Journal of Plant Nutrition* 18 (11):2447-2464.
- John, M.K. 1968. Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. *Soil Sci.* , 4, 214-220
- Jones, K.C., A. Jackson, et A.E. Johnston. 1992. Evidence for an increase in the cadmium content of herbage since the 1860s. *Environmental Science & Technology* 26:834-836.
- Jopony, M., et S.D. Young. 1994. The solid/solution equilibria of lead and cadmium in polluted soils. *European Journal of Soil Science* 45:59-70.
- Jung, M.C., et I. Thornton. 1994. Heavy metal contamination in soils and plants around a copper-tungsten mine in South Korea.
- Juste, C. 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Science du sol* 26 (2):103-112.
- Juste, C., P. Chassin, A. Gomez, M. Linères, B. Mocquot, I. Feix, et J. Wiart. 1995. *Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaires urbaines*. Ademe Editions, Collection Valorisation agricole des boues d'épuration.
- Juste C., et P. Solda, 1977. Effets d'applications massives de boues de stations d'épuration urbaines en monoculture de maïs : actions sur le rendement et la composition des plantes et sur quelques caractéristiques du sol. *Bull. AFES Science du Sol* 3:147-155.
- Juste, C., et M. Mench. 1992. Long-term application of sewage sludge and its effects on metal uptake by crops. In *Biogeochemistry of Trace Metals*, D. C. Adriano ed. Boca Raton: Lewis.
- Kabata-Pendias, A., et H. Pendias, eds. 1992. *Trace elements in soils and plants*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Kafka, Z., et M. Kuras. 1994. Analysis of heavy metals in soils contaminated from different sources. *Fresenius Envir. Bull.* 3:407-412.
- Khan, A.A., et G.K. Zende. 1977. The site for Zn-P interactions in plants. *Plant and Soil* 46:259-262.

- Khan, L.I., et M.S. Alam. 1994. Heavy metal removal from soil by coupled electric-hydraulic gradient. *Journal of Environmental Engineering* 120 (6):1524-1543.
- Kloke, A. 1980. Richtwerte '80, Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturböden. *Mitt. des Verbandes der Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten*:1-3.
- Kloke, A., D.R. Sauerbeck, et H. Vetter. 1984. The contamination of plants and soils with heavy metals and the transport of metals in terrestrial food chains. In *Changing Metal Cycles and Human Health*, edited by J. O. Nriagu. Berlin: Springer Verlag.
- Krämer, U., J.D. Cotter-Howells, J.M. Charnock, A.J.M. Baker, et J.A.C. Smith. 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379:635-638.
- Kumar, N.P.B.A., S. Dushenkov, D.E. Salt, et I. Raskin. 1994. Crop Brassicas and phytoremediation - a novel environmental technology. *Cruciferae Newsletter* 46:18-19.
- Kumar, N.P.B.A., V. Dushenkov, H. Motto, et I. Raskin. 1995. Phytoextraction : the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* 29:1232-1238.
- Lambinson, J., et P. Auquier. 1963. La flore et la végétation des terrains calaminaires de la Wallonie septentrionale et de la Rhénanie aixoise. Types chronologiques et groupes écologiques. *Natura Mosana* 16 (14):113-131.
- Lane, S.D., et E.S. Martin. 1980. Further observations on the distribution of lead in juvenile roots of *Raphanus sativus*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 97:145-152.
- Läuchli, A. 1993. Selenium in plants : uptake, functions, et environmental toxicity. *Bot. Acta* 106:455-468.
- Le Clech, B. 1993. *Références Productions Végétales Grandes Cultures*. S. Agricole ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier.
- Lebourg, A., T. Sterckeman, H. Cieselski, et N. Proix. 1996. Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol. *Agronomie* 16:201-215.
- Lebreton, L., et D.R. Thévenot. 1992. Pollution métallique relargable par les aérosols d'origine autoroutière. *Environmental Technology* 13:35-44.
- Lecomte, P. 1995. *Les Sites Pollués - Traitement des Sols et des Eaux Souterraines*. T. D. Lavoisier ed. Paris.
- Lee, J., R.D. Reeves, R.R. Brooks, et T. Jaffré. 1977. Isolation and identification of a citrato-complex of nickel from nickel-accumulating plants. *Phytochemistry* 16:1503-1505.
- Lee, J., R.D. Reeves, R.R. Brooks, et T. Jaffré. 1978. The relation between nickel and citric acid in some nickel-accumulating plants. *Phytochemistry* 17:1033-1035.
- Leita, L., M.T. Baca Garcia, et A. Maggioni. 1992. Cadmium uptake by *Pisum sativum* : accumulation and defense mechanism. *Agrochimica* 26 (3):253-259.
- Li, Y.M., R.L. Chaney, J.S. Angle, K.Y. Chen, B.A. Kerschner, et A.J.M. Baker. 1996. Genotypical differences in zinc and cadmium hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Agron. Abstr.* 27.
- Li-Ming, X., et L. Ru-Kun. 1991. Influence of phosphate on transformation and plant uptake of cadmium in Cd-amended soils. *Pedosphere* 1 (1):63-72.
- Logan, T.J., L.E. Goins, et B.J. Lindsay. 1997. Field assessment of trace element uptake by six vegetables from N-viro soil. *Water Environment Research* 69 (1):28-33.

- Logan, T.J., B.J. Lindsay, L.E. Goins, et J.A. Ryan. 1997. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops : sludge rate response. *J. Environ. Qual.* 26:534-550.
- Lottermoser, B.G. 1994. Gold and platinoids in sewage sludges. *Intern. J. Environmental Studies* 46:167-171.
- Loué, A. 1993. *Oligoéléments en agriculture*. SCPA-Nathan ed.
- Lovett, G.M. 1994. Atmospheric deposition of nutrients and pollutants in North America : an ecological perspective. *Ecological Applications* 4 (4):629-650.
- Lund, L.J., E.E. Betty, A.L. Page, et R.A. Elliott. 1981. Occurrence of naturally high cadmium levels in soils and its accumulation by vegetation. *J. Environ. Qual.* 10 (4):551-556.
- Lyon, G.L., P.J. Peterson, R.R. Brooks, et G.W. Butler. 1971. Calcium, magnesium and trace elements in a New Zealand serpentine flora. *J. of Ecology* 59:421-429.
- Macnair, M.R. 1989. The genetics of metal tolerance in natural populations. In *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary Aspects*, A. J. Shaw ed. Boca Raton: CRC Press.
- Malm, O., M.B. Castro, W.R. Bastos, F.J.P. Branches, J.R.D. Guimaraes, C.E. Zuffo, et W.C. Pfeiffer. 1995. An assessment of Hg pollution in different goldmining areas, Amazon Brazil. *The Science of the Total Environment* 175:127-140.
- Marschner, H., ed. 1986. *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press.
- Marschner, H., V. Röhmeld, et H. Ossenberg-Neuhaus. 1982. Rapid method for measuring changes in pH and reducing processes along roots of intact plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 105:407-416.
- Martens, S.N., et R.S. Boyd. 1994. The ecological significance of nickel hyperaccumulation : a plant chemical defense. *Oecologia* 1994 (98):379-384.
- McBride, M.B. 1995. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge : are USEPA regulations protective ? *J. Environ. Qual.* 24:5-18.
- McGrath, S.P. 1987. Long-term studies of metal transfers following application of sewage sludge. In *Pollutant transport and fate in ecosystems*, P. J. Coughtrey, M. H. Martin and M. H. Unsworth eds. Oxford: Blackwell Scientific.
- McGrath, S.P., et P.C. Brookes. 1988. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. *Soil Biol. Biochem.* 20 (4):415-424.
- McGrath, S.P., et J. Cegarra. 1992. Chemical extractability of heavy metals during and after a long-term applications of sewage sludge to soil. *Journal of Soil Science* 43:313-321.
- McGrath, S.P., et P.W. Lane. 1989. An explanation for the apparent losses of metals in a long-term field experiment with sewage sludge. *Environmental Pollution* 60:235-256.
- McGrath, S.P., C.M.D. Sidoli, A.J.M. Baker, et R.D. Reeves. 1993. The potential for the use of metal-accumulating plants for the *in situ* decontamination of metal-polluted soils. In *Integrated Soil and Sediment Research : A Basis for Proper Protection*, H. J. P. Eijsackers and T. Hamers eds. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- McIlveen, W.D., et J.J. Negusanti. 1994. Nickel in the terrestrial Environment. *The Science of the Total Environment* 148:109-138.
- Mench, M., V.L. Didier, M. Löffler, A. Gomez, et P. Masson. 1994a. A mimicked *in-situ* remediation study of metal-contaminated soils with emphasis on cadmium and lead. *J. Environ. Qual.* 23 (1):58-63.

- Mench, M., et E. Martin. 1991. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. *Plant and Soil* 132:187-196.
- Mench, M., J. Tancogne, A. Gomez, et C. Juste. 1989. Cadmium bioavailability to *Nicotiana tabacum* L., *Nicotiana rustica* L., et *Zea mays* L. grown in soil amended or not with cadmium nitrate. *Biol. Fertil. Soils* 8:48-53.
- Mench, M., J. Vangronsveld, V. Didier, et H. Clijsters. 1994b. Evaluation of metal mobility, plant availability and immobilization by chemical agents in a limed-silty soil. *Environmental Pollution* 86:279-286.
- Menezes de Sequeira, E. 1968. Toxicity and movement of heavy metals in serpentinic soils (north-eastern Portugal). *Agronomia Lusit.* 30:115-154.
- Morel, J.L. 1985. Contribution à l'étude des transferts de métaux lourds dans le système sol-plante : le rôle des mucilages racinaires. Thèse de Docteur ès Sciences, INPL, Nancy.
- Morel, J.L. 1996. Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In *Soil Ecotoxicology*, J. Taradellas, G. Bitton and D. Rossel eds. Boca Raton, FL: Lewis Publishers.
- Morel, J.L., et F. Jacquin. 1980. Influence des boues des stations d'épuration sur les propriétés physiques du sol. In *Symposium EAS Utilisation agricole des boues provenant des stations d'épuration*, Bâle, Suisse
- Morel, J.L., et A. Guckert. 1979. Bilan de cinq années d'utilisation de boues résiduares urbaines sur plantes de grande culture dans les conditions agro-climatiques lorraines. In *Treatment and use of sewage sludge*, D. Alexandre et H. Ott eds. Commission of the European Communities: 269-283
- Morel, J.L., et A. Guckert. 1984. Evolution en plein champ de la solubilité dans DTPA des métaux lourds du sol introduits par des épandages de boues urbaines chaulées. *Agronomie* 4:377-386.
- Morel, J.L., J.C., Pierrat, et A. Guckert. 1988. effet et arrière-effet de l'épandage de boues urbaines conditionnées à la chaux et au chlorure ferrique sur la teneur en métaux lourds d'un maïs. *Agronomie* 8(2):107-113.
- Morel, J.L., et A. Guckert. 1989. Utilisation des boues de stations d'épuration : transfert sol-plante des métaux lourds. *Qualité et Conservation des Sols : Devenir des Polluants dans les Sols* Collection Recherche et Environnement (34):229-239.
- Morel, J.L., C. Leyval, J. Berthelin, et M. Mench. 1994. Influence de l'activité rhizosphérique sur la mobilité et le prélèvement des métaux lourds: Ministère de l'Environnement.
- Morel, J.L., M. Mench, et A. Guckert. 1986. Measurement of Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils* 3:165-169.
- Morel, J.L., M. Mench, et A. Guckert. 1987. Dynamique des métaux lourds dans la rhizosphère : rôle des exsudats racinaires. *Rev. Ecol. Biol. Soil* 24:485-492.
- Morel, J.L., M. Mori, et S. Plantureux. 1992. Etude des modalités d'implantation et de développement de la strate herbacée sur le terroir n°42: Convention Municipalité de Nœux les Mines.
- Morrison, R.R., R.R. Brooks, et R.D. Reeves. 1980. Nickel uptake by *Alyssum* species. *Plant Science Letters* 17:451-457.
- Münch, D. 1993. Concentration profiles of arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, zinc, vanadium and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) in forest soil beside an urban road. *The Science of the Total Environment* 138:47-55.

- Neilsen, D., G.H. Neilsen, A.H. Sinclair, et D.J. Linehan. 1992. Soil phosphorus status, pH and the manganese nutrition of wheat. *Plant and Soil* 145:45-50.
- Nyer, K. 1993. *Practical Techniques for Groundwater and Soil Remediation*. Chelsea, Michigan: Lewis publishers.
- Ortiz, D.F., T. Ruscitti, K.F. McCue, et D.W. Ow. 1995. Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *J. Biol. Chem.* 270:4721-4728.
- Ouzounidou, G. 1994. Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plants. *Environmental and Experimental Botany* 34 (2):165-172.
- Pancaro, L. 1988. Physiological responses to nickel and zinc in metal tolerant plants. *Giorn. Bot. Ital.* 122:169-170.
- Pancaro, L., P. Pelosi, O. Vergnano Gambi, et C. Galoppini. 1978. Ulteriori indagini sul rapporto tra nichel e acidi malico e malonico in *Alyssum*. *Giorn. Bot. Ital.* 112:141-146.
- Pédro, G., et A.B. Delmas. 1970. Les principes géochimiques de la distribution des éléments-traces dans les sols. *Ann. Agron.* 21 (5):483-518.
- Perronet, K., 1997. Croissance et développement de végétaux en présence ou absence d'éléments traces métalliques dans le cadre d'une phytoextraction. DEA, ENSAIA-INPL, Nancy
- Proctor, J. 1971a. The plant ecology of serpentine II. plant response to serpentine soils. *J. of Ecology* 59:397-410.
- Proctor, J. 1971b. The plant ecology of serpentine III. influence of a high magnesium/calcium ratio and high nickel and chromium levels in some british and swedish serpentine soils. *J. of Ecology* 59:827-842.
- Proctor, J., et S.R.J. Woodell. 1971. The plant ecology of serpentine I. serpentine vegetation of England and Scotland. *J. of Ecology* 59:375-395.
- Pruëss, A. 1992. *Vorsorgewerte und Prüfwerte für mobile und mobilisierbare, potentiell ökotoxische Spurenelemente in Böden*. Wendlingen: Verlag Ulrich E. Grauer.
- Raskin, I., N.P.B.A. Kumar, S. Dushenkov, et D.E. Salt. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Op. Biotech.* 5:285-290.
- Rebele, F., A. Surma, C. Kuznik, R. Bornkamm, et T. Brej. 1993. Heavy metal contamination of spontaneous vegetation and soil around the copper smelter "Legnica". *Acat Societatis Botanicorum Poloniae* 62 (1-2):53-57.
- Recous, S. 1988. Dynamique de l'azote en sol cultivé : organisation microbienne des formes ammoniacale et nitrique, conséquences sur l'utilisation de l'azote des engrais par une culture de blé, Université Claude Bernard, Lyon I.
- Reeves, R.D. 1988. Nickel and zinc accumulation by species of *Thlaspi* L., *Cochlearia* L., et other genera of the Brassicaceae. *Taxon* 37 (2):309-318.
- Reeves, R.D., A.J.M. Baker, A. Borhidi, et R. Berazain. 1996. Nickel-accumulating plants from the ancient serpentine soils of Cuba. *New Phytol.* 133:217-224.
- Reeves, R.D., et R.R. Brooks. 1983a. European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. *Journal of Geochemical Exploration* 18:275-283.
- Reeves, R.D., et R.R. Brooks. 1983b. Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from mining areas of Central Europe. *Environmental Pollution A* (31):277-286.

- Reeves, R.D., R.R. Brooks, et T.R. Dudley. 1983. Uptake of nickel by species of *Alyssum*, *Bornmuellera*, et other genera of old world tribus Alyseae. *Taxon* 32 (2):184-192.
- Reeves, R.D., R.M. Macfarlane, et R.R. Brooks. 1983. Accumulation of nickel and zinc by western north american genera containing serpentine-tolerant species. *Amer. J. Bot.* 70 (9):1297-1303.
- Robert, M., et C. Juste. 1997. Stocks et flux d'éléments traces dans les sols. Journées Techniques Ademe - Aspects sanitaires et environnementaux de l'épandage des boues d'épuration urbaines.
- Rodecap, K.D., D.T. Tingey, et H. Lee. 1994. Iron nutrition influence on cadmium accumulation by *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *J. Environ. Qual.* 23:239-246.
- Romney, E.M., A. Wallace, J.W. Cha, et R.T. Mueller. 1981. Effect of zone placement in soil on trace metal uptake by plants. *Journal of Plant Nutrition* 3 (1-4):265-270.
- Ross, S.M., ed. 1994. *Toxic metals in soil-plant systems*. Chisester: John Wiley & Sons Ltd.
- Ruby, M.V., A. Davis, et A. Nicholson. 1994. *In situ* formation of lead phosphates in soils as a method to immobilize lead. *Environ. Sci. Technol.* 28:646-654.
- Rugh, C.L., H.D. Wilde, Stack; N.M., D.M. Thompson, A.O. Summers, et R.B. Meagher. 1996. Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial merA gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:3182-3187.
- Ruppert, H., et F. Schmidt. 1987. Natürliche Grungehalte und anthropogene Anreicherungen von Schwermetallen in Böden Bayerns: Bayerisches Geologisches Landesamt.
- Russel, M., E.W. Colgazier, et M.R. English. 1992. Hazardous waste remediation - the task ahead: Univ. Tennessee.
- Salt, D.E., M. Blaylock, N.P.B.A. Kumar, V. Dushenkov, B.D. Ensley, I Chet, et I. Raskin. 1995a. Phytoremediation : a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/Technology* 13:468-474.
- Salt, D.E., N.P.B.A. Kumar, S. Dushenkov, et I. Raskin. 1994. Phytoremediation : a new technology for the environmental cleanup of toxic metals. Resource Conservation and Environmental Technologies in Metallurgical Industries.
- Salt, D.E., R.C. Prince, I.J. Pickering, et I. Raskin. 1995b. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *Plant Physiol.* 109:1427-1433.
- Sanka, M., M. Strnad, J. Vondra, et E. Paterson. 1995. Sources of soil and plant contamination in an urban environment and possible assessment methods. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 59:327-349.
- Sappin-Didier, V., et A. Gomez. 1994. Réhabilitation des sols pollués par des métaux toxiques. Exemple de l'apport de grenaille d'acier. *Analisis Magazine* 22 (2):28-30.
- Scherer, V. 1990. Anthropogene und geogene Schwermetallbelastung von Böden im Raum eines Montanindustrie-Standortes am Beispiel Dillingen/Saar. Thèse de Doctorat, Université de Trèves, D.
- Schlegel, H.G., J.-P. Cosson, et A.J.M. Baker. 1991. Nickel-hyperaccumulating plants provide a niche for nickel-resistant bacteria. *Bot. Acta* 104:18-25.
- Schönberger, H. 1990. *Klärschlamm-Kontamination auf Raten - Zur Schadstoffproblematik des Klärschlammes*. Berlin: Iför Institut.

- Schoof, R.A., M.K. Butcher, C. Sellstone, R.W. Ball, J.R. Fricke, V. Keller, et B. Keehn. 1995. An assessment of lead absorption from soil affected by smelter emissions. *Environmental Geochemistry and Health* 17:189-199.
- Schumacher, M., J.L. Domingo, J.M. Lobet, et J. Corbella. 1993. Chromium, copper, et zinc concentrations in edible vegetables grown in Tarragona province, Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 50:514-521.
- Schwartz, C. 1993. Facteurs de qualité des sols de jardins de l'est-mosellan. DEA Sciences Agronomiques, ENSAIA-INPL, Nancy.
- Schwartz, C., K.D. Fetzer, et J.L. Morel. 1997. Factors of contamination of garden soils by heavy metals. Third International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris.
- Schwartz, C., L. Florentin, G. de Lanchy, D. Charpentier, S. Muzika, K.D. Fetzer, J. Kubiniok, et J.L. Morel. 1997. Sols Urbains et Industriels: AFES-ENSAIA-INRA.
- Seaward, M.R.D., et D.H.S. Richardson. 1989. Atmospheric sources of metal pollution and effects on vegetation. In *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary Aspects*, A. J. Shaw eds. Boca Raton: CRC Press.
- Shallari, S., C. Schwartz, Hasko, et J.L. Morel. 1997. Heavy metals in soils and plants of Albania. *The Science of the Total Environment*, accepté
- Shallari, S. 1997. Biodisponibilité du nickel du sol pour l'hyperaccumulateur *Alyssum murale*. Thèse de Doctorat, INPL, Nancy
- Sharma, D.C., C. Chatterjee, et C.P. Sharma. 1995. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism. *Plant Science* 111:145.
- Sheppard, S.C., et W.G. Evenden. 1992. Concentration enrichment of sparingly soluble contaminants (U, TH and Pb) by erosion and by soil adhesion to plants and skin. *Environmental Geochemistry and Health* 14 (4):121-131.
- Sheppard, S.C., C. Gaudet, M.I. Sheppard, P.M. Cureton, et M.P. Wong. 1992. The development of assessment and remediation guidelines for contaminated soils, a review of the science. *Can. J. Soil Sci.* 72:359-394.
- Sieghardt, H. 1990. Heavy-metal uptake and distribution in *Silene vulgaris* and *Minuartia verna* growing on mining-dump material containing lead and zinc. *Plant and Soil* 123:107-111.
- Simon, E., et C. Lefèbre. 1977. Aspects de la tolérance aux métaux lourds chez *Agrostis tenuis* Sibth., *Festuca ovina* L. et *Armeria maritima* (Mill.) Willd. *Œcol. Plant.* 12 (2):95-110.
- Singh, S.P., et V.K. Nayyar. 1990. Accumulation characteristics of cadmium and its upper critical levels in selected vegetable species. *Intern. J. Environmental Studies* 36:199-204.
- Six, P. 1988. Les boues de curage de cours d'eau. Le point dans le département du Nord: Chambre d'Agriculture du Nord - Ministère de l'Environnement - Agence de l'Eau Artois-Picardie.
- Smith, R.A.H., et A.D. Bradshaw. 1979. The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes. *Journal of Applied Ecology* 16:595-612.
- Sombroek, W. 1995. Soil degradation and contamination : a global perspective. In *Contaminated Soil '95*, W. J. van den Brink, R. Bosman and F. Arendt eds. The Netherlands: Kluwer Acad. Pub.
- Sommellier, L., J.L. Morel, Ch. Morel, et J. Wiart. 1996. La valeur phosphatée des boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. Ademe Editions. Collection valorisation agricole des boues d'épuration.

- Summers, A.O. 1992. The hard stuff : metals in bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology* 3:271-276.
- Symeonides, C., et S.G. McRae. 1977. The assessment of plant-available cadmium in soils. *J. Environ. Qual.* 6 (2):120-123.
- Symeonidis, L., et S. Karataglis. 1992. The effect of lead and zinc on plant growth and chlorophyll content of *Holcus lanatus* L. *J. Agronomy & Crop Science* 168:108-112.
- Taradellas, J., G. Bitton, et D. Rossel. 1996. *Soil Ecotoxicology*. Boca Raton, FL: Lewis Publishers.
- Terry, N., C. Carlson, T.K. Raab, et A.M. Zayed. 1992. Rates of selenium volatilization among crop species. *J. Environ. Qual.* 21:341-344.
- Thöming, J., et W. Calmano. 1995. Remediation of heavy metal contaminated soils by acid leaching and electrolytic metal separation. In *Contaminated Soil'95*, W. J. van den Brink, R. Bosman and F. Arendt eds. The Netherlands: Kluwer Acad. Pub.
- Thompson, J., et J. Proctor. 1983. Vegetation and soil factors on a heavy metal mine spoil heap. *New Phytol.* 94:297-308.
- Thornton, I., M. Farago, J. Watt, J. Cotter-Howells, et A.L. Elghali. 1995. Exposure of young children to metals through hand-to-mouth activity. Third International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris.
- Tobin, J.M., C. White, et G.M. Gadd. 1994. Metal accumulation by fungi : applications in environmental biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology* 13:126-130.
- Touchton, J.T., J.W. Johnson, et B.M. Cunfer. 1980. The relationship between phosphorus and copper concentrations in wheat. *Commun. in Soil Science and Plant Analysis* 11 (11):1051-1066.
- Tsalidas, C.D., T. Matsi, N. Barbayiannis, et D. Dimoyiannis. 1995. Influence of sewage sludge application on soil properties and on the distribution and availability of heavy metal fractions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26 (15-16):2603-2619.
- Tuin, B.J.W., et M. Tels. 1990. Removing heavy metals from contaminated clay soils by extraction with hydrochloric acid, EDTA or hypochlorite solutions. *Environmental Technology* 11:1039-1052.
- Valdares, J.M.A.S., M. Gal, U. Mingelgrin, et A.L. Page. 1983. Some heavy metals in soils treated with sewage sludge, their effects on yield, et their uptake by plants. *J. Environ. Qual.* 12 (1):49-57.
- Valerio, F., M. Pala, M.T. Piccardo, A. Lazzarotto, D. Balducci, et C. Brescianini. 1995. Exposure to airborne cadmium in some Italian urban areas. *The Science of the Total Environment* 172:57-63.
- Van Oort, F., et M. Thiry. 1995. Etat de la pollution, toxicité et devenir des métaux polluants d'une friche industrielle: Ministère de l'Environnement.
- Vangronsveld, J., J. Sterckx, F. Van Assche, et H. Clijsters. 1995. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground : effects of revegetation and metal immobilization by beringite. *Journal of Geochemical Exploration* 52:221-229.
- Varallyay, G., W. Salomons, et I. Czikos. 1993. Long-term environmental risks for soils, groundwaters and sediments in the Danube catchment area : the Danube chemical time bombs project. *Land Degradation & Rehabilitation* 4:421-432.

- Vàzquez, M.D., J. Barcelo, Ch. Poschenrieder, J. Madico, P. Hatton, A.J.M. Baker, et G.H. Cope. 1992. Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. *J. Plant Physiol.* 140 (3):350-355.
- Vàzquez, M.D., Ch. Poschenrieder, J. Barcelo, A.J.M. Baker, P. Hatton, et G.H. Cope. 1994. Compartmentation of zinc in roots and leaves of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J & C Presl. *Bot. Acta* 107:243-250.
- Vergnano Gambi, O., R. Gabrielli, et L. Pancaro. 1982. Nickel, chromium and cobalt in plants from italian serpentine areas. *Acat (Ecological Plantarum* 3(17) (3):291-306.
- Versel, J.M., et G. Mayor. 1985. Gradients in maize roots : local elongation and pH. *Planta* 164:96-100.
- Vogel, H., A. Desaulles, et H. Häni. 1992. Heavy metal contents in the soils of Switzerland. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 46:3-11.
- Vogeli-Lange, R., et G.J. Wagner. 1990. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves : implication of a transport function for cadmium binding peptides. *Plant Physiol.* 92:1086-1093.
- Voutsas, D., A. Grimanis, et C Samara. 1996. Trace elements in vegetables grown in an industrial area in relation to soil and air particulate matter. *Environmental Pollution* 94 (3):325-335.
- Wallace, A. 1980. Trace metal placement in soil on metal uptake and phytotoxicity. *Journal of Plant Nutrition* 2 (1-2):35-38.
- White, P.F., et A.D. Robson. 1989. Rhizosphere acidification and Fe³⁺ reduction in lupins and peas : Iron deficiency in lupins is not due to a poor ability to reduce Fe³⁺. *Plant and Soil* 119:163-175.
- Wiert, J., et M. Verdier. 1994. Etude de la teneur en éléments traces métalliques des boues de stations d'épuration urbaines françaises: AGHTM-FNDAE.
- Wu, L. 1989. Colonization and establishment of plants in contaminated sites. In *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary Aspects*, A. J. Shaw ed. Boca Raton: CRC Press.
- Wu, Q.T., J.L. Morel, et A. Guckert. 1989. Effect of nitrogen source on cadmium uptake by plants. *C.R. Acad. Sci. Paris* t 309 (III):215-220.
- Yevdokimova, G.A. 1994. Accumulation of nitrates in plants on soils with increased heavy metal content. *Eurasian Soil Science* 26 (7):116-122.
- Yost, K.J. 1984. Cadmium, the environment and human health : an overview. *Experientia* 40:157-164.

Résumé - Summary

Résumé

La phytoextraction est l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices pour retirer les métaux toxiques des sols. La thèse était destinée à connaître le comportement et l'aptitude à extraire les métaux d'un hyperaccumulateur de Zn/Cd, *Thlaspi caerulescens*, sur différents sols pollués et d'évaluer sa réponse à des pratiques agronomiques. Des semences provenant de deux sites métallifères ont été semées sur divers matériaux pollués et la biomasse et minéralomasse métallique mesurées. Des profils de sols ont été reconstitués en rhizotrons et le développement du système racinaire et les changements de pH rhizosphérique déterminés. La réponse des plantes à la fertilisation N et P et à la présence de plantes compagnes a été étudiée. Des essais en plein champ ont été installés sur un sol agricole recevant une boue urbaine contaminée et sur un sol industriel présentant une pollution organo-minérale. Les résultats montrent que *T. caerulescens* peut s'installer sur des matériaux très différents du support d'origine comme une terre agricole, une boue et des terres industrielles. Un niveau de Zn biodisponible trop faible limite la croissance de la plante et augmente le prélèvement de Pb et Cd. Suivant son origine, la plante peut prélever jusqu'à 23 000 mg Zn kg⁻¹ et 2 100 mg Cd kg⁻¹ MS. La fertilisation P a peu d'effet sur la croissance et diminue la phytoextraction. La fertilisation N augmente la production de biomasse et l'extraction des métaux malgré une baisse de la concentration du métal dans les tissus des plus grandes plantes inférieure à celle attendue par l'effet de dilution. Le système racinaire s'installe préférentiellement et montre des changements de morphologie dans les zones polluées où des variations de pH sont observées. Au champ, les plantes se développent sur sol agricole et industriel dans les conditions climatiques de la Lorraine et répondent à la présence de boues par un accroissement de la production de biomasse et du prélèvement des métaux. Des simulations montrent une extraction significative des métaux des sols accompagnée d'une réduction des pools de métaux facilement extractibles. En conclusion, la phytoextraction des métaux avec des hyperaccumulateurs choisis peut être fortement améliorée par des pratiques agronomiques adaptées qui favorisent la production de biomasse sans réduire l'extraction des métaux.

Summary

Phytoextraction is the use of hyperaccumulating plants to remove toxic metals from polluted soils. This work was aimed at determining the behaviour and ability to extract metals of the Zn/Cd hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*, grown on various polluted soils and to assess its response to agronomic practices. Seeds collected from two sites were used to conduct pot experiments on various soil materials, and biomass and metal extraction were measured. Soil profiles were constructed in rhizotrons, and the development of the root system and changes in rhizosphere pH were recorded. Then response of plants to N and P fertilisation was assessed and influence of other species on growth and metal extraction determined. Field experiments were conducted for two years on agricultural soil receiving metal contaminated sludge and on industrial soil polluted by organic xenobiotics and metals. Results showed that *T. caerulescens* can grow on soil materials very different from their original substrate, including agricultural soil, sludge and industrial soils. A low level of Zn in the soil limited plant growth but enhanced uptake of Pb and Cd. Removal varied according to the origin of the seeds, and was as high 23 000 mg Zn kg⁻¹ and 2 100 mg Cd kg⁻¹ DW. P fertilisation had little effect on growth and depressed metal uptake. N fertilisation increased plant biomass and extraction of metals despite a slight decrease in metal concentration in plant tissues in larger plants which was lower than that deduced from the dilution effect. The root system colonised strongly the metal contaminated zones with changes in morphology and in rhizosphere pH. In the field, plants could grow on both agricultural and industrial soil under the Lorraine climatic conditions, responded to the presence of sludge by an increase in biomass and metal uptake, and calculations showed significant extraction of metals from polluted soils decreasing the easily extractable metal pools. In conclusion, phytoextraction of metals with selected hyperaccumulators can be strongly improved by adequate agronomic practices which enhance plant biomass production without reducing the metal uptake.

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

o o o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur BAKER Alan J.M., PhD Reader, Université de Sheffield (G.B),
Monsieur BITTON Gabriel, Professeur, Université de Floride (U.S.A.),
Monsieur CHASSIN Pierre, Directeur de Recherches, INRA Bordeaux,
Monsieur FARDEAU Jean-Claude, Docteur ès Sciences, DPVE/C.E.A.
Cardarache.

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

Monsieur SCHWARTZ Christophe

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

"Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante
hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*".

en vue de l'obtention du titre de :

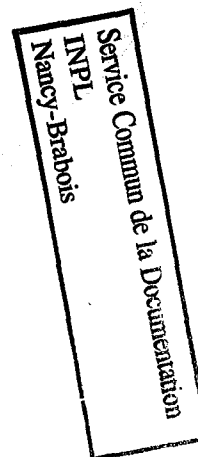
DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : "SCIENCES AGRONOMIQUES"

Fait à Vandoeuvre le, 9 Octobre 1997

Le Président de l'I.N.P.L.,

J. HARDY



NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 5 4 5 0 1
VANDŒUVRE CEDEX

Résumé

La phytoextraction est l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices pour retirer les métaux toxiques des sols. La thèse était destinée à connaître le comportement et l'aptitude à extraire les métaux d'un hyperaccumulateur de Zn/Cd, *Thlaspi caerulescens*, sur différents sols pollués et d'évaluer sa réponse à des pratiques agronomiques. Des semences provenant de deux sites métallifères ont été semées sur divers matériaux pollués et la biomasse et minéralomasse métallique mesurées. Des profils de sols ont été reconstitués en rhizotrons et le développement du système racinaire et les changements de pH rhizosphérique déterminés. La réponse des plantes à la fertilisation N et P et à la présence de plantes compagnes a été étudiée. Des essais en plein champ ont été installés sur un sol agricole recevant une boue urbaine contaminée et sur un sol industriel présentant une pollution organo-minérale. Les résultats montrent que *T. caerulescens* peut s'installer sur des matériaux très différents du support d'origine comme une terre agricole, une boue et des terres industrielles. Un niveau de Zn biodisponible trop faible limite la croissance de la plante et augmente le prélèvement de Pb et Cd. Suivant son origine, la plante peut prélever jusqu'à 23 000 mg Zn kg⁻¹ et 2 100 mg Cd kg⁻¹ MS. La fertilisation P a peu d'effet sur la croissance et diminue la phytoextraction. La fertilisation N augmente la production de biomasse et l'extraction des métaux malgré une baisse de la concentration du métal dans les tissus des plus grandes plantes inférieure à celle attendue par l'effet de dilution. Le système racinaire s'installe préférentiellement et montre des changements de morphologie dans les zones polluées où des variations de pH sont observées. Au champ, les plantes se développent sur sol agricole et industriel dans les conditions climatiques de la Lorraine et répondent à la présence de boues par un accroissement de la production de biomasse et du prélèvement des métaux. Des simulations montrent une extraction significative des métaux des sols accompagnée d'une réduction des pools de métaux facilement extractibles. En conclusion, la phytoextraction des métaux avec des hyperaccumulateurs choisis peut être fortement améliorée par des pratiques agronomiques adaptées qui favorisent la production de biomasse sans réduire l'extraction des métaux.