



## La phytoextraction est-elle un traitement "vert" approprié pour les sédiments contaminés en métaux ?

Stéphanie HUGUET<sup>1,2,3,4</sup>, Géraldine SARRET<sup>1\*</sup>, Valérie BERT<sup>4\*</sup>,  
Marie-Pierre ISAURE<sup>1</sup>, Olivier PROUX<sup>5</sup>, Anne-Marie FLANK<sup>6,7</sup>,  
Vasilica HAMMADE<sup>8</sup>, David BULTEEL<sup>2,3</sup>, Agnès LABOUDIGUE<sup>2,3</sup>

1. LGIT : Géochimie de l'Environnement, Université de Grenoble et CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France.

*stephanie.huguet@obs.ujf-grenoble.fr, geraldine.sarret@ujf-grenoble.fr*

2. Université Lille Nord de France, 59000 Lille, France.

3. EMDouai, MPE-GCE, 930 Boulevard Lahure 59500, Douai, France.

4. INERIS : Unité Déchets et Sites Pollués, Parc technologique Alata,

60550 Verneuil-en-Halatte, France. *valerie.bert@ineris.fr*

5. Beamline FAME, ESRF, BP220, 38043 Grenoble, France.

6. Beamline LUCIA, SLS, Swiss Light Source, CH-5232 Villigen, Switzerland.

7. Synchrotron SOLEIL, F-91192 Gif Sur Yvette, France.

8. ISSEP, Rue de la Platinerie, 12/Z, 7340, Colfontaine Belgique.

\* Equal participation

### Résumé :

La maintenance des voies navigables par dragages réguliers génère de grands volumes de sédiment et, suite aux activités humaines, ces sédiments contiennent souvent de grandes quantités de métaux. Pour certains de ces sédiments contaminés, un traitement par phytoextraction pourrait être envisagé. À notre connaissance, la phytoextraction utilisant des plantes hyperaccumulatrices a rarement été testée sur des sédiments contaminés en métaux. Ce travail est une étude préliminaire sur le potentiel de la phytoextraction du cadmium (Cd). Il porte sur le devenir du Cd présent dans un sédiment de curage contaminé par des métaux lors de la culture d'*Arabidopsis halleri*, plante hyperaccumulatrice de Zn et de Cd. Dans ce but, une expérience de culture en pot de cinq mois est réalisée ; les résultats obtenus pendant les quatre premiers mois du suivi de culture sont présentés ici. Les teneurs en Cd contenues dans le sédiment, dans les parties aériennes de la plante et dans les lixiviats sont mesurées chaque mois. La spéciation du Cd présent dans le sédiment est étudiée par spectroscopie EXAFS et  $\mu$ XANES et la localisation par MEB-EDX et  $\mu$ XRF.

*Soumis le 2 février 2009, accepté le 28 juin 2009, en ligne le 18 octobre 2010.  
Version traduite non certifiée, publiée sous la responsabilité des auteurs de l'article.*

Pour citer la version originale de cet article :

HUGUET S., SARRET G., BERT V., ISAURE M.-P., PROUX O., FLANK A.-M., HAMMADE V., BULTEEL D., LABOUDIGUE A. (2010). *Is phytoextraction a suitable green treatment for metal contaminated sediments?* Revue Paralia, Vol. 3, pp 4.1–4.14.

DOI:10.5150/revue-paralia.2010.004 (disponible en ligne – <http://www.paralia.fr> – available online)

Avant la culture, le Cd est présent dans le sédiment sous forme d'un sulfure mixte de Zn, Cd et Fe. Au cours de la culture, les plantes sont capables de se développer et accumulent environ 100 mg Cd kg<sup>-1</sup> (poids sec) dans leurs parties aériennes dès le premier mois de culture. La présence de plantes diminue la quantité de Cd présent dans les lixiviats. Les premiers résultats montrent que la culture d'*A. halleri* sur des sédiments contaminés en métaux répond positivement à certains des objectifs clés pour la phytoextraction du Cd.

## 1. Introduction

Dans la partie du Nord de la France, la maintenance de voies navigables par dragage régulier génère de grands volumes de sédiments pollués en métaux, qui sont souvent riches en contaminants métalliques et présentent un risque pour l'environnement local. Ces matériaux sont généralement déposés dans des sites de décharge (environ 180 sites dans la région Nord-Pas-de-Calais). L'utilisation de végétaux supérieurs hyperaccumulateurs de métaux pour extraire des métaux accumulés dans des sols pollués (phytoextraction) pourrait représenter une stratégie de remédiation alternative de faible coût (CUNNINGHAM *et al.*, 1995 ; RASKIN & ENSLEY, 2000). Cependant, à notre connaissance, il y a peu d'investigations menées sur la phytoextraction utilisant des plantes hyperaccumulatrices sur des sédiments contaminés (SEUNTJENS *et al.*, 2002 ; GIRONDELOT *et al.*, 2003 ; BERT *et al.*, 2003 ; HUGUET *et al.*, 2007a).

Les plantes dites hyperaccumulatrices sont définies par leur capacité d'accumuler des quantités très élevées de métaux dans leurs parties aériennes : plus de 100, 1000 et 10000 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche de, respectivement, Cd, Ni et Zn (BAKER et BROOKS, 1989). Selon ces définitions, *A. halleri* est considérée comme un hyperaccumulateur et, par conséquent, pourrait être utilisée en phytoextraction. De précédentes études ont montré que les traits de tolérance et d'accumulation des métaux varient en fonction de l'origine de la plante (LOMBI *et al.*, 2000 ; BERT *et al.*, 2002). Ces dernières années, *Arabidopsis halleri* est étudiée de manière intensive en génétique et physiologie pour sa tolérance au Zn et au Cd et l'accumulation de ces métaux. (KUPPER *et al.*, 2000 ; ZHAO *et al.*, 2000, 2006 ; SARRET *et al.*, 2002 ; BERT *et al.*, 2003 ; CHO *et al.*, 2003 ; BECHER *et al.*, 2004 ; WEBER *et al.*, 2004). De plus, cette espèce développe des populations sur sols contaminés et sols non contaminés (BERT *et al.*, 2002, 2003). Malgré ces nombreuses études, les mécanismes d'accumulation du Cd dans les plantes sont toujours mal compris et n'ont jamais été étudiés sur des sédiments fortement contaminés. Les données concernant l'impact des plantes sur le Cd présent dans le substrat font aussi défaut. L'assimilation des métaux par les plantes est souvent limitée par la faible biodisponibilité des métaux dans le sol (McGRATH *et al.*, 2006). Ce paramètre est surtout contrôlé par le pH et la composition du sol (teneur en oxydes organiques amorphes, etc, ...), (COREY *et al.*, 1987 ; HAE-NAM HYUN *et al.*, 1998 ; JING & LOGAN, 1992).

Dans cette étude, une expérience de 5 mois de culture en pot de *A. halleri* de deux origines (métallicole et non-métallicole) est conduite sur un sédiment de curage contaminé en Zn et Cd . Le sédiment de curage à l'état initial est caractérisé et particulièrement la forme chimique du Cd qui est déterminée en utilisant la microscopie électronique à balayage couplée à la microanalyse X avec sonde EDS (détection par dispersion d'énergie (MEB-EDX), la micro-fluorescence X ( $\mu$ XRF) et la spectroscopie EXAFS (X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy). La concentration en Cd étant généralement très faible dans les sédiments, la sensibilité et la résolution micrométrique des techniques sur rayonnement synchrotron sont des outils appropriés pour identifier et évaluer quantitativement l'espèce chimique du Cd dans des systèmes hétérogènes.

La connaissance de la spéciation du Cd à l'échelle microscopique dans le sédiment fraîchement curé et dans le même sédiment juste avant le transfert et après culture de la plante est intéressante afin d'évaluer la potentielle mobilité du Cd. Pendant la culture, les paramètres de croissance de la plante et l'accumulation en métaux sont contrôlés. Les concentrations en métaux et le pH dans le substrat et les lixiviats ainsi que la phytodisponibilité des métaux sont aussi déterminées. Ces paramètres sont prédéterminant pour la compréhension des mécanismes de la phytoextraction, une étape nécessaire vers l'application.

## **2. Matériels et méthodes**

### 2.1 Origine du sédiment

L'aire d'échantillonnage est localisée au Nord de la France, à environ 30 km au sud de Lille. Cette région compte parmi les secteurs industriels les plus vieux et les plus grands en Europe. Les contaminations passées et présentes par la transformation et le traitement des métaux non ferreux ont relargué de grandes quantités de particules de minerais et de scories dans l'environnement (THIRY *et al.*, 2002). Cinq cents kilogrammes de sédiment sont récoltés en draguant la Scarpe au niveau de l'écluse de Lallaing, en aval du Godion (tributaire de la Scarpe – Fig. 1) dans un secteur connu pour être fortement pollué en Cd (autour de  $150 \text{ mg kg}^{-1}$  - ALARY, 2001). Le sédiment est mélangé et stocké à l'abri de la pluie pendant sept mois pour réduire sa teneur en eau. Ensuite, le sédiment est homogénéisé mécaniquement plusieurs fois. Les caractéristiques macroscopiques du sédiment incluant la granulométrie, les paramètres physicochimiques et les concentrations en éléments traces et majeurs sont déterminés.

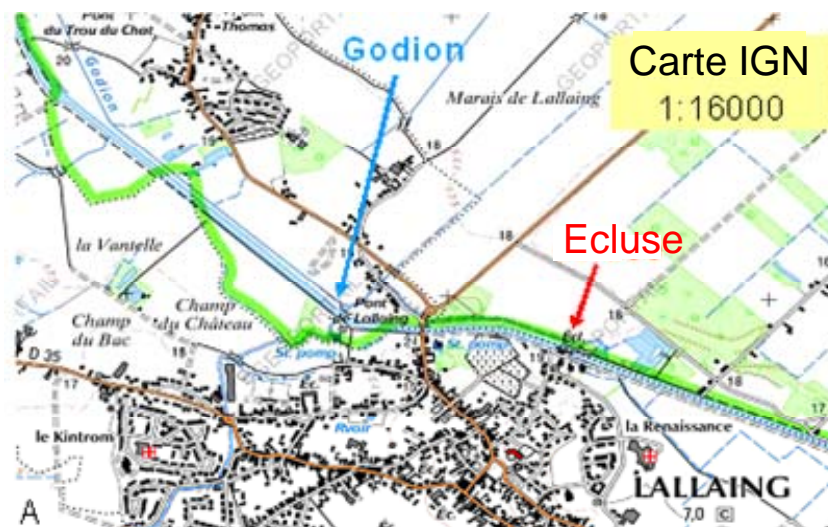


Figure 1. Carte de la zone de dragage.

## 2.2 Matériel végétal

*A. halleri*, plante pérenne, développe des populations sur des sols contaminés en métaux et sur des sols non-contaminés en Europe (BERT *et al.*, 2002). Les graines d'*A. halleri* d'origine métallicole sont récoltées sur des plantes provenant d'un sol contaminé par différentes activités des fonderies environnantes (Auby, Fr, pH=6.80) et pour les plantes d'origine non-métallicole sur un site non-contaminé (Hautes Fagnes, Be, pH=6.94).

## 2.3 Culture en pot

Les graines d'*A. halleri* sont mises à germer sur du compost pendant 4 semaines. Les plantules sont transférées sur des pots de sédiment après un lavage soigneux des racines à l'eau déionisée. Les plantules sont cultivées dans des pots de 4 L contenant 2.8 kg de sédiment tamisé (<5 mm). Des pots de sédiment non végétalisés sont utilisés comme pots "témoins". Chaque pot ne contient qu'une seule plante et est préparé en triplicat. L'humidité du sédiment est maintenue à 80% de la capacité au champ par ajout régulier d'eau déionisée. Les plantes sont cultivées pendant cinq mois en conditions contrôlées (12h de photo-période, température de jour/nuit 20/16 °C, humidité relative à 80%).

Avant le début de l'expérience, les concentrations métalliques totales, le carbone total et le pH sont mesurés dans le dépôt. L'état de santé et la croissance des plantes sont régulièrement contrôlés en comptant les nouvelles feuilles et en mesurant la taille de la rosette. Une fois par mois, les lixiviats sont collectés dans une coupelle pour chaque pot après un apport de 1 L d'eau déionisée sur le substrat (cultivé et non-cultivé). De plus, sur les pots prélevés mensuellement, trois plantes sont récoltées afin d'analyser leurs parties aériennes. Les concentrations en Cd total et Zn total sont mesurées dans le sédiment, les lixiviats et les plantes.

#### 2.4 Analyses chimiques

Les échantillons de sédiment sont séchés en étuve à 50°C, broyés dans un mortier en agate et tamisés (<100 µm). Des aliquotes de 0.5 g de sédiment sont digérées dans des réacteurs en téflon par un mélange d'acide chlorhydrique (HCL 6 ml), d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub> 2 ml) et d'eau (H<sub>2</sub>O 1 ml) chauffé dans un four à micro-ondes. Le minéralisat est ensuite filtré et ramené à 100 ml avec de l'eau Milli-Q® et puis stocké à 4°C avant analyse. Les lixiviats sont filtrés (0.45 µm) et des aliquotes de 10 ml sont acidifiées avec HNO<sub>3</sub> (Suprapur ®) et stockées à 4°C avant l'analyse.

Après récolte, les feuilles sont lavées avec l'eau déionisée. Les feuilles sont séchées dans une étuve à 50°C pendant 3 jours, puis la biomasse des feuilles est pesée et finalement broyée et homogénéisée pour préparer une aliquote par pot. Les concentrations totales en Cd et Zn dans les tissus des plantes sont déterminées après digestion de 1 g de matière sèche dans 10 ml de HNO<sub>3</sub> et 3 ml de H<sub>2</sub>O, dans un four à micro-ondes. Les solutions sont filtrées, ajustées à 100 ml avec de l'eau Milli-Q® et stockées à 4°C avant l'analyse.

Les concentrations en métaux dans le sédiment, les lixiviats et les parties aériennes de la plante d'*A. halleri* des deux origines sont déterminées par ICP-AES (Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry). Le contrôle de qualité des analyses pour les échantillons de sédiment et de plantes est basé sur l'utilisation d'échantillons standards certifiés (sédiment : NWRI TH-2 ; feuilles d'épinard : SRM 1570a) et des échantillons de contrôle internes.

#### 2.5 Statistiques

Des analyses statistiques sont réalisées, à savoir : des ANOVA à un facteur, suivies par un test post hoc de Tukey mettant en évidence les différences de comparaison et spécifiant le ou les groupes responsables d'une ou plusieurs différences, en utilisant le programme statistique SPSS 15.0, version 2007.

#### 2.6 Méthodes physiques

Premièrement, la spéciation du Cd est étudiée dans le sédiment fraîchement curé. Le sédiment est lyophilisé, broyé et pressé sous forme de pastilles pour les analyses EXAFS. Des spectres sont enregistrés au seuil K du Cd sur des échantillons de poudre sur la ligne FAME (ESRF, Grenoble, France) à 15K en utilisant un cryostat à hélium. Puis, la spéciation du Cd est étudiée dans le sédiment juste avant le traitement par phytoextraction, c'est-à-dire juste avant le transfert de la plante sur le sédiment. Le sédiment est préparé comme décrit ci-dessus. Une partie du sédiment lyophilisé est conditionné sous forme de lames imprégnées de résine qui sont ensuite polies jusqu'à obtention de lames minces de 30 µm d'épaisseur. Une autre partie est conditionnée sous forme de pastilles. Les lames minces sont analysées au MEB-EDX, par µXRF et par µXANES au seuil L<sub>III</sub> du Cd et au seuil K du S sur la ligne de lumière LUCIA (SLS,

Villigen, Suisse) avec un faisceau de 3x3  $\mu\text{m}$ . Les pastilles de sédiment sont aussi examinées par spectroscopie  $\mu\text{XANES}$  au seuil  $L_{\text{III}}$  du Cd et au seuil K du S. Les spectres des échantillons sont comparés aux spectres de composés modèles où le Cd est sous forme minérale, ou associé à des phases minérales par sorption, ou complexé avec des composés organiques, puis ajustés par combinaisons linéaires de ces spectres de référence, et les couches de coordination sont simulées en utilisant le programme IFEFFIT (RAVEL & NEWVILLE, 2005).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Caractérisation du sédiment

Le sédiment étudié présente un pH neutre ( $7.48 \pm 0.01$ ) et il est relativement riche en carbone organique ( $11.65 \pm 0.05\%$ ). Après sept mois, sa teneur en eau est toujours d'environ 20%. Les concentrations en Cd et Zn sont respectivement d'environ 140 et 4000  $\text{mg kg}^{-1}$  (poids sec – tab. 1), c'est-à-dire, nettement plus élevées que le bruit de fond géologique (respectivement autour de 0.5 et 75  $\text{mg kg}^{-1}$ , données de l'Agence de l'Eau Artois-Picardie). De plus, les particules fines représentent environ 70% du poids total du sédiment et le Cd est principalement associé à ces particules fines (HUGUET *et al.*, 2007b).

Tableau 1. Concentration en métaux contenus dans le sédiment [ $\text{mg kg}^{-1}$ ], moyenne réalisée sur dix échantillons.

	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Cu</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
Concentrations en métaux [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]	57	141	233	600	4074
Ecart-types	4	24	9	2	280

La spéciation du Cd dans le sédiment fraîchement curé est examinée par spectroscopie EXAFS. L'ajustement par combinaison linéaire réalisé pour le spectre enregistré sur le sédiment montre que la greenockite (CdS) est la référence la plus proche, mais ne correspond pas correctement au spectre du sédiment. L'ajout d'un deuxième composant n'améliore pas la qualité de l'ajustement, ce qui suggère que notre base de données de composés de référence du Cd ne contient pas l'espèce présente dans le sédiment étudié.

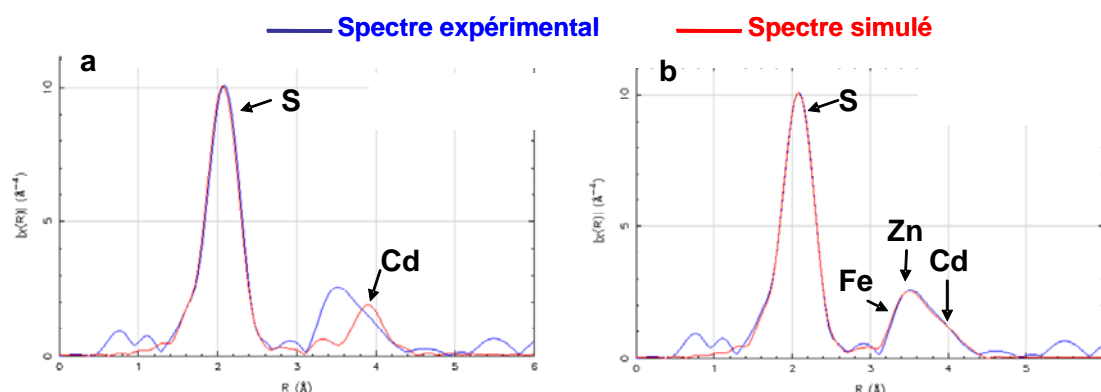


Figure 2. (a) Transformée de Fourier du spectre EXAFS enregistrés au seuil K du Cd du sédiment (bleu) pour le sédiment fraîchement curé, et du spectre obtenu par simulations FEFF (rouge) avec du S pour simuler la première couche de coordination et du Cd pour la seconde couche. (b) Même échantillon, mais simulation différente : simulation avec du S sur la première couche de coordination et un mélange de Cd, Zn et Fe sur la seconde couche.

Le spectre du sédiment est ensuite traité par simulation des couches de coordination. La première couche est simulée avec 3.9 S à 2.52 Å. La deuxième couche n'est pas correctement simulée avec seulement des atomes de Cd (Fig. 2a), mais par un mélange de Cd et Zn (non montré) ou de Zn, Cd et Fe (7.2 Zn, 2.6 Cd et 1.4 Fe à respectivement 3.88 Å, 4.18 Å et 3.69 – Fig. 2b). Ceci suggère que le Cd est présent sous la forme d'un sulfure mixte de Cd, Zn et Fe.

Les études à l'échelle microscopique sont réalisées afin de préciser la spéciation du Cd et d'identifier les possibles formes minoritaires du Cd dans le sédiment avant culture, *i.e.* juste avant le transfert des plantes. Les analyses au MEB-EDS permettent de localiser les régions riches en Cd sur les lames minces de sédiment et montrent les associations géochimiques présentes entre les éléments. Les grains de sédiment montrés sur l'image MEB en électrons rétrodiffusés (Fig. 3a) contiennent une association de Cd, Fe, Zn et S (Fig. 3c-f), ce qui est en accord avec les résultats EXAFS obtenus sur ce même sédiment (non montré). Ces grains sont considérés comme représentatifs des zones enrichies en Cd dans l'échantillon.

La comparaison des spectres  $\mu$ XANES enregistrés sur dans des régions riches en Cd avec des spectres de référence soutient l'hypothèse que les sulfures métalliques représentent l'espèce majoritaire du Cd (Fig. 4). La spectroscopie XANES au seuil K du S est aussi utilisée pour examiner l'état d'oxydation du S, qui s'étend de -II à +VI. Du S est trouvé sous sa forme réduite dans les grains riches en S et sous forme d'un mélange d'espèce réduite et oxydée dans d'autres régions, (Fig 4b).

Pour résumer, le Cd est présent sous la forme d'un sulfure mixte de Cd, Zn et Fe dans le sédiment. Ce résultat est en accord avec l'identification de pyrite (FeS) et sphalérite

(ZnS) dans des sédiments semblables (ISAURE *et al.*, 2002 ; PANFILI *et al.*, 2005). CdS a aussi été identifiée dans des sédiments marins (O'DAY *et al.*, 1998).

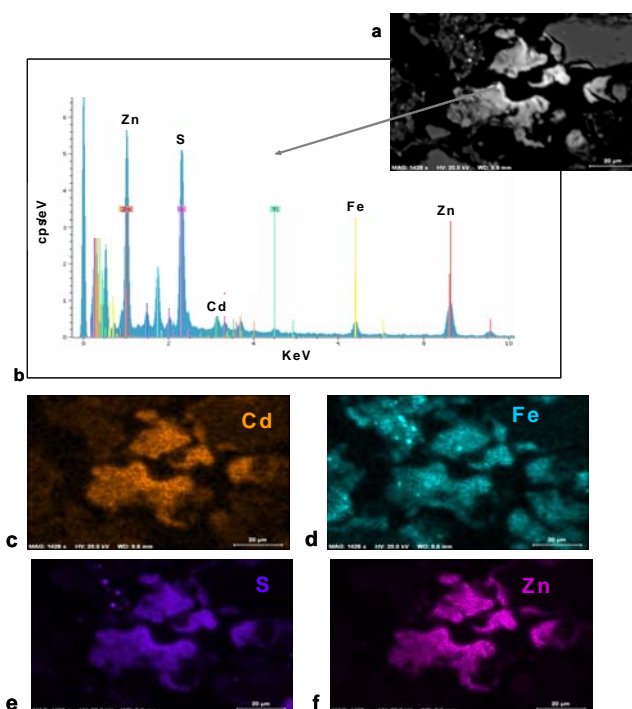


Figure 3. (a) Image MEB en électrons rétrodiffusés. (b) Spectre EDS enregistré sur un spot riche en Cd sur la lame de sédiment (état du sédiment : juste avant le transfert des plantes). (c-f) Cartes élémentaires pour le Fe, le Zn, le Cd et le S dans cette région.

La spéciation du Cd dans le sédiment juste avant le transfert de plantes est semblable à celle trouvée dans le sédiment fraîchement curé (étudié par spectroscopie XANES au seuil L<sub>III</sub> du Cd). Par conséquent, il n'y a aucun impact de la préparation du sédiment (séchage et homogénéisation). Le sédiment après la culture de 5 mois avec *A. halleri* est actuellement étudié. PANFILI *et al.* (2005) ont montré que les plantes favorisent l'oxydation de ZnS et la formation de Zn-phosphate ; un phénomène semblable pourrait avoir lieu pour le Cd. Des questions ouvertes persistent notamment sur la stabilité des sulfures de Cd, Zn et Fe et sur la nature de la distribution des espèces minoritaires possibles. Ces processus pourraient changer la biodisponibilité du Cd ainsi que l'efficacité de la phytoextraction.

### 3.2 Paramètres de croissance de la plante

Chaque mois, la santé des plantes, la taille des rosettes et la biomasse sont mesurées et trois individus différents sont récoltés.

Au début de l'expérience, au moment où les plantes sont transférées sur le sédiment, les plantes des deux origines présentent des biomasses similaires, *i.e.*  $3.0 \pm 1.1$  g et  $3.2 \pm 1.7$  g



(moyenne pour  $n=3 \pm$ écart-type – Fig. 5a). Pour les plantes d'origine métallicole, la biomasse des parties aériennes augmente après un mois, jusqu'à  $15.3 \pm 3.1$  g (Fig. 5a). L'augmentation de la production de biomasse pour les plantes d'origine non-métallicole ( $7.4 \pm 4.3$  g à un mois de culture, Fig. 5a) n'est pas significative. Les écarts-types sont importants ; par exemple, après un mois de croissance, une plante produit 3.4 g de biomasse tandis qu'une autre produit 11.9 g de biomasse. Indépendamment de l'origine des plantes, les plantes semblent saines sans symptômes visuels de toxicité.

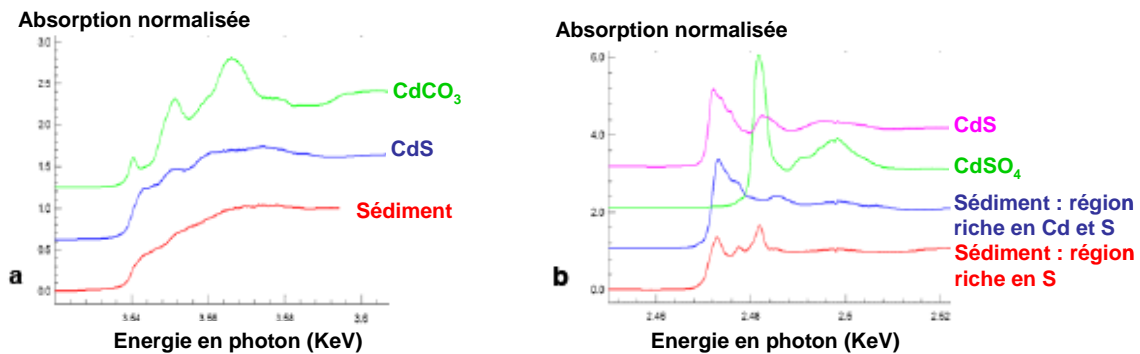


Figure 4. (a) Spectres  $\mu$ XANES au seuil  $L_{III}$  du Cd enregistrés sur le sédiment sur une zone riche en Cd et sur des composés de référence, et (b) spectres  $\mu$ XANES au seuil K du S enregistrés sur deux zones des lames de sédiment (une zone enrichie en Cd et en S et une zone enrichie seulement en S) et sur des composés de références.

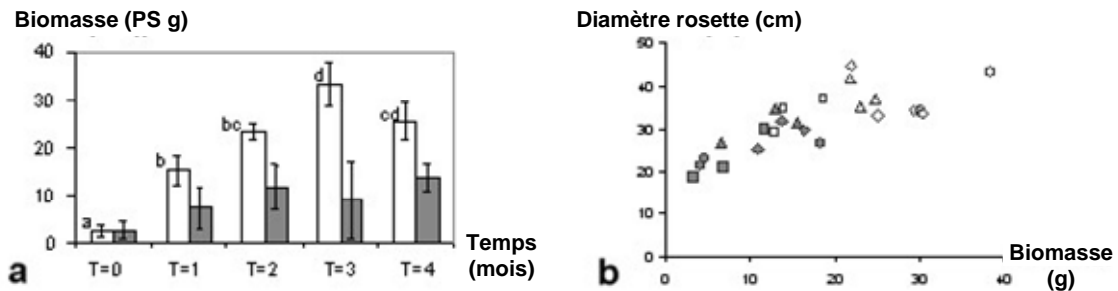


Figure 5. (a) Valeurs moyennes de biomasse ( $n=3 \pm$ écart-type) mesurées dans les parties aériennes de *A. halleri* d'origine métallicole (blanc) et non-métallicole (gris) avant le transfert sur sédiment (T0) et pendant les quatre premiers mois du suivi de la culture (T1=1, T2=2, T3=3 et T4=4 mois). Les résultats statistiques sont symbolisés par des lettres (a, b, c et d). Un symbole différent indique une différence significative pour un niveau  $P=0.05$  (ANOVA à un facteur suivie d'un test de Tukey). L'ANOVA à un facteur n'est pas significative pour les plantes non-métallicoles. (b) Corrélacion entre la biomasse de la plante et le diamètre de la rosette pour les plantes métallicoles (blanc) et non-métallicoles (gris) pour chaque temps du suivi (les rectangles représetent T1, les triangles T2, les cercles T3 et les losanges T4).

De T1 à T4, les plantes d'origine métallicole produisent plus de biomasse que les plantes d'origine non-métallicole (Fig. 5a). La différence maximale est observée pour le troisième mois de l'expérience : les plantes d'origine métallicole atteignent  $33.1 \pm 4.6$  g alors que celles d'origine non-métallicole atteignent la valeur moyenne de  $9.1 \pm 8.0$  g. De nouveau, les écarts-types pour les plantes d'origine non-métallicole sont importants. Aucune augmentation significative de la biomasse n'est observée pour les plantes d'origine non-métallicole entre le premier et le quatrième mois (Fig. 5a ;  $p > 0.05$ ). Cette différence entre les deux origines d'*A. halleri* est mise en évidence par le diagramme de corrélation entre la biomasse de la plante et le diamètre de la rosette (Fig. 5b). En effet, les deux origines apparaissent clairement en deux groupes distincts, avec la biomasse et le diamètre de rosette les plus élevés pour les plantes métallicole (13 à 38.5 g et 29.5 à 44.5 cm) que pour les non-métallicolous (3.4 à 18.4 g et 18.5 à 34.5 cm).

De ces résultats de biomasse, *A. halleri* d'origine métallicole apparaît plus appropriée pour la phytoextraction que *A. halleri* d'origine non- métallicole.

### 3.3 Evolution des concentrations en Cd et Zn dans les parties aériennes d'*A. halleri*

Les concentrations en Cd sont mesurées chaque mois sur trois plantes récoltées (12 valeurs pour chaque population, Fig. 6a). Pour chaque origine testée séparément, aucune différence significative n'est observée ( $P > 0.05$  - Fig. 6a). La moyenne maximale des concentrations en Cd est de  $145 \pm 90$  mg kg<sup>-1</sup> ( $n=3 \pm$ écart-type) et  $185 \pm 18$  mg kg<sup>-1</sup> respectivement pour les plantes métallicoles à T4 et les non-métallicoles à T1 (Fig. 6a). À T4, la concentration en Cd des plantes non-métallicoles est de  $129 \pm 40$  mg kg<sup>-1</sup> ( $n=3 \pm$ écart-type). Il n'y a pas de différence significative entre les deux origines ( $p > 0.05$ ). Les écarts-types sont importants, ce qui suggère une grande variabilité interindividuelle dans l'accumulation du Cd. A titre de comparaison, cette espèce a accumulé jusqu'à 6000 mg kg<sup>-1</sup> après 14 semaines de culture sur solutions hydroponiques contenant du Cd (KUPPER *et al.*, 2000).

Pour résumer, les concentrations en Cd n'augmentent pas significativement avec le temps quelle que soit l'origine d'*A. halleri*. Les plantes semblent avoir atteint une valeur maximale après seulement un mois de culture. Pour expliquer cette réponse à "effet plateau", deux hypothèses peuvent être proposées. L'accumulation du Cd pourrait être limitée par la phytodisponibilité du Cd (CHRISTENSEN & TJELL, 1984 ; CHANEY & RYAN, 1993 ; DAHMANI-MULLER *et al.*, 1999 ; McGRATH *et al.*, 2006) ou la plante elle-même pourrait limiter l'entrée du métal pour empêcher la toxicité (McBRIDE, 1995 ; GUERINOT & EIDE, 1999 ; BERT *et al.*, 2002).

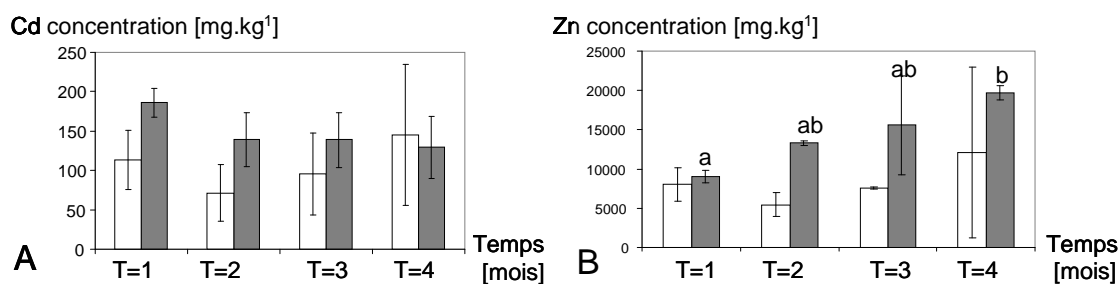


Figure 6. Moyennes des concentrations en Cd (A) et en Zn (B) [mg kg<sup>-1</sup>] mesurées dans les parties aériennes d'*A. halleri* d'origines métallicole (blanc) et non-métallicole (gris) au cours des quatre premiers mois du suivi de la culture (moyennes et écarts-types réalisés sur 3 échantillons). Les résultats statistiques sont symbolisés par des lettres (a, b, c et d). Un symbole différent indique une différence significative pour un niveau  $P=0.05$  (ANOVA à un facteur suivie d'un test de Tukey). L'ANOVA à un facteur n'est pas significative pour les plantes métallicoles.

Pour l'accumulation du Zn, *A. halleri* d'origine métallicole montre le même comportement que pour l'accumulation du Cd. Pour les plantes métallicole, aucune différence significative n'est observée aux divers temps ( $p>0.05$ ) (Fig. 6b). De nouveau, les écarts-types sont très élevés, suggérant une grande variabilité individuelle des plantes, en particulier à T4. En effet, les trois réplicats de plantes accumulent 24577, 4578 et 7091 mg kg<sup>-1</sup> (Fig. 6b). En revanche, la concentration en Zn dans les parties aériennes d'*A. halleri* d'origine non-métallicole augmente significativement entre le premier et le quatrième mois de culture. À T2 et T3, les plantes d'origine non-métallicole accumulent plus de Zn que les plantes d'origine métallicole (Fig. 6b), mais la variabilité interindividuelle est importante à T3 (22835, 12281 and 11578 mg kg<sup>-1</sup>). Pour conclure sur l'accumulation du Zn, *A. halleri* d'origine non-métallicole montre un comportement différent de celui pour l'accumulation du Cd. Ce résultat est en accord avec celui de BERT *et al.* (2000).

### 3.4 Rendement de phytoextraction d'*Arabidopsis halleri*

Les quantités de Cd et de Zn présents dans le sédiment et extraits par *A. halleri* sont calculées à partir des résultats de biomasse et d'accumulation du Cd et du Zn dans des parties aériennes et dans les lixiviats. Placées dans des conditions optimales de culture (chambre de culture) les plantes, pour les deux origines, extraient environ 1.5 mg de Cd par pot après un mois de culture. D'autre part, après quatre mois de culture, les plantes d'origine métallicole extraient  $3.7\pm 0.3$  mg Cd par pot alors que les plantes non-métallicoles extraient  $1.8\pm 0.1$  mg Cd par pot. Pour les plantes d'origine métallicole, le rendement d'extraction semble augmenter avec le temps (Tab. 2). En effet, après un mois de croissance, la plante extrait  $0.41\pm 0.1\%$  du Cd présent dans le pot de sédiment et

0.98±0.7% après quatre mois (Tab. 2). Le maximum d'extraction du Cd est 1.8% et est obtenu après quatre mois. En revanche, l'extraction du Cd par *A. halleri* d'origine non-métallicole est significativement plus faible (le maximum de 0.7% est obtenu après trois et quatre mois de culture). Le rendement maximum d'extraction du Zn est de 6.3% après trois mois pour *A. halleri* d'origine métallicole et de 2.9% après quatre mois de culture pour *A. halleri* d'origine non-métallicole.

Moins de 0.05% du Cd présent dans le pot de sédiment au début de l'expérience est perdu dans les lixiviats. Malgré l'extraction du Cd par *A. halleri* et le Cd perdu dans les lixiviats, la majorité du Cd est toujours dans le sédiment (Tab. 2). Les mêmes tendances sont observées pour le Zn (Tab. 2).

Tableau 2. Bilan de masse du Cd, en pourcentage, entre les compartiments "plantes", "lixiviats" et "sédiment", après un et quatre mois de culture par *A. halleri* d'origine métallicole et non-métallicole.

Origine d' <i>A. halleri</i>	Temps culture [mois]	Extrait par la plante [%]		Dans les lixiviats [%]		Encore dans le sédiment [%]	
		Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn
métallicole	1	0,41 ± 0,10	1.03 ± 0.2	0,025 ± 0,010	0.05 ± 0.02	88,0 ± 5,0	93.34 ± 5.48
non métallicole		0,34 ± 0,17	0.63 ± 0.4	0,025 ± 0,012	0.04 ± 0.02	90,1 ± 2,1	100.45 ± 1.90
métallicole	4	0,98 ± 0,74	3.08 ± 3.0	0,044 ± 0,020	0.05 ± 0.03	96,7 ± 2,9	92.33 ± 1.49
non métallicole		0,46 ± 0,21	2.52 ± 0.6	0,019 ± 0,010	0.02 ± 0.01	91,6 ± 2,2	91.06 ± 3.38

#### 4. Conclusion et perspectives

Concernant l'évaluation du potentiel d'*A. halleri* pour la phytoextraction du Cd dans un sédiment contaminé, plusieurs résultats peuvent être mis en évidence. Les plantes peuvent s'adapter et se développer sur cette matrice et peu de Cd est lixivié. De plus, les plantes accumulent 100 mg Cd par kg de matière sèche dans les parties aériennes de la plante dès le premier mois de culture. Pour la phytoremédiation, la plante idéale doit posséder de multiples caractéristiques incluant une croissance rapide, une forte biomasse, un enracinement profond tout en étant facile à récolter, et une haute accumulation des métaux dans les parties aériennes de la plante (CLEMENS *et al.*, 2002). KLANG-WESTIN & ERIKSSON (2003) ont admis que la production de biomasse est le paramètre crucial pour la phytoextraction. L'efficacité de la phytoextraction dépend aussi de la composition du substrat et de la spéciation de métaux (BARCELO & POSCHENRIEDER, 2003). Avant la culture, le Cd est présent sous la forme d'un sulfure mixte de Cd, Zn et Fe. Au regard de précédents travaux menés sur le Zn dans un sédiment similaire (PANFILI *et al.*, 2005), on peut s'attendre à une oxydation de sulfures et à une redistribution des métaux dans de nouvelles phases. Une caractérisation précise du substrat, des formes chimiques et de la phytodisponibilité du Cd après la culture est nécessaire pour tester ces hypothèses. Ces travaux sont actuellement en cours.

## 5. Références

- ALARY C. (2001). *Technical report Douai - Fr.*, CNRSSP: 72 p.
- BAKER A.J.M., BROOKS R.R. (1989). *Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements-A review of their distribution, ecology and phytochemistry*. *Biorecovery* 1, pp 81-126.
- BARCELO J., POSCHENRIEDER C. (2003). *Phytoremediation: principles and perspectives*. *Contribut. Sci.* 2, pp 333-344.
- BECHER M., TALKE I.N., KRALL L., KRAMER U. (2004). *Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator Arabidopsis halleri*. *Plant Journal* 37 (2), pp 251-268.
- BERT V., MACNAIR M.R., DE LAGUERIE P., SAUMITOU LAPRADE P., PETIT D. (2000). *Zinc tolerance and accumulation in metallicolous populations of Arabidopsis halleri (Brassicaceae)*. *New Phytologist*. 146, pp 225-233. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00634.x
- BERT V., BONNIN I., SAUMITOU LAPRADE P., DE LAGUERIE P., PETIT D. (2002). *Do Arabidopsis halleri from nonmetallicolous populations accumulate zinc and cadmium more effectively than those from metallicolous populations?* *New Phytologist* 155 (1), pp 47-57. doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00432.x
- BERT V., MEERTS P., SAUMITOU LAPRADE P., SALIS P., GRUBER W., VERBTUGGEN N. (2003). *Genetic basis of Cd tolerance and hyperaccumulation in Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil* 249 (1), pp 9-18. doi:10.1023/A:1022580325301
- CHANEY R.L., RYAN J.A. (1993). *Heavy metals and toxic organic pollutants in MSW-composts: Research results on phytoavailability, bioavailability, fate, etc.* pp 451-506. In Keener (ed) *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Renaissance Publ., Worthington, OH.
- CHO M., CHARDONNENS A.N., DIETZ K.J. (2003). *Differential heavy metal tolerance of Arabidopsis halleri and Arabidopsis thaliana: a leaf slice test*. *New Phytologist* 158 (2), pp 287-293. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00746.x
- CHRISTENSEN T.H., TJELL J.C. (1984). *Leaching from land disposed municipal compost: 4. Heavy metals*. *Waste Management and Research*, 2, pp 347-357
- CLEMENS S., PALMGREN M.G., KRAMER U. (2002). *A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation*. *Trends Plant Science*, 7(7), pp 309-315. doi:10.1016/S1360-1385(02)02295-1
- COREY R. B., KING L.D., LUE-HING C., FANNING D.S., STREET J.J., WALKER J.M. (1987). *Land Application of Sludge: Food Chain Implications*, (Eds Page, A. L., Logan, T. G., and Ryan, J. A. A.L. Page, Lewis Publishers, Inc., Chelsea, Michigan, pp 25-51.

- CUNNINGHAM S.D., BERTHI W.R., HUANG J.W. (1995). *Phytoremediation of contaminated soils*. Tends in Biotechnology 13, pp 393-397. doi:10.1016/S0167-7799(00)88987-8
- DAHMANI-MULLER H., VAN OORT B., GELIE B. BALABANE M. (1999). *Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter*. Environmental Pollution. 109, pp 1-8.
- GIRONDELOT B., BERT V., MARSEILLE F., LABOUDIGUE A. (2003). *Restoration of a metal polluted dredged sediment deposit*. A Phytoremediation inventory, COST Action 837 View. Ed: T. Vanek and JP Schwitzguébel, 68 p.
- GUERINOT M.L., EIDE D. (1999). *Zeroing in on zinc uptake in yeast and plants*. Current Opinion in Plant Biology 2, pp 244–249. doi:10.1016/S1369-5266(99)80042-9
- HAE-NAM HYUN A.C., CHANG D.R., PARKER, PAGE A. (1998). *Cadmium solubility in sludge-treated soil: effects of soil organic carbon*. Journal of Environmental Quality 27, pp 329-334. doi:10.2134/jeq1998.272329x
- HUGUET S., LACHEREZ S., LABOUDIGUE A., SARRET G., BERT V. (2007a). *Phytoextraction and hyperaccumulating plant : is it possible?* Colloque WG4 COST action 859, Vilnius, Lituanie.
- HUGUET S., BERT V., LABOUDIGUE A., ISAURE M.P., SARRET G. (2007b). *Cd localization and speciation in a contaminated sediment and in the Zn, Cd hyperaccumulating plant Arabidopsis halleri*. 9th ICOBTE, 330 p.
- ISAURE, M.P., LABOUDIGUE A., MANCEAU A., SARRET G., TIFFEAU C., TROCELLIER P., LAMBLE G., HAZEMANN J. L., CHATEIGNER D. (2002). *Quantitative Zn speciation in a contaminated dredged sediment by mu-PIXE, mu-SXRF, EXAFS spectroscopy and principal component analysis*. Geochimica Cosmochimica Acta 66(9), pp 1549-1567. doi:10.1016/S0016-7037(01)00875-4
- JING J., LOGAN T. (1992). *Effects of sewage sludge cadmium concentration on chemical extractability and plant uptake*. Journal of Environmental Quality 21, pp 73-81. doi:10.2134/jeq1992.21173x
- KLANG-WESTIN E., ERIKSSON J. (2003). *Potential of Salix as phytoextractor for Cd on moderately contaminated soils*. Plant and Soil, 249(1), pp 127-137. doi:10.1023/A:1022585404481
- KUPPER H., LOMBI E., ZHAO F.J., McGRATH S.P. (2000). *Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator Arabidopsis halleri*. Planta 212, pp 75-84. doi:10.1007/s004250000366
- LOMBI E., ZHAO F.J., DUHMAN S.J., McGRATH S.P. (2000). *Cadmium accumulation in populations of Thlaspi caerulescens and Thlaspi goesingense*. New Phytologist 145, pp 53-60. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00560.x
- McBRIDE M.B. (1995). *Toxic Metal Accumulation from Agricultural Use of Sludge: Are USEPA Regulations Protective?* Journal Environmental Quality 24, pp 5-18. doi:10.2134/jeq1995.2415

- McGRATH S.P., LOMBI E., GRAY C.W., CAILLE N., DUNHAM S.J., ZHAO F.J. (2006). *Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri**. Environmental Pollution, 2006. 141(1), pp 115-125. doi:10.1016/j.envpol.2005.08.022
- O'DAY, P., CARROL S.A., WAYCHUNAS G.A. (1998). *Rock-Water interactions controlling zinc, cadmium, and lead concentrations in surface waters and sediments, US tri-state mining district. 1. Molecular identification using X-ray absorption spectroscopy*. Environmental Science and Technology 32, pp 943-955. doi:10.1021/es970453c
- PANFILI F., MANCEAU A., SARRET G., SPADINI L., KIRPICHTCHIKOVA T., BERT V., LABOUDIGUE A., MARCUS M., AHAMDACH N., LIBERT M. (2005). *The effect of phytostabilization on Zn speciation in a dredged contaminated sediment using scanning electron microscopy, X-ray fluorescence, EXAFS spectroscopy and principal components analysis*. Geochimica Cosmochimica Acta 69, pp 2265–2284. doi:10.1016/j.gca.2004.10.017
- RASKIN I., ENSLEY B. (2000). *Phytoremediation of Toxic Metals*. Wiley.
- SARRET G., SAUMITOU LAPRADE P., BERT V., PROUX O., HAZEMANN J. L., TRAVERSE A., MARCUS M., MANCEAU A. (2002). *Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri**. Plant Physiology 130, pp 1815-1826. doi:10.1104/pp.007799
- RAVEL B., NEWVILLE M. (2005). *ATHENA and ARTEMIS: Interactive graphical data analysis using IFEFFIT*. J. Synchr. Rad. 12, pp 537-541. doi:10.1107/S0909049505012719
- SEUNTJENS, P., MALLAANTS, D., SIMUNEK, J., PATYN, J., JACQUES D. (2002). *Sensitivity analysis of physical and chemical properties affecting field-scale cadmium transport in a heterogeneous soil profile*. Journal of Hydrology 264 (1-4), pp 185-200. doi:10.1016/S0022-1694(02)00071-9
- THIRY M., HUET-TAILLANTER S., SCHMITT J.M. (2002). *La friche industrielle de Mortagne-du-Nord (59) -I- Prospection du site, composition des scories, hydrochimie, hydrologie et estimation des flux*. Bulletin Société Géologique de France 173/4, pp 369-381. doi:10.2113/173.4.369
- WEBER M., HARADA E., VESS C., VON ROEPENACK LAHAYE E., CLEMENS S. (2004). *Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors*. Plant Journal 37 (2), pp 269-281.
- ZHAO F., LOMBI E., BREEDON T., McGRATH S.P. (2000). *Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri**. Plant, Cell and Environment 23: pp 507-514. doi:10.1046/j.1365-3040.2000.00569.x

ZHAO F., JIANG R.F., DUNHAM S.J., McGRATH S.P. (2006). *Cadmium uptake, translocation and tolerance in the hyperaccumulator Arabidopsis halleri*. *New Phytologist*, 172, pp 646-654. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01867.x