

Phytoextraction in situ du Zn et du Cd par *Arabidopsis halleri* en co-culture avec *Salix viminalis*

Arnaud Grignet, Anissa Lounes-Hadj Sahraoui, Joel Fontaine, Valérie Bert

► To cite this version:

Arnaud Grignet, Anissa Lounes-Hadj Sahraoui, Joel Fontaine, Valérie Bert. Phytoextraction in situ du Zn et du Cd par *Arabidopsis halleri* en co-culture avec *Salix viminalis*. 4èmes Rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués, Nov 2019, Paris, France. ineris-03319929

HAL Id: ineris-03319929

<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-03319929>

Submitted on 13 Aug 2021

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.

Titre : Phytoextraction *in situ* du Zn et du Cd par *Arabidopsis halleri* en co-culture avec *Salix viminalis* (PHYTOEXCO)

Les auteurs : Arnaud Grignet^{1,2}, Anissa Lounes-Hadj Sahraoui², Joel Fontaine², Valérie Bert^{1, *}

¹ : INERIS, Unité Technologies Propres et Economie Circulaire, DRC/RISK, Parc Technologique ALATA, BP2, 60550 Verneuil en Halatte, France

² : Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV, EA 4492), Université du Littoral Côte d'Opale, SFR Condorcet FR CNRS 3417, 50 rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais cedex, France.

* contact : valerie.bert@ineris.fr

Résumé

Dans le cadre de la thèse PHYTOEXCO (2017-2020) financée par l'ADEME et la région Hauts-de-France, le potentiel de phytoextraction de l'arabette de Haller en co-culture avec le saule des vanniers est étudié sur un site urbain contaminé avec des teneurs moyennes en Cd et en Zn de 1,7 et 616 mg kg⁻¹ respectivement. Le saule est un arbre accumulateur de Zn et de Cd à croissance rapide et à forte biomasse et l'arabette de Haller est une plante hyperaccumulatrice de Zn et de Cd. La co-culture d'espèce (hyper)accumulatrices a été très peu explorée en conditions de terrain. Afin d'augmenter le potentiel de phytoextraction en Zn et en Cd via la concentration foliaire et/ou la production de biomasse, un taillis à très courte rotation de saule en co-culture avec de l'arabette de Haller a été implanté depuis 2013. Un suivi des paramètres de croissance et d'accumulation foliaire en Zn et en Cd est effectué grâce à des mesures annuelles. Différentes pratiques agronomiques sont testées (apports d'inoculum mycorhizien et de fertilisant, fauche, co-culture). Les principaux résultats obtenus montrent que la biomasse des saules produite sur le site contaminé (58T/ha) est comparable à celle de sites non contaminés. Quant à la biomasse des arabettes (4,7T/ha), elle est significativement supérieure à celle mentionnée dans la littérature. Par ailleurs, le dosage de la biomasse et des activités enzymatiques microbiennes du sol, ne révèle pas d'effet négatif de la pollution sur le fonctionnement du sol.

Introduction

En 2019, plus de 2.8 millions de sites contaminés, dont 35% par des éléments potentiellement toxiques (EPT), ont été dénombrés en Europe [1]. En France, 7014 sites et sols pollués ou potentiellement pollués ont été référencés en 2019 (Basol). Plus de 961 sites sont localisés en région Hauts-de-France. Les phytotechnologies restent encore émergentes, mais peuvent s'appliquer *in situ* sur de vastes surfaces et permettent de préserver les fonctions du sol et limiter l'érosion du sol ainsi que l'envol de poussières [2]. La phytoextraction est une technique de dépollution partielle des métaux et métalloïdes basée sur l'utilisation d'espèces végétales résistantes et accumulatrices présentant idéalement une croissance rapide et une forte biomasse [3]. Le potentiel de phytoextraction (augmentation du transfert d'EPT et ou de la biomasse) de ces plantes peut être amplifié par l'application de chélatants (naturels ou synthétiques), de certaines pratiques agronomiques (fauche, fertilisant...) ou génétiques (surexpression de gène) [4].

Le projet PHYTOEXCO s'appuie sur les résultats obtenus dans le projet PHYTOAGGLO (ADEME 2013-2017) qui était un projet de renouvellement urbain de l'Agglomération Creil Sud Oise (ASCO) visant l'intégration des phytotechnologies en milieux urbains. Ce projet visait à revégétaliser le quartier tout en réduisant les polluants du sol afin de démontrer l'efficacité et les performances de la phytoextraction. Les deux espèces choisies dans le cadre de ce projet sont une plante hyperaccumulatrice en couvert de sol l'Arabette de Haller (*Arabidopsis halleri*) et une espèce ligneuse accumulateur à croissance rapide et à forte biomasse le saule (*Salix viminalis*). La co-culture d'espèces accumulatrices de Zn et de Cd a très peu été explorée, en particulier *in situ*.

Cette étude vise à optimiser les pratiques culturales de l'arabette de Haller et des saules, afin d'augmenter le potentiel de phytoextraction (accumulation en EPT et/ou biomasse). Différentes pratiques agronomiques sont testées pour augmenter ces paramètres : l'application de fertilisant NPK, la co-culture, la fauche et l'ajout d'un amendement biologique à base de champignons mycorhiziens.

Les feuilles enrichies en EPT peuvent présenter un risque de dispersion des polluants dans l'environnement. L'évaluation des risques écologiques potentiel à l'ingestion de ces feuilles par les communautés animales va être suivie par biomonitoring avec des escargots. Le fonctionnement biologique du sol a été évalué par le suivi d'indicateurs microbiens (biomasse bactérienne et fongique et activités enzymatiques microbiennes) en fonction de la contamination et des modalités de culture (sol contaminé non végétalisé et végétalisé par les saules seuls, l'arabette seule, ou la co-culture).

Matériels et méthodes

L'étude a été menée sur le site du projet PHYTOAGGLO (Montataire, Oise, France). 800 m² de terres polluées ont été excavées et homogénéisées et réparties sur l'ensemble de la parcelle. Un taillis à très courte rotation de 350 saules (*Salix viminalis*) a été mis en place en 2013 et les premières parcelles d'arabette de Haller ont été mises en place en 2015 (Figure 1). La concentration dans le sol en Zn est de 616 mg. Kg⁻¹ et en Cd 1.7 mg. Kg⁻¹, le pH est basique (>8) et la mobilité des métaux est faible (la proportion des EPT mobile est de 0,04% pour le Cd et 0,13% pour le Zn).

Le suivi de 100 saules a été réalisé en juin 2019 (diamètre, hauteur, taux de survie, concentrations du Zn et Cd foliaires). En 2018, à la fin du premier cycle du taillis à très courte rotation, 1/3 des arbres a été coupé afin de mesurer les concentrations en Zn et Cd dans les troncs pour déterminer la voie de valorisation possible (ex : bois énergie) et connaître le rendement en biomasse. Le suivi des arabettes de Haller à différents stades de développement a été réalisé en 2018 et 2019 (concentrations en Zn et Cd foliaires, biomasse) avec et sans NPK.

Pour augmenter la production de biomasse chez le saule, l'ajout d'un inoculum mycorhizien commercial (Ectovit® et ©MycAgro) a été testé sur des racines de bouture de saule en laboratoire. Après 6 semaines de culture, les racines de saule sont collectées et colorées au bleu Trypan [5]. La détermination du taux de mycorhization est ensuite réalisée par observation microscopique.

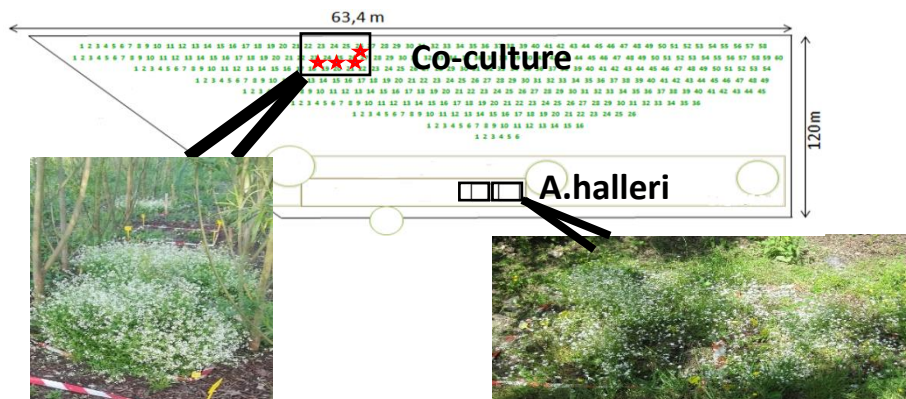


Figure 1 : Design du site expérimental et photographie des parcelles d'*Arabidopsis halleri*

Afin de vérifier l'état de mycorhization spontanée de l'arabette de Haller, des racines d'arabette ont été collectées sur le site expérimental à différents stades de développement (rosette, floraison, fructification) sur des parcelles avec et sans NPK. Parallèlement à cela, une expérimentation de mycorhization induite de l'arabette en présence d'une plante nurse (*Trifolium repens*) et d'un inoculum mycorhizien commercial (©MycAgro) est mise en place.

Afin d'évaluer le fonctionnement biologique du sol, des quantifications de biomasse fongique et bactérienne (dosage des marqueurs lipidiques spécifiques : acides gras associés aux phospholipides (AGPL) (i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, cy17:0, C18:1ω7, cy19:0 pour les bactéries, C16:1ω5 pour les champignons mycorhiziens à arbuscules, C18:2ω6,9 pour les champignons saprotrophes et ectomycorhiziens) [6]) ainsi que des dosages d'activités enzymatiques microbiennes (DHA : déshydrogénase et la FDA : fluorescéine diacétate) [7]) ont été réalisées en fonction des différentes modalités de culture mises en place sur le site (sols sous les arabettes, sous la saulaie, sous la coculture et sans végétation). Des prélèvements de sol pour chaque condition ont été réalisés en avril 2018. La terre a été ensuite déshydratée puis triée afin de retirer les cailloux et les morceaux racinaires avant de procéder à l'extraction des marqueurs lipidiques.

Résultats et discussion

La croissance (hauteur et diamètre) des saules sur le site de PHYTOAGGLO est supérieure à celle observée sur des sites moins contaminés (Figure 2) [8]. Les concentrations en Zn et en Cd en 2019 sont respectivement six et sept fois supérieures aux concentrations retrouvées chez des végétaux poussant sur milieu non contaminé (Figure 2) [9].

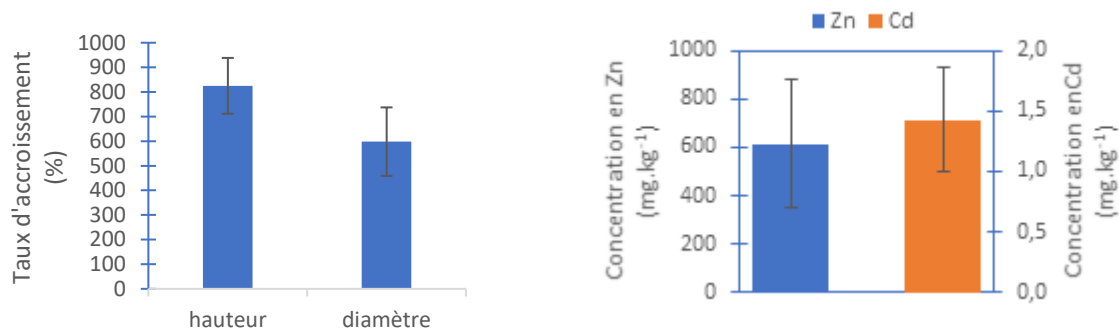


Figure 2 : Taux d'accroissement annuel du diamètre et de la hauteur et concentrations foliaires en Zn et Cd des saules en 2019

La biomasse de saule produite sur le site d'étude est importante (58T/ha), ce qui est équivalent à la production sur des sites non contaminés [10]. Contrairement au Zn, la concentration moyenne en Cd dans le bois de saule est inférieure à la concentration maximale réglementaire pour les combustibles utilisables en installations soumises à enregistrement et répondant à la définition de déchet de bois b(v).

L'arabette de Haller présente un bon développement malgré un pH basique. En présence de fertilisant (NPK), l'arabette présente des concentrations en Zn supérieures et plus homogènes ainsi qu'une biomasse plus importante par rapport à des parcelles sans NPK. Le poids des arabettes est significativement plus important en période de floraison et de fructification en 2019 pour les parcelles avec et sans NPK. Les fertilisants azotés sont réputés pour augmenter la biomasse ainsi que les concentrations en EPT [11] [12] [13]. L'estimation de la biomasse produite à l'hectare pour des parcelles avec NPK est de 4.7 T, ce qui est significativement supérieur à ce qui est décrit dans la littérature pour cette espèce [14] [15].

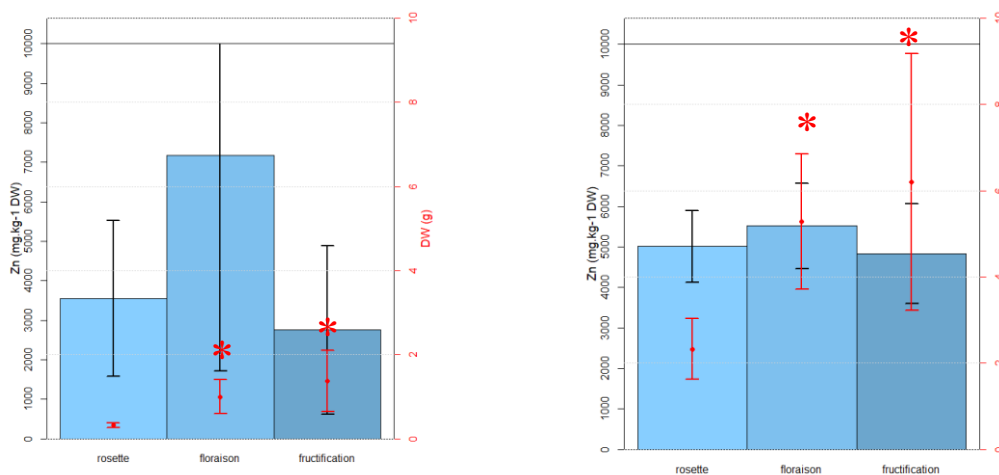


Figure 3 : Concentration en Zn et poids sec chez l'arabette de Haller à différents stades de développements en absence de NPK (à gauche) et en présence de NPK (à droite). Les différences significatives entre les stades sont représentées par* .

La pré-inoculation du saule par un inoculum commercial montre un taux de mycorhization de 10% qui est supérieur à celui mesuré sur des sites moins contaminés [16]. Aucune mycorhization spontanée n'a été observée dans les racines d'arabette de Haller quel que soit le stade de développement (rosette, floraison, fructification) sur le site contaminé en présence ou absence de NPK. Les brassicacées sont connues pour être non mycorhizables [17] ce résultat pouvait être attendu. De même, aucune mycorhization induite n'a été observée chez l'arabette de Haller en présence d'un inoculum commercial

dans des essais conduits au laboratoire alors que la plante nurse est mycorhizée. Ces résultats confirment l'inaptitude de cette espèce à mycorhizer.

Quelles que soient les modalités de culture testées, la quantité de biomasse fongique est supérieure à celle observée dans des sols non contaminés et contaminés aux EPT [18] [19] et la quantité de biomasse bactérienne est identique à celle des sols non contaminés (Figure 4) [19].

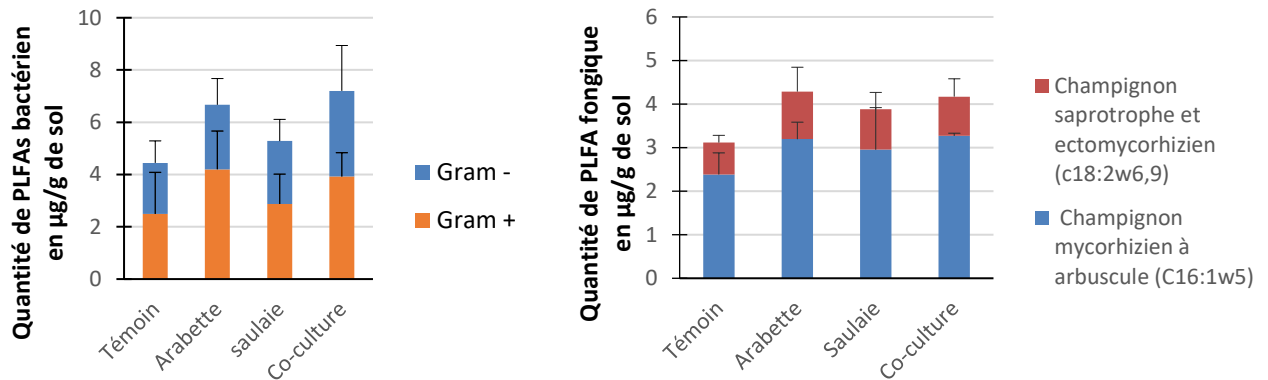


Figure 4 : Biomasse microbienne du sol en fonction de la modalité de culture (à gauche bactérienne, à droite fongique)

Alors que l'activité enzymatique microbienne DHA mesurée dans nos conditions est inférieure à un sol non pollué et supérieure à un sol pollué [20], l'activité FDA est légèrement inférieure à un sol non pollué [21]. Ces activités enzymatiques sont similaires quelles que soient les conditions de culture testées.

Conclusions et perspectives

Nous observons une bonne croissance des saules et de l'arabette sur sol pollué en EPTs. La production de biomasse de saule est identique à celle mesurée sur des sites non contaminés et celle de l'arabette est supérieure à celle précédemment reportée dans la littérature. Aucun effet négatif des caractéristiques pédo-agronomiques et du niveau de contamination du sol (pH, EPTs) n'est observé sur la croissance et la biomasse de ces espèces. Les concentrations foliaires des saules et des arabettes en Zn sont largement supérieures aux valeurs physiologiques et en Cd supérieures aux valeurs ordinaires révélant le caractère tolérant et accumulateur des saules et des arabettes de Haller.

La concentration en Zn dans le bois de saule présente un étagement (haut>milieu>bas) et pourrait être limitante pour une utilisation en combustible bois. Dans nos conditions, un étagement pourrait alors être envisagé

L'apport de fertilisant (NPK) permet d'augmenter significativement la biomasse des arabettes ainsi que d'homogénéiser les concentrations en Zn.

Quelle que soit la modalité de culture (saulaie, arabette, co-culture, sol non végétalisé), l'activité microbienne du sol, mesurée via la quantification de la biomasse bactérienne et fongique ainsi que les activités enzymatiques DHA et FDA, reste identique. Aucune mycorhization spontanée n'est observée pour l'arabette quel que soit le stade de développement (rosette, floraison et fructification) sur le sol contaminé en présence ou absence du NPK *in situ*. De même, aucune mycorhization induite n'a été détectée sur l'arabette de Haller en présence d'un inoculum commercial.

En 2020, le suivi des concentrations foliaires en Cd et Zn et le développement du saule et de l'arabette sera poursuivi. Le nombre de fauches des arabettes de Haller possibles par année sera mesuré.

Les risques écologiques liés à l'ingestion des feuilles d'arabette vont être mesurés par biomonitoring avec des escargots afin de déterminer le seuil de non-consommation et les facteurs favorisant l'appétence.

La quantification des biomasses microbiennes et les activités enzymatiques du sol vont être remesurées en octobre 2019 afin de suivre les fonctionnalités du sol en fonction du temps.

Références

- [1] Panagos, P., Van Liedekerke, M., Yigini, Y., Montanarella, L. (2013) Contaminated Sites in Europe: Review of the Current Situation Based on Data Collected through a European Network. *Journal of Environmental and Public Health* 2013:1–11.
- [2] Bert, V., Douay, F., Faure, O., Cadière, F. (2017). Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués (nouveaux résultats de recherche et démonstration). 61 pages. Eds : ADEME Expertises.

- [3] Bert, V., Hadj-Sahraoui, A., Leyval, C., Fontaine, J., Ouvrard, S. (2012). Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués. Etat de l'art et guide de mise en œuvre. ADEME/INERIS. Ed. EDP sciences. ISBN: 978-2-7598-0805-2.
- [4] Sheoran, V., Sheoran, A., Poonia, P. (2016). Factors Affecting Phytoextraction: A Review. *Pedosphere* Vol. 26 (2): 148-166.
- [5] McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., Swan, J.A. (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New phytol.* 115,495-501.
- [6] Frostegard, A., Tunlid, A., Baath, E. (1991) Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods* 14 (3): 151–163.
- [7] Gillian, A., Duncan, H. (2001) Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33 (7-8): 943–951.
- [8] Mleczek, M., Rutkowski, P., Rissmann, I., Kaczmarek, Z., Golinski, P., Szentner, K., Strażyńska, K., Stachowiak, A. (2010). Biomass Productivity and Phytoremediation Potential of *Salix Alba* and *Salix Viminalis*. *Biomass and Bioenergy* 34 (9) : 1410 18.
- [9] Kabatas-Pendias, A., Pendias, K. (2000). Trace Element in Soils and Plants. 3rd ed. Boca Raton, Fla. London: CRC Press.
- [10] AILE. Le Taillis de saule à Très Courte Rotation : Guide des bonnes pratiques agricoles. Programme Life Environnement Wilwater, 2007.
- [11] Ebbs, S., Lasat, M, Brady, D J., Cornish, J., Gordon, R., Kochian, L. 1997. Phytoextraction of Cadmium and Zinc from a Contaminated Soil. Vol. 26.
- [12] Bennett, F.A., Tyler, E.K., Brooks, R.R., Gregg, P.E.H., Stewart, R.B. (1998). Fertilization of hyperaccumulators to enhance their potential for phytoremediation and phytomining. *Plants that hyperaccumulate Heavy Metals*. Ed. R.R. Brooks. CAB International, Wallingford.
- [13] Schwartz, C., Echevarria, G., Morel, J.L. (2003). Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 249, 27–35.
- [14] 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* 141 (1): 115 25.
- [15] Wieshammer, G., Unterbrunner, R., Bañares García, T., Zivkovic, M.F., Puschenreiter, M., Wenzel, W.W. (2007). Phytoextraction of Cd and Zn from Agricultural Soils by *Salix Ssp.* and Intercropping of *Salix Caprea* and *Arabidopsis Halleri*. *Plant and Soil* 298 (1 2): 255 64.
- [16] Bissonnette L, St-Arnaud M, Labrecque M (2010) Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil* 332:55–67.
- [17] Smith, S.E., Read, D.J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, London.
- [18] Zhang, Q., Wu, J., Yang, F., et al (2016) Alterations in soil microbial community composition and biomass following agricultural land use change. *Scientific Reports* 6.
- [19] Anjos, D.C., Hernandez, F.F.F., Bañuelos, G.S., Dangi, S.R., Tirado-Corbala, R., Da Silva, F.N., Filho, P.F.M. (2018) Microbial community and heavy metals content in soils along the Curu River in Ceará, Brazil. *Geoderma Regional* 14:e00173.
- [20] Kumar, S., Chaudhuri, S., Maiti, S.K. (2010). Soil deshydrogenase enzyme activity in natural and mine soil. A review. *Environment and Ecology Research*.
- [21] Tripathy, S., Bhattacharyya, P., Mohapatra, R., Som, A., Chowdhury, D. (2014) Influence of different fractions of heavy metals on microbial ecophysiological indicators and enzyme activities in century old municipal solid waste amended soil. *Ecological Engineering* 70:25–34.

Remerciements

Les auteurs remercient la communauté d'Agglomération Creil Sud Oise en particulier H. Coudière, L. Raphaël (ASCO) et JL. Deremy (Montataire) pour la mise à disposition du site expérimental et leurs aides techniques. Les auteurs remercient également F. Richez, A. Papin, H. Megloulou, F. Laruelle, pour leurs aides techniques durant les campagnes d'échantillonnage et lors des analyses chimiques et biologiques.