

PHYTOREMEDIATION

Plantes dépolluantes et mycorhizes

Evaluation d'un procédé de dépollution des sols contaminés par des éléments traces métalliques (ETM), à l'aide de plantes ornementales associées à des microorganismes : Approche de la phytoremédiation

Responsable réalisation essai : Jean-Marc DEOGRATIAS

Date de rédaction : Mars 2018

Publication : Juillet 2019



Ouest

VILLENAVE D'ORNON

L'application des méthodes, résultats et conclusions de cette expérimentation aux conditions de chaque exploitation horticole se fait sous l'entière responsabilité des entreprises.

RESUME

La phytoremédiation est une solution efficace pour restaurer et dépolluer les sols contaminés par des métaux lourds. Ce programme de recherche appliquée de quatre ans (2014-2017) vise à étudier la possibilité de créer une filière de gestion de sols pollués, de l'amont à l'aval, avec des plantes ornementales associées à des champignons mycorhiziens qui jouent un rôle clé pour augmenter l'assimilation des métaux lourds par la plante. Ces travaux ont été évalués, en laboratoire et sur le terrain, la capacité et les performances de dépollution d'associations de plantes, la rentabilité de leur production et leur inscription dans une filière de dépollution. ASTREDHOR Sud-Ouest et ASTREDHOR Est ont analysé l'efficacité de taxons associés à des champignons. Les plantes sélectionnées pour l'expérimentation sont intéressantes car aucun symptôme de phytotoxicité n'a été observé. Au niveau de l'efficacité des plantes dans la phytoremédiation, le procédé concerné par la dépollution du plomb pourrait être la phytostabilisation, plus que la rhizofiltration ou la phytoextraction. Le *Geranium macrorrhizum* et le *Geranium cantabrigiense* se détachent des autres espèces avec une concentration en plomb observée plus élevée par unité de poids sec racinaire. *Ceanothus thyrsiflorus*, *Grevillea juniperina*, *Grevillea lanigera*, *Grevillea rosmarinifolia*, 'Jenkinsii' et *Potentilla* présentent des poids secs racinaires et végétatifs plus élevés. Ces plantes disposeraient de plus de matière sèche que les autres plantes. Toutefois, elles captent beaucoup moins de plomb que les espèces du genre *Geranium* mais restent de bonnes candidates pour une remédiation du sol. L'association des plantes avec des champignons mycorhiziens permet d'augmenter le captage du plomb dans un sol pollué. La sélection de plantes obtenue est à confirmer dans le cadre d'essais de pleine terre en situation de paysage tant en termes d'études de leur capacité de dépollution que de facilité de production pour les producteurs.

OBJECTIFS DU PROJET

ASTREDHOR a décidé de lancer en 2014 un Programme National sur la phytoremédiation. L'étude a porté sur l'évaluation d'un procédé de dépollution d'un sol contaminé, à l'aide de plantes ornementales avec association de champignons mycorhiziens. Une étude bibliographique des espèces de plantes ornementales candidates pour la phytoremédiation a été effectuée. Après le choix des plantes ornementales, trois échelles d'étude différentes ont été envisagées : 1 : sur un substrat perlite avec une inoculation au plomb des plantes sous serre, 2 : sur un sol pollué sous serre et 3 : sur un site pollué.

Les objectifs de ce projet sont

- De déterminer si les plantes ornementales choisies sont candidates et efficaces dans le *procédé de dépollution d'un sol contaminé*
- De vérifier si les microorganismes participent à la réussite de ce processus.
- De développer une nouvelle filière permettant de valoriser les productions ornementales des professionnels en concevant éventuellement une gamme de plantes adaptées et spécialisées à cette technique de dépollution.
- De réfléchir à l'utilisation de la biomasse produite par les végétaux pour la création d'activités nouvelles.
- De concevoir un procédé rapide qui permettrait d'effectuer un screening de végétaux susceptibles de dépolluer un sol contaminé

L'objectif prioritaire est l'assainissement des sols par les plantes ornementales dans des délais raisonnables et le développement de débouchés pour la biomasse récupérée.

ENJEU DU PROJET

L'enjeu de ce projet est **d'évaluer un procédé de dépollution d'un sol contaminé par des ETM, à l'aide de plantes ornementales avec ou sans association des champignons mycorhiziens** en comparaison avec les techniques physico chimiques les plus couramment utilisées.

L'originalité est liée à la **création d'une filière de gestion de sols pollués, de l'amont à l'aval, avec des plantes ornementales**, et dont la rentabilité de ces **stratégies de dépollution à faibles coûts environnementaux** sera évaluée.

La **première partie** de ce projet a consisté à effectuer une recherche et une **synthèse bibliographique** qui nous a conduits à mettre en évidence une liste de plantes pouvant intégrer notre programme d'expérimentation. Sur un **milieu artificiel (perlite inoculée au plomb)**, nous avons montré que certaines **plantes étaient intéressantes pour dépolluer un sol**.

Dans **une deuxième partie**, nous avons procédé en la mise en culture des différentes plantes retenues avec ou sans la présence de mycorhizes dans un sol contaminé provenant d'un site contaminé (Métropole Bordelaise) ; la vérification de la présence de microorganismes, et le comportement des plantes (développement/phytotoxicité) ont été noté en 2017.

In fine, ce projet est axé sur la phase de production et la phase post-production d'une culture de plantes ayant d'une part la potentialité d'accepter la symbiose mycorhizienne et d'autre part, le pouvoir de se développer correctement dans un sol pollué et de piéger des ETM (éléments traces métalliques). Il convient donc aussi d'évaluer l'impact du système de production innovant, tout au long de la vie de la plante.

MATERIEL et METHODES

Matériel végétal

La 1^{ère} sélection des plantes a été effectuée en 2016. Il s'agit de celles répondant aux critères d'évaluation à savoir un bon comportement en culture et capable d'accepter la symbiose mycorhizienne. Les individus plantés ont été suivi sur plus d'une année (taux de reprise, croissance, état sanitaire). Cette étape du projet a permis de mettre en évidence, en post-production, l'intérêt d'une culture avec apport de micro-organismes.

Quatre espèces vivaces du genre *Geranium* sont choisies : *Geranium sanguineum* L. *Geranium macrorrhizum* L., *Geranium x 'Cantabrigiense'* et *Geranium x 'Rozanne'*. Trois espèces du genre *Grevillea* sont choisies : *Grevillea juniperina* A. Cunn. *Grevillea lanigera* A. Cunn. 'Mount Tamboritha' et *Grevillea rosmarinifolia* A. Cunn. 'Jenkinsii'. Deux autres plantes arbustives sont sélectionnées : *Ceanothus thyrsiflorus*. 'Skylark' et *Potentilla fruticosa* L. 'Golfinger'. Enfin, deux clones d'*Eucalyptus gundal*, les clones 208 et 645, sont inclus dans cet essai.



Figure 1 Préparation des gammes de plantes et plantation dans le sol pollué en bac lysimétriques.

Champignons mycorhiziens

Le champignon utilisé est une endomycorhize *Rhizofagus intraradices* associé avec une bactérie BAM (bactérie auxiliaire de la mycorhization). Les inoculations avec ces microorganismes ont été effectuées en 2014.

Le sol pollué

Le site où est prélevé le sol se situe rive gauche de la Garonne au-dessus du Pont d'Aquitaine, au Parc des Berges du Nord. Ce lieu comporte un espace vert ouvert au public et d'anciens jardins familiaux construits dans les années 80, aujourd'hui abandonnés. La mise en place de ce parc de 10 hectares dans les années 1980 sur une propriété du port autonome de Bordeaux a permis la réhabilitation d'une ancienne décharge municipale.

Cependant, une usine d'incinération de déchets spéciaux à proximité du parc a été fermée car celle-ci libérait du plomb et du zinc dans l'atmosphère. La présence de cette usine et de la décharge recouverte ont entraîné une pollution de surface par des métaux lourds ainsi qu'une pollution en profondeur par toute sorte de déchets.

Récupération et préparation des sols

Des premiers prélèvements de sol sont effectués afin de les faire analyser en laboratoire pour obtenir les taux de métaux lourds.

L'expérimentation nécessite environ 2 m³. L'utilisation d'une mini pelle permet de récupérer la quantité souhaitée. Une première couche de sol d'environ 2 cm comprenant les végétaux est supprimée afin d'éliminer les déchets organiques. Puis le sol est creusé sur seulement 15 cm maximum de profondeur. En effet il est nécessaire d'éviter de récupérer les déchets de la décharge. Ce sol est ramené à la station d'expérimentation.

Durant quatre jours, le sol est séché dans des caisses. Puis ce dernier est tamisé afin de supprimer les déchets organiques et inorganiques, écrasé afin de casser les mottes et trié pour récupérer un sol d'une granulométrie de 2 cm de diamètre.

Mise en place du dispositif expérimental

Des bacs lysimétriques sont utilisés pour contenir le sol pollué. Ainsi, deux caisses de 18 L percées de 5 trous sont déposées sur un bac étanche de 38 L permettant la récupération des percolats. Chaque caisse contenant les supports de culture est composée de deux plantes. Les caisses sont remplies avec 12 litres de support de culture. L'essai est placé sur des tablettes de 7 m² situées dans la serre découvrable pilotée informatiquement.

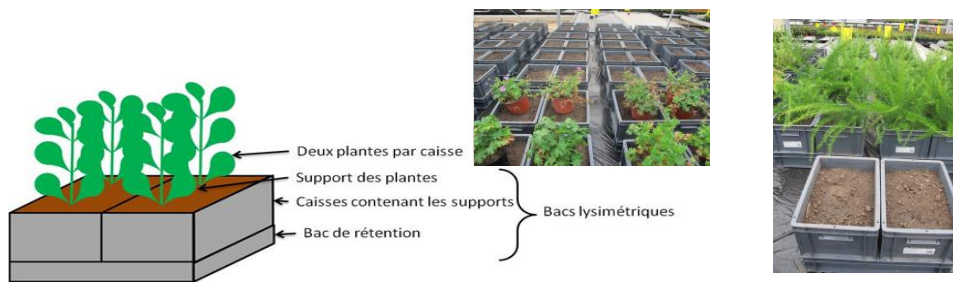
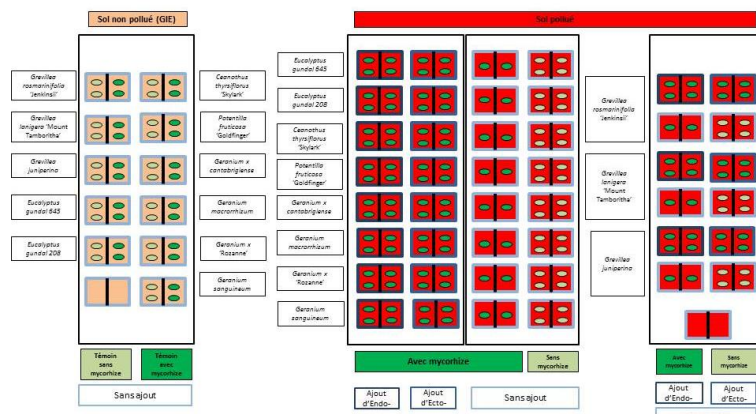


Figure 2 : Schéma de la mise en place des caisses et du bac de rétention pour les essais sur perlite et sur sol

Les modalités étudiées sont : 1: le facteur « espèces » avec 11 espèces différentes, 2: le facteur « absence ou présence de symbioses mycorhiziennes », 3: le facteur « ajout ou non de champignons mycorhiziens lors de plantation en caisse », 4: le facteur « absence ou présence de plomb dans le sol ».

Dispositif :

L'essai comporte 57 grands bacs supportant deux caisses (114 caisses). Chaque caisse présente



deux plantes, soit un nombre total de 220 plantes (20 plantes par variété). Seules 4 caisses avec uniquement du sol permettent de voir le comportement des sols sans couverture végétale.

Le témoin sol non pollué présente 2 répétitions pour les plantes mycorhizées et pour les non mycorhizées. Pour le sol pollué, il est mis en place une modalité d'ajout ou non de champignons mycorhiziens :

- 4 répétitions de plantes mycorhizées pour un ajout de champignons endomycorhiziens arbusculaires,
- 4 répétitions de plantes mycorhizées pour un ajout de champignons ectomycorhiziens,
- 2 répétitions de plantes mycorhizées sans ajout
- 4 répétitions de plantes non mycorhizées sans ajout

Le dispositif expérimental est mis en place 20 semaines après la préparation des plantes biotisées. Dans un objectif d'obtenir un sol non pollué correspondant au témoin, il est décidé de récupérer celui-ci à proximité de la station d'expérimentation. Pour améliorer la teneur en matière organique du sol non pollué ou pollué, une terre végétale est utilisée. Ainsi, pour la préparation des supports d'expérimentation, deux tiers de sols non pollué ou pollué sont mélangés avec un tiers de terre végétale. La terre végétale permet d'améliorer la reprise des plantes avec une décomposition de la matière organique lente mais bien aérée.

Une fertilisation supplémentaire est rajoutée. Il s'agit de 3 g/l de Basacote Native 6 mois (14-3-19+2MgO) et 1 g/l d'Osmocote Bloom 2-3 (12-7-18+TE). En ce qui concerne les modalités des plantes biotisées, il est décidé de rajouter en supplément des champignons endomycorhiziens arbusculaires ou des champignons ectomycorhiziens. L'implantation des plantes dans les caisses est réalisée en semaine 33.

Dosage du plomb

Des échantillons de sol non pollué, de sol pollué et des mélanges 1/3 de terre végétale et 2/3 de sol, sont envoyés à AUREA afin de connaître la concentration exacte en plomb de ces différents sols. Même si au départ la concentration du Parc des Berges du Nord donnée par Bordeaux Métropole était connue, puisque déjà analysée (+/- 140 mg/kg). Ainsi, un échantillonnage du sol pollué est effectué. Trois points de prélèvement séparés par 3 mètres sont récupérés. L'objectif est de savoir s'il y a des différences en fonction des différents prélèvements. Par ces analyses, il est vérifié d'une part si le sol témoin est exempt de plomb et d'autre part si le sol pollué en contient suffisamment pour l'expérimentation. Dans le cas où le sol pollué ne présenterait pas assez de plomb, il pourrait être envisagé de le contaminer en rajoutant du Nitrate de Plomb.

Inoculation du plomb

Le plomb est apporté dans les caisses sous forme de Nitrate de plomb, $Pb(NO_3)_2$, mis en solution. La contamination est effectuée à 200 ppm ($mg.kg^{-1}$) soit 5 g par caisse. Cette teneur est conseillée par le Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC) de l'Université de Lorraine.

RESULTATS

Analyse de terre des mélanges expérimentaux

Chaque type de sol est mélangé avec un tiers de terre végétale et ce sont ces mélanges qui sont analysés. Dans les deux cas, l'analyse permet de dire que chaque type de sol est composé de limons et de limons sableux donnant un même pH (6,9). Ces différents mélanges ont une teneur totale en azote faible, du phosphore et du potassium en quantités identiques. La matière organique dans les deux cas est élevée à très élevée. Ces différents éléments permettent de conclure que les matrices sol utilisées (pollué ou non) possèdent des caractéristiques assez proches.

Dosage du plomb sur les trois prélèvements réalisés sur le site pollué

Lors des trois prélèvements réalisés dans la zone polluée, il est constaté des différences de teneurs en plomb. En effet, les valeurs varient de 99 mg/kg à 1300 mg/kg sur une surface de 20 m². Ce résultat est surprenant, mais peut être expliqué du fait de la présence de la décharge qui

affleure au niveau de la zone de prélèvement la plus contaminée. Par ailleurs, six autres éléments-traces métalliques sont analysés. Il est constaté des doses très importantes de ces ETM (cadmium, cuivre, mercure, nickel et zinc).

Il faut signaler ici que le sol qui sert à notre expérimentation est constitué d'un mélange des trois zones de prélèvement.

Dosage du plomb sur le mélange réalisé pour l'expérimentation

Au regard de la figure 3, nous pouvons noter que le taux de plomb est faible après avoir fait les mélanges du sol prélevé avec la terre végétale. Nous obtenons un taux de plomb de 53.6 mg/kg de matière sèche. Ce taux est faible pour notre expérimentation et de ce fait nous avons rajouté 200 ppm de plomb dans le sol et ainsi nous obtenons un taux de plomb de 426 mg/kg de MS dans le sol ou est planté les végétaux de l'essai (figures 3 et 4).

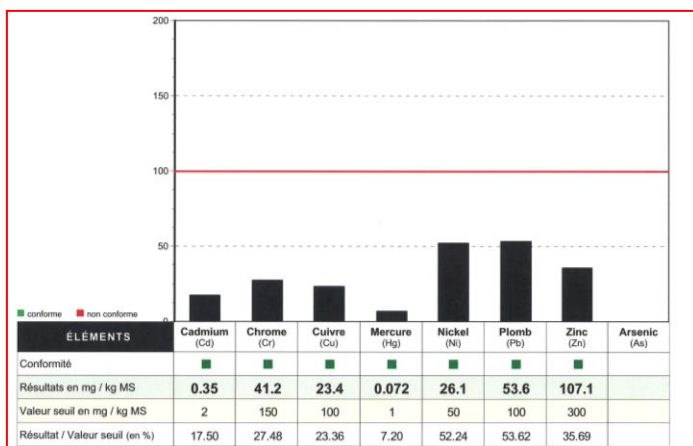


Figure 3 : Dosage du plomb et autres ETM dans le mélange expérimental

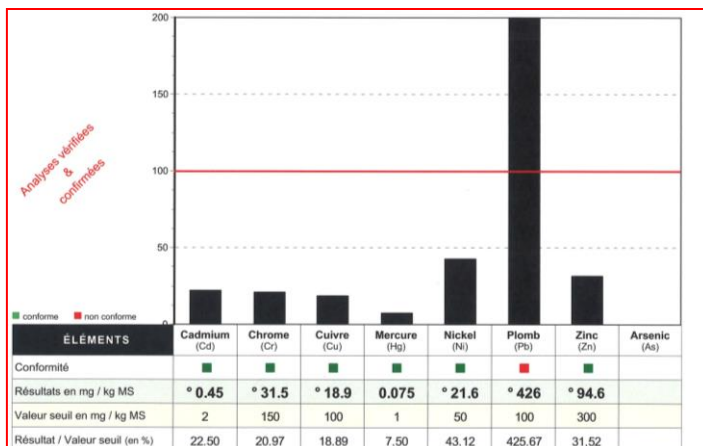


Figure 4 : Dosage du plomb dans le mélange expérimental après inoculation avec 200 ppm de plomb

Dosage du plomb sur le prélèvement réalisé sur le site de la station

Pour rappel, il s'agit du sol témoin. Les analyses réalisées sur ce sol montrent des teneurs en plomb très faibles de l'ordre de 26.8 mg/kg. Pour ce qui est des autres ETM, les concentrations sont aussi très faibles (figure 5).

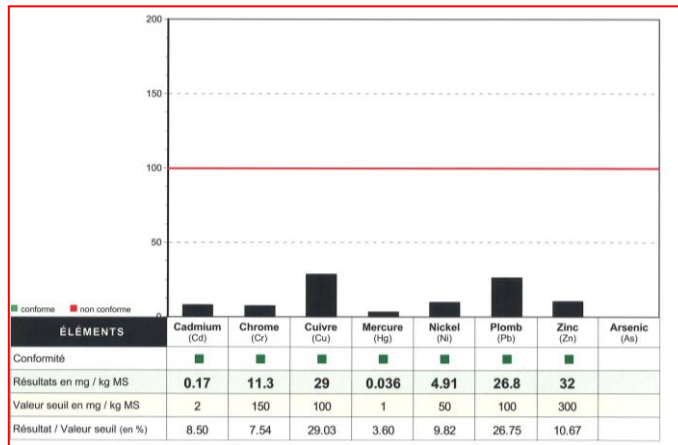


Figure 5 : Dosage du plomb et autres ETM dans le sol témoin

Analyse du plomb dans les plantes

Les parties racinaires et les parties aériennes sont analysées séparément. Les processus de captage du plomb ne sont pas les mêmes entre la partie aérienne et la partie racinaire en effet, on peut noter que la partie racinaire peut capter nettement plus de plomb que la partie aérienne (figures 6, 7a et 7b).



Figure 6 : Arrachage des végétaux de la matrice « sol pollué » et séparation partie racinaire et partie aérienne.

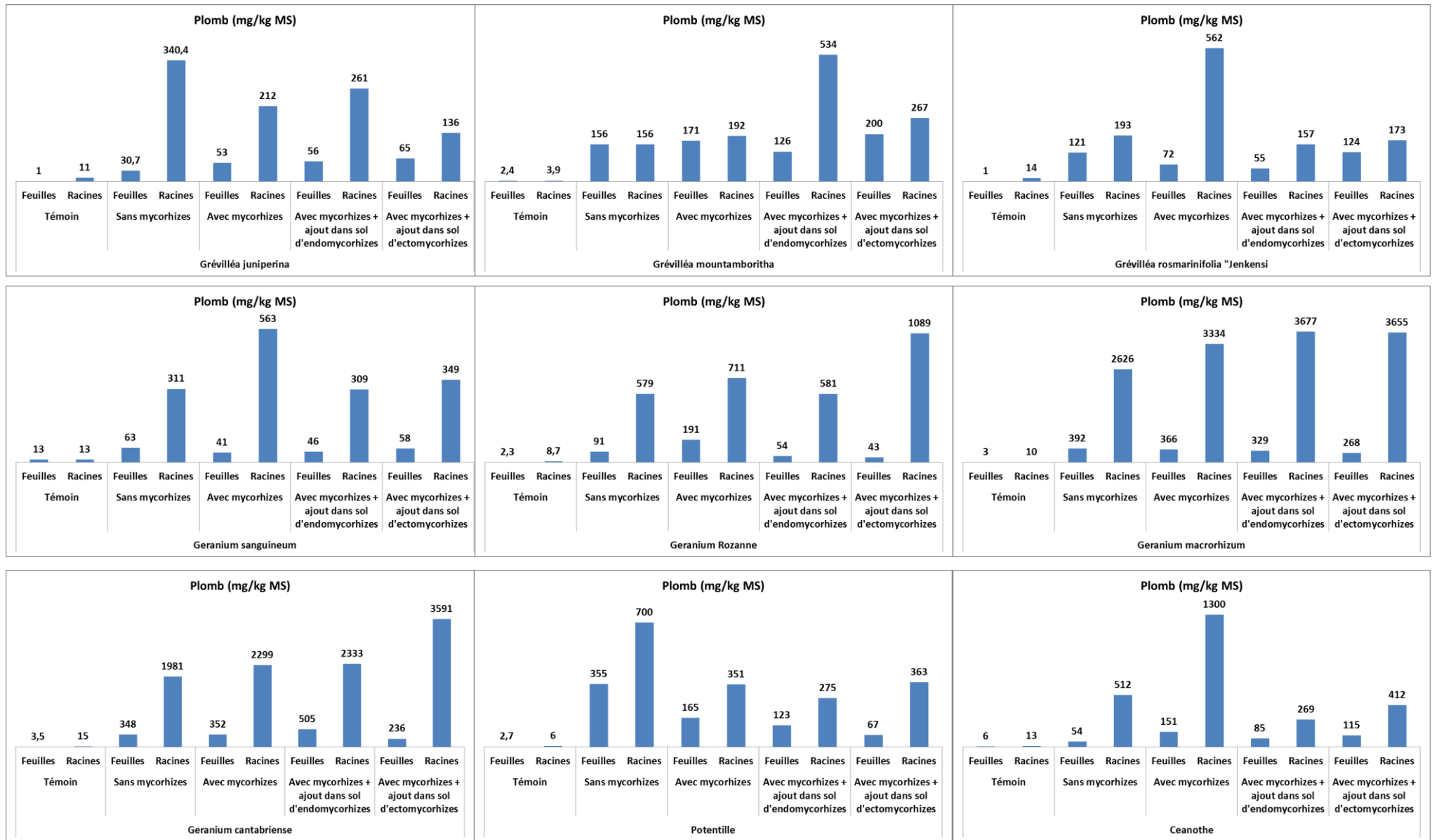


Figure 7a : Taux de plomb analysé dans les feuilles et racines des Grevillea, Géranium, potentille et Ceanothes.

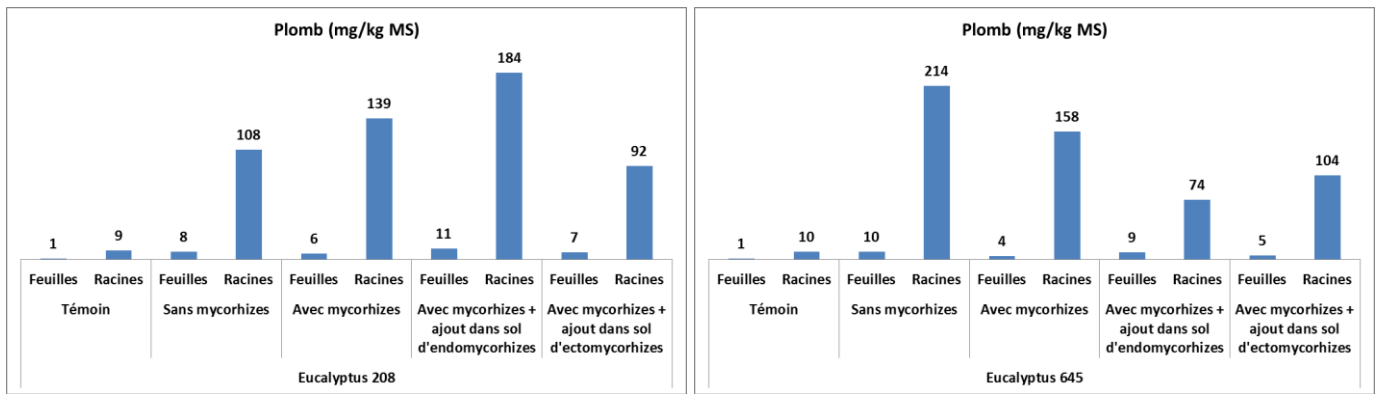


Figure 7b : Taux de plomb analysé dans les feuilles et racines des Eucalyptus.

Au regard des figures 7b, nous pouvons noter que la plupart des plantes utilisées pour dépolluer le sol contaminé par du plomb peuvent capter ce dernier au niveau de leurs racines et pour certaines d'entre elles au niveau de leur système végétatif.

Cependant, on peut remarquer que les géraniums captent nettement plus de plomb que les autres taxons et notamment *le Geranium cantabrigiense et le Geranium macrorhizum*. Il est remarquable de voir que ces derniers peuvent capter jusqu'à 4g /kg de MS soit presque 20 fois plus que pour les racines de l'eucalyptus Il faut signaler aussi que le taux de plomb est assez important dans les feuilles pour ces derniers. Les *Grevillea* et notamment *G. Mount tamboritha* prélèvent des quantités de plomb raisonnablement importantes, ainsi que les potentilles et les *Ceanothes*. Par contre les *Eucalyptus* sont moins efficaces (Figure 7b).

Par ailleurs il est intéressant de noter que les plantes biotisées avec des mycorhizes associées avec *Bacillus pumilus* (BAM) captent beaucoup plus de plomb que les plantes témoins sauf pour les potentilles et le *Grevillea juniperina* ou les plantes sans apport de mycorhizes possèdent des taux en plomb plus élevés. Il faut aussi remarquer que ce taux est plus élevé dans les feuilles lorsque l'on rajoute des microorganismes symbiotiques. Ces observations sont résumées sur le graphique de la figure 8.

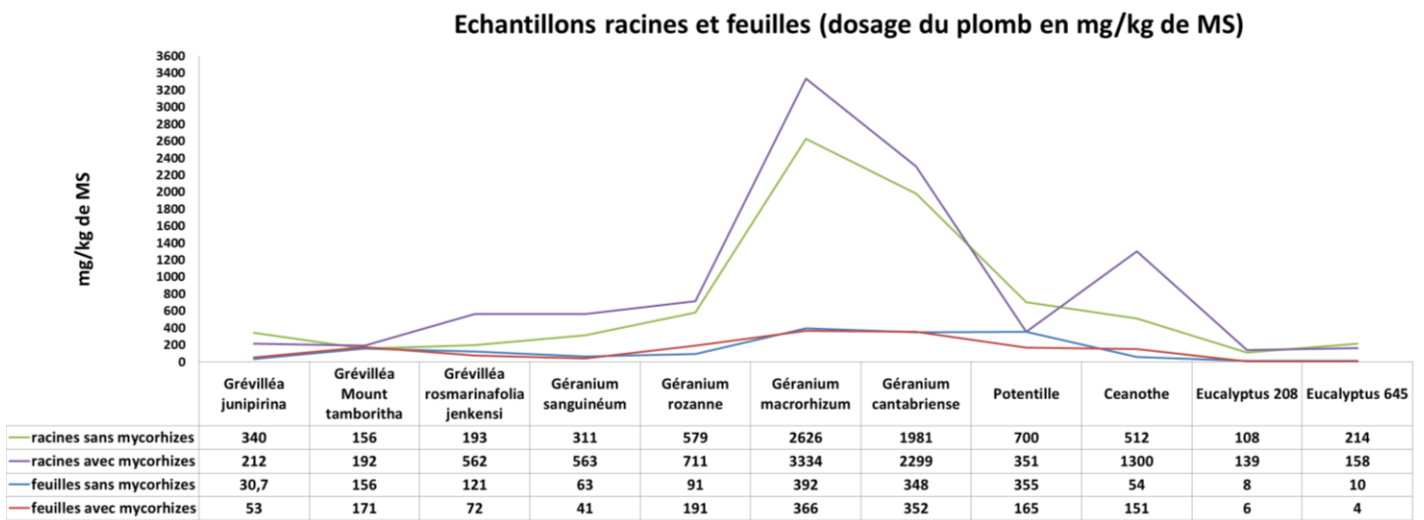


Figure 8 : Comparaison du taux de plomb dans les racines et feuilles avec ou sans mycorhizes dans le milieu

De façon générale, on constate que le taux de plomb est légèrement plus important pour les plantes biotisées.

Lorsque l'on analyse les différents sols ou ont séjourné les différentes plantes, on note que la teneur en plomb est plus basse dans ces sols cultivés en comparaison avec le sol témoin sans plantes et dans lequel est ajouté les 200 ppm de Nitrate de plomb ($Pb(NO_3)_2$). Les plantes ont bien absorbées le plomb puisque la concentration baisse dans les bacs lysimétriques.

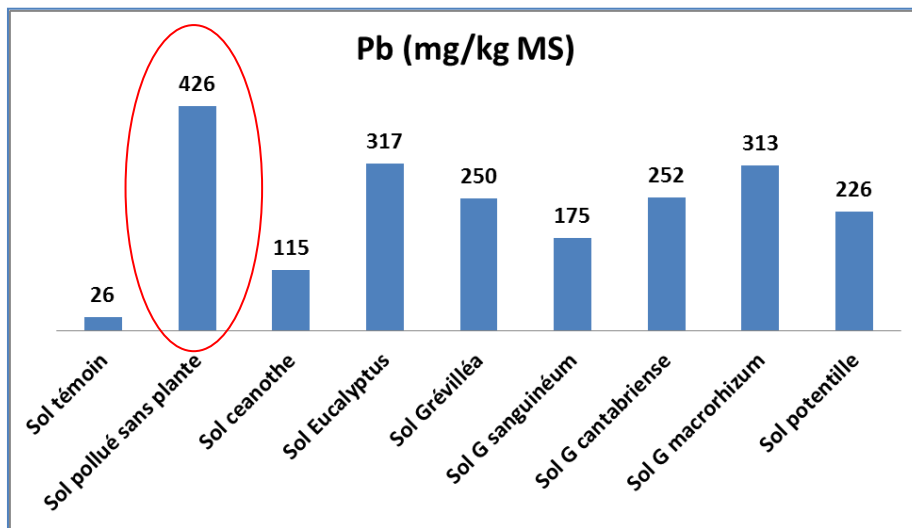


Figure 9 : Taux de plomb analysé dans le sol après prélèvement des plantes et en comparaison avec un sol contaminé n'ayant pas été planté

Vérification de l'installation des mycorhizes

Les observations microscopiques permettent de montrer que les plantes ayant subi un apport de champignons mycorhiziens lors du repotage présentent toutes des filaments mycéliens et des vésicules après un an dans un sol pollué. Il faut noter, que la contamination par le plomb et autres ETM n'altèrent pas la symbiose mycorhizienne. La figure 10 permet de distinguer la présence de filaments, de vésicules et des arbuscules de champignons endomycorhiziens au sein des racines.

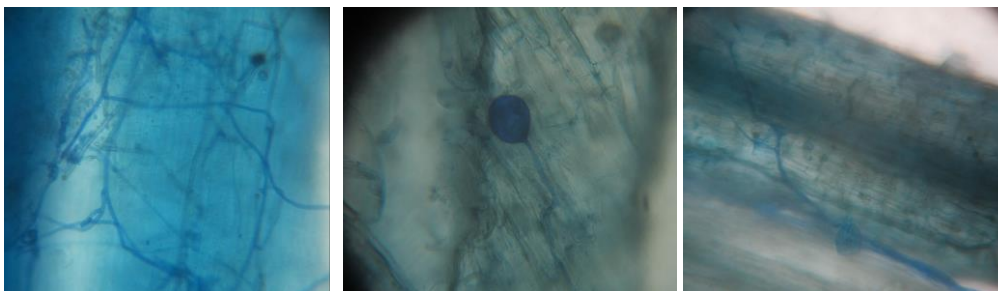


Figure 10 : Observations de filaments, vésicules et des arbuscules de champignons endomycorhiziens.

DISCUSSION

Les plantes choisies pour cette expérimentation apparaissent intéressantes pour la phytoremédiation, car premièrement, aucun symptôme de phytotoxicité n'est observé et deuxièmement, des concentrations en plomb de l'ordre de la centaine de mg voir du g par kg de poids sec de MS sont notées pour certains taxons.

Par ailleurs, les résultats obtenus avec les plantes biotisées cultivées sur le sol pollué montrent que ces dernières captent plus de plomb que les plantes témoins comme par exemple les *Geranium* : *G. macrorrhizum*, *G cantabrigiense*, *Ceanothus thyrsiflorus* et *P. fruticosa*. On notera que ces résultats ne correspondent pas avec l'étude faite en 2016 sur la matrice perlite

contaminée artificiellement avec le plomb ou l'on notait que les associations mycorhiziennes n'amélioreraient pas le captage de cet ETM. Il semble ici que le sol permet aux microorganismes de créer une activité qui ne se produit pas sur un milieu artificiel tel que la perlite. En outre nous pouvons voir aussi que l'ajout supplémentaire d'un cocktail d'ectomycorhizes dans le sol pollué permet à certains taxons d'augmenter le prélèvement du plomb.

Efficacité des plantes à dépolluer

Comme le montre la figure 11, le *G. macrorrhizum* et *G. cantabrigiense* se détachent des autres espèces avec la concentration en plomb la plus élevée de l'ordre de 2 à 3 g/kg de MS pour sa partie racinaire avec ou sans mycorhizes

Le *Ceanothus thrysiflorus* le *Grevillea rosmarinifolia* 'Jenkinsii' les autres géraniums et la potentille. Viennent ensuite. Ce sont les eucalyptus qui prélèvent le moins de plomb. Au niveau des concentrations en plomb, il est constaté le même profil pour les parties racinaires et les parties aériennes. Les concentrations en plomb dans les différentes parties de la plante sont plus élevées pour des plantes « mycorhizées » que pour des plantes « non mycorhizées »

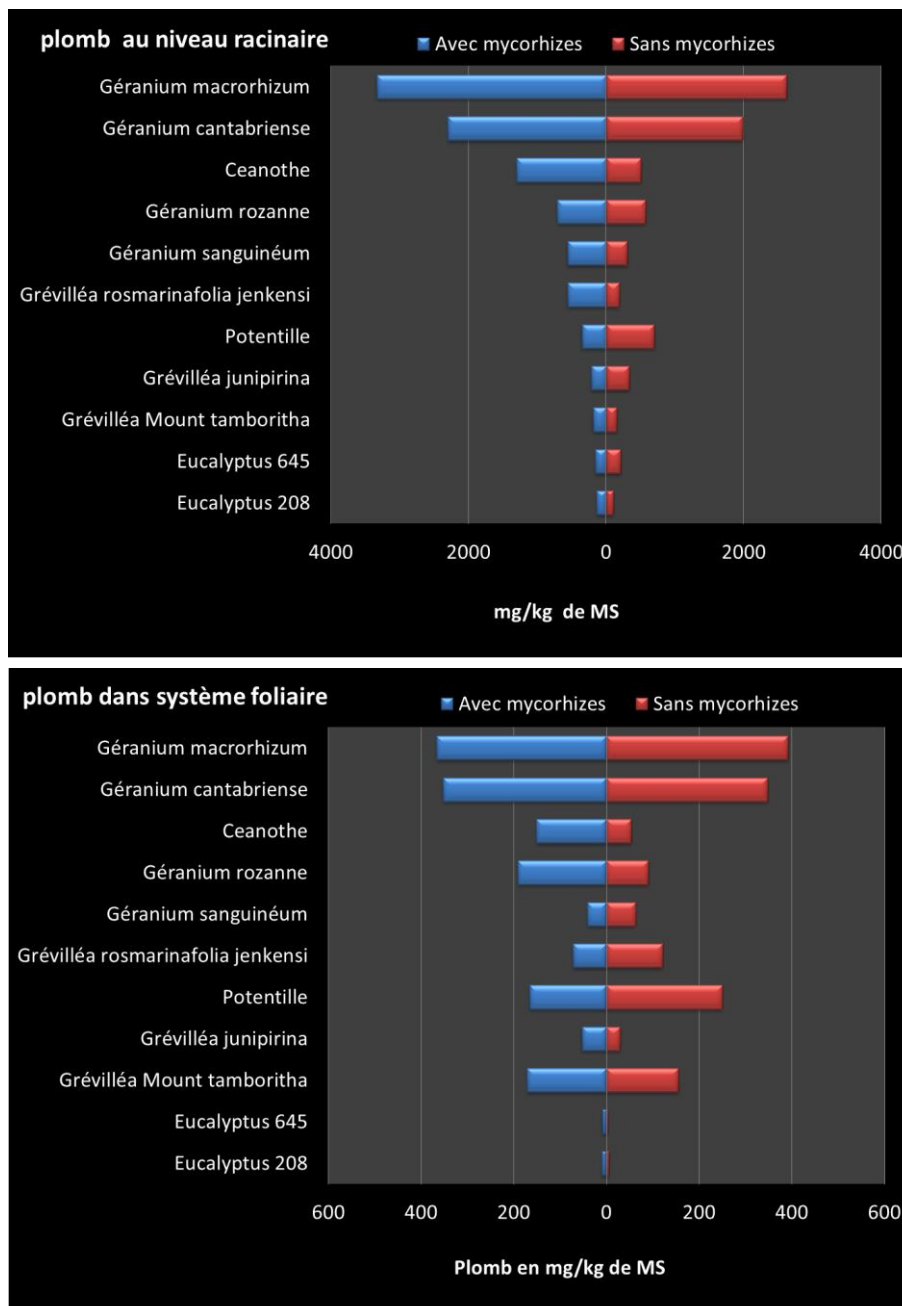


Figure 11 : hiérarchisation des plantes pour une extraction efficace du plomb dans un sol pollué

Les résultats obtenus sont à prendre en considération dans le choix des espèces. Sur 1 m², il est possible de mettre plus de géraniums que de Ceanothes ou de Potentille ou de Grevillea, rendant le procédé de phytoremédiation par les géraniums assez intéressant et rentable. Cependant les arbustes comme la ceanothe, les grévillesas, la potentille reste des plantes concurrentielles face aux géraniums car elles ont un développement racinaire et végétatif plus important avec plus de MS.

Le choix des plantes est essentiel pour l'entreprise de dépollution mais aussi pour le producteur. En effet, un producteur ne va pas se spécialiser dans des plantes intéressantes pour la phytoremédiation si elles sont difficiles à produire.

Par ailleurs, il est indispensable de considérer la phytoremédiation comme un procédé de dépollution sur le long terme. En fonction du type et de la concentration du polluant, du type de sol et du climat du site pollué, toutes les plantes ne sont pas envisageables et les techniques de phytoremédiation ne seront pas les mêmes. En effet dans le cas d'un site pollué particulièrement au plomb, la technique de phytoremédiation concernée sera surtout la phytostabilisation. La phytostabilisation n'est intéressante que si le végétal reste en place. Pour cela, il est intéressant de travailler sur des espèces et des variétés présentant des qualités de résistance, esthétiques et paysagères.

Au contraire, la phytoextraction nécessite la récolte des plantes afin que lorsque la plante meurt, les polluants ne repartent pas dans le sol. L'objectif n'est pas de récolter la plante et de simplement la traiter, il serait plutôt de la valoriser. Les plantes choisies dans l'essai pourraient être utilisées dans d'autres domaines après la phytoextraction. On peut aussi envisager l'utilisation des géraniums dans un objectif de fabrication d'huiles essentielles Enfin un autre usage mais cette fois-ci concernant la récupération des ETM dans les plantes, comme par exemple le travail de recherche de Grison et al. Il s'agit d'un travail fait sur *Thlaspi caerulescens* ayant la capacité de rhizofiltrer ou phyto-extraire le zinc, le nickel et le cadmium (Grison *et al.* 2010). Les feuilles récupérées sont déshydratées puis subissent des traitements thermiques et chimiques adaptés pour créer une solution brute de catalyseurs écologiques à partir des métaux extraits. Grâce à la récupération de ces structures catalytiques, il sera possible d'utiliser le processus de phytoextraction dans différentes applications comme la cosmétique, les produits pharmaceutiques ou encore des bio pesticides (confère schéma de valorisation des plantes ci-dessous).

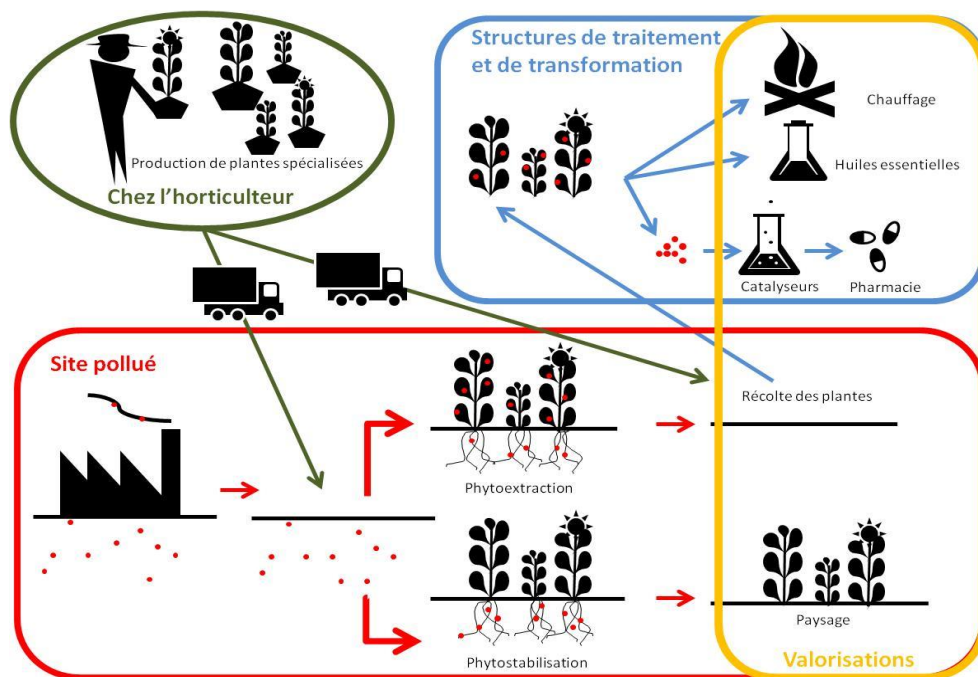


Schéma de différentes valorisations possibles des plantes dépolluantes