

## Phytoremédiation du terril de la mine d'or de Chéni pollué par l'Arsenic

G. COSTA<sup>1\*</sup>, S. LHERNOULD<sup>1</sup>, D. LEJOLLY<sup>1</sup>, C. BAUBY<sup>2</sup>, J.L. CELLIER<sup>2</sup>,  
J. CHUCHE<sup>2</sup>, G. COUSSEAU<sup>2</sup>, V. GALAN<sup>2</sup>, P. JUAN<sup>2</sup>, A. MARTIN<sup>2</sup>, R. PEYRONNET<sup>2</sup>,  
C. RADET-TALIGOT<sup>2</sup>, P. KRAUSZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Equipe de Glycobiologie Forestière, Faculté des Sciences et Techniques de Limoges - 123, avenue Albert Thomas – 87060 Limoges Cedex – France. Tél : 33 (0) 555 45 72 16, mail : guy.costa@unilim.fr; http://www.unilim.fr/glycophy*

<sup>2</sup> *Master d'écosystème et des populations, option environnement Limoges (87), Faculté des Sciences et Techniques de Limoges - 123, avenue Albert Thomas – 87060 Limoges Cedex – France.*

**RÉSUMÉ** - L'arsenic (As) est un polluant métalloïde normalement présent dans l'environnement. Co-produit de l'extraction du minerai d'or, l'arsenic constitue le principal polluant des terrils miniers comme le terril de la mine de Chéni en Haute Vienne (87). Au cours de ce travail, nous avons démontré qu'il est possible de re-végétaliser un terril riche en As (8 g.kg<sup>-1</sup> de substrat) grâce à un apport de terre exempte de polluants. Ce traitement diminue à la fois la contamination des plantes, mais améliore également la rétention de l'eau dans le sol, diminuant ainsi l'expression des contraintes hydriques. La stabilisation des sols par les plantes est importante car elle permettra de réduire l'érosion du terril et, donc, la fuite de polluant vers les cours d'eau bordant cette friche industrielle.

**MOTS CLÉS** : Arsenic, mine, Colonisation végétale, Germination, Phytoremédiation, Biomasse.

**TITLE: Phytoremediation of Chéni mine dump contaminated by Arsenic.**

**SUMMARY** - In the future, it's planned to planish the Cheni's mill dump to integrate it in the landscape. That will make the re-vegetalisation easier. We can intend a Cheni's earth (70%) and topsoil mix. This solution seems to be a good trade-off between a plant rational development and a low-cost. The presence of a first vegetational cover will permit humus establishment which will favour coming of others plants and thus begin a vegetational dynamic. A combination of metal immobilising agents and metal tolerant plants has been utilised in order to reduce the environmental impact of the acidic metal contaminated Jales mine spoil tips (Bleeker *et al.* 2002). The final aim is to get a perennial vegetational cover.

**KEY WORDS:** Arsenic, Gold-mine, Germination, Phytoremediation, Biomass.

## INTRODUCTION

L'activité minière, et plus particulièrement l'extraction de l'or, était encore très active en Haute-Vienne il y a dix ans. Aujourd'hui, toutes les mines sont fermées et ne persistent que les terrils miniers produits par cette exploitation. Le travail présenté ici a pour objectif de révégetaliser les terrils miniers, riches en arsenic (As), car ces derniers ont été laissés en friche à la suite de l'arrêt des exploitations aurifères.

L'arsenic est un élément naturel qui se comporte comme un métal. Sa présence dans l'environnement est à la fois naturelle et due à certaines activités humaines. L'arsenic se présente sous de nombreuses formes différentes. Il peut exister sous une forme organique ou inorganique, l'arsenic inorganique étant généralement considéré comme le plus toxique. Dans le milieu naturel, on trouve de l'arsenic assez abondamment dans la croûte terrestre et en petites quantités dans la roche, le sol, l'eau et l'air. On le retrouve dans de nombreux minéraux. Environ un tiers de l'arsenic dans l'atmosphère provient de sources naturelles comme les volcans ; le reste résulte d'activités humaines. A cause de la contamination géologique naturelle, de fortes concentrations d'arsenic peuvent être observées dans l'eau potable provenant de puits profonds. C'est particulièrement le cas au Bangladesh. Des procédés industriels tels que l'exploitation minière, la fonte de minerais et les centrales électriques au charbon contribuent tous à la présence d'arsenic dans l'air, l'eau et le sol. Ainsi, l'extraction de l'or s'accompagne de la production de boues chargées en sulfites : pyrite, arsénopyrite, galène, acide arsénique et dérivés (Roussel *et al.*, 2002). De ce fait, As est classiquement utilisé comme un marqueur de roches aurifères (BRGM, 2003). La contamination de l'environnement est également imputable à des pesticides agricoles et à des substances chimiques utilisées dans le traitement du bois qui contiennent de l'arsenic.

Les organismes vivants, qu'ils soient terrestres ou aquatiques, réagissent de diverses façons à une exposition à l'arsenic. Les effets dépendent de la forme chimique de l'arsenic, de la nature du milieu environnant et de la sensibilité biologique propre à chaque espèce. Des individus ou des populations entières peuvent être touchés. Les effets néfastes comprennent entre autres la mort, une mauvaise croissance et une incapacité à se reproduire. Là où l'arsenic a contaminé l'environnement naturel, le nombre d'espèces différentes recensées est fortement réduit. Les plantes accumulent rarement une quantité élevée d'arsenic parce qu'elles résistent mal à l'arsenic présent dans le sol et finissent par mourir ou deviennent très chétives. La dose absorbée par les plantes dépend non seulement de la teneur en arsenic, mais aussi des propriétés physiques du sol. Le seuil de toxicité des plantes est de voisin de  $40 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Sheppard, 1992). En général, les sols sablonneux ou humides sont plus susceptibles d'être contaminés par l'arsenic que les sols denses ou secs. Le rabougrissement et le noircissement des racines et du rebord des feuilles sont des symptômes d'une intoxication par l'arsenic. Les plantes-racines, notamment les betteraves et les radis, sont plus susceptibles de renfermer une concentration élevée d'arsenic. Les fruits comme les tomates, les baies et les pommes présentent beaucoup moins de risque parce qu'ils absorbent et emmagasinent très peu d'arsenic. Les haricots verts sont de bons indicateurs de la présence d'arsenic dans le sol parce qu'ils résistent très mal à cette substance.

L'objectif de ce travail est de tester la faisabilité d'une méthode de re-végétalisation sur un terril minier pollué par As. Le terril de la mine de Chéni, près de Saint-Yrieix-la-Perche dans le sud de la Haute Vienne (87), est une friche industrielle de 600 000 tonnes riche de 8 g As.kg<sup>-1</sup> de substrat (figure 1). La re-végétalisation de ce substrat passe à la fois par l'inventaire de l'existant et par un essai de mélange de substrats (substrat pollué et substrat horticole). Le potentiel de croissance et de développement des plantes testées sur ces nouveaux substrats sera une première évaluation du coût de la re-végétalisation de cette friche industrielle.

## MATERIEL & METHODES

### Matériel biologique

Trois plantes ont été retenues pour cette étude : *Deschampsia flexuosa* ou la canche flexueuse, *Cytisus scoparius* ou le genêt à balais et *Calluna vulgaris* ou la callune vulgaire (figure 2). Ces plantes se développent dans certaines zones du site minier de Chéni et sont connues pour être résistantes à As. Le projet de re-végétalisation ne nous a pas conduit à tester la sensibilité et/ou la résistance des plantes, mais simplement à collecter les plantes paraissant les plus résistantes. Nous avons choisi ces plantes pionnières dans l'espoir d'induire une dynamique spontanée de colonisation du terril.

### Le substrat de culture

Le substrat de culture utilisé pour cette expérience est constitué à la fois par du matériel prélevé sur le site de la mine de Chéni, et par du terreau horticole (terreau horticole fertiligène NFU 44-571). Les caractéristiques physico-chimiques de la terre de Chéni ont été décrites par Roussel *et al.* (2002). C'est un sol de texture limono-sableuse contenant 0,3 % de M.O. et 8 mg As.kg<sup>-1</sup> de sol à 15 cm de la surface. Le pH<sub>H2O</sub> est 3,9. L'effet d'un apport de terre horticole au substrat de Chéni a été réalisé suivant quatre modalités différentes : un traitement contrôle (C) correspondant à une culture sur 100 % de terreau horticole, un traitement I (Chéni 50) correspondant à un apport 50 % de terreau horticole et 50 % de terre de Chéni, un traitement 2 (Chéni 70) correspondant à un apport 30 % de terreau horticole et 70 % de terre de Chéni, et un traitement 3 (Chéni 100) correspondant à un apport 100 % de terre de Chéni. Chaque traitement a été reproduit quatre fois.

Sur ces différents milieux, nous avons réalisé des tests de germination (germination en boîte de Pétri sur 45 jours), des tests de culture croissance (culture en pot de 50 ml sur 2 mois), et des tests de développement (culture en pot de 850 ml sur une année). Les cultures ont été conduites en serre au cours de l'année 2003.

### Dosage de As

As a été dosé au spectrophotomètre à absorption atomique (Spectro Aa-600 Various) avec une lampe As (Photron Hollow Cathode Lamp) après digestion de 500 mg de matière fraîche dans un cocktail constitué de 50 mM HNO<sub>3</sub> et 250 mM HCl. L'hydrolysate a été lyophilisé puis repris dans 50 ml d'eau ultra pure.

## RESULTATS

### Taux de germination

La figure 3 montre l'influence du traitement sur la germination des semences de *D. flexuosa*. Le traitement Chéni 100 se traduit par un blocage de la germination avec des taux de germination ne dépassant jamais 15 %, quel que soit le genre étudié. Pour ce traitement, le temps de latence est de plus de 10 jours avant les premières germinations. Les traitements Chéni 70 et 50 permettent un meilleur taux de germination avec respectivement 30 % et 70 % de germination. Sur les trois espèces choisies, seules les semences de *D. flexuosa* ont germées. De ce fait, le reste des expériences a été réalisé avec *D. flexuosa*.

### Croissance en longueur & production de biomasse

La croissance en longueur des plantes montre une corrélation positive avec la teneur du substrat en terre de Chéni (figure 4). Les plantes contrôles ont une croissance continue et soutenue alors que les plantes se développant sur des substrats partiellement enrichis en terre de Chéni ont toujours une croissance inférieure. Cependant ? à l'exception du traitement Chéni 100, il faut noter que la croissance des plantes est possible et semble se maintenir sur toute la durée de l'expérience. La biomasse produite par les plantules après 2 mois de culture est toujours inférieure à celle produite par les plantes témoins (figure 5). La production de biomasse décroît ici progressivement avec l'enrichissement des sols en terre de Chéni. Le pourcentage de matière sèche chute de 25 % pour le traitement Chéni 70 par rapport au témoin et de plus de 90 % pour le traitement Chéni 100. Le traitement Chéni 50 donne des résultats intermédiaires (figure 5).

### Teneur en As

La teneur en arsenic des plantes augmente avec la concentration en As dans le milieu de culture (figure 6). Si la teneur en As du traitement Chéni 100 est ajustée à 100 %, le pourcentage en As des traitements Chéni 70 et 50 est respectivement de 33 et de 90 %.

## DISCUSSION

La canche flexueuse (*Deschampsia flexuosa*) est la seule espèce que nous avons réussi à faire germer sur des sols pollués par As. La concentration en As du sol, sa texture, mais également les conditions de germination et la qualité des semences peuvent expliquer ces premiers résultats. En effet, Smolders *et al.* (1995) montrent l'importance de la scarification dans l'aptitude germinative de la callune. Outre la germination, on peut imaginer des difficultés de croissance des plantes sur ces substrats pollués. En effet, la callune a besoin d'un symbiote fongique. Le champignon, en favorisant la nutrition des plantes, facilite l'installation des végétaux sur les friches. De ce fait, les champignons mycorhiziens peuvent représenter des partenaires de phytoremédiation importants (Fitz *et al.* 2002).

Pour la canche flexueuse, toutes les expérimentations vont dans le même sens, plus la proportion de la terre du Chéni augmente, plus la germination est tardive et ralentie, et plus la croissance est faible et inférieure à celle des plantes témoins. A la différence des travaux de Brizzi *et al.* (2000), nous n'avons pas observé d'effet stimulant de la croissance des plantes pour des concentrations faibles en As. De plus, pour des concentrations de 8 mg As. kg<sup>-1</sup> sol, la croissance des plantes est totalement bloquée. En quelques semaines, elles dépérissent. De plus on constate un très fort lessivage du sol dans ces conditions avec l'apparition de crevasses simulant ce que nous avons observé sur le site (figure 1). Si la teneur en As de la callune est positivement corrélée avec la teneur en As du sol, on peut noter que les plantes se développant sur Chéni 50 montrent une accumulation supérieure en As du fait d'une meilleure croissance. La production de grandes quantités de biomasse permet ainsi d'extraire de plus quantité d'arsenic du sol. Pour les autres traitements, et plus particulièrement pour le traitement Chéni 70, la concentration en polluant augmente dans le sol, mais ici la production de biomasse est faible limitant ainsi la quantité de métalloïde extrait.

Si l'objectif est à la fois de re-végétaliser le milieu tout en immobilisant As dans les plantes, il semble important de choisir une stratégie conduisant à un apport important de substrat exogène sur le terril. En faisant un petit calcul, il faudrait apporter environ 300000 t de terre au terril actuel si l'on veut réussir un programme de re-végétalisation de cette friche. Une fois As immobilisé dans les plantes, se pose la question du traitement des végétaux contaminés.

### BIBLIOGRAPHIE

- BLEEKER P.M., ASSUNÇÃO A.G.L., TEIGA P.M., DE KOE T. & VERKLEIJ J.A.C., 2002. - Revegetation of the acidic, As contaminated Jales mine spoil tips using a combination of spoil amendments and tolerant grasses, *Sci. Total Env.*, **300**, 1-13.
- BRGM, 2003. - Guide méthodologique de l'arsenic appliqué à la gestion des sites et sol pollués. Rap.BRGM 52066, 71.
- BRIZZI M., NANI D., PERUZZI M. & BETTI L., 2000. - Statistical analysis of the effect of high dilutions of arsenic in a large dataset from a wheat germination model, *Homeopathy*, **89**, 63-67.
- COMPÈRE B., 1998. - Partage de l'arsenic entre sol, substrat et biosphère dans les sols pollués par l'industrie minière, exemple de la Petite Faye (Creuse). TER de Biologie Faculté des Sciences & Techniques de Limoges.
- FITZ W.J. & WENZEL W.W., 2002. - Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system : fundamentals and potential application to phytoremediation, *J. Biotech.*, **99**, 259-278.
- GRANT C. & DOBBS A.J., 1970. - The growth and metal content of plants grown in soil contaminated by a copper/chrome/arsenic wood preservative, *Envi. Poll.*, **14**, 213-226.
- MAYSONNADE M., 1995. - Evolution morphologique des haldes des mines de Chéni (87). TER de Biologie Faculté des Sciences & Techniques de Limoges.
- MINETTE F., 1997. - Etude expérimentale de germination de *Festuca rubra* et *Lotus corniculatus* sur les sols des bassins de décantation des anciens sites miniers aurifères de la Petite Faye et de Chéni. TER de Biologie Faculté des Sciences & Techniques de Limoges.
- ROUSSEL C., C. NÉEL, H. BRIL., 2000. - Minerals controlling the solubility of As and Pb in an abandoned gold mine tailings. *Sci. Tot. Environ.*, **263**, 209-219.
- SMOLDERS A.J.P., DEN HARTOG C. & ROELOFS J.G.M., 1995; - Germination and seedling development in *Stratiotes aloides* L., *Aqua. Bot.*, **51**, 269-279.
- SHEPPARD S.C., 1992. - Summary of phytotoxic levels of soil arsenic. *Water air soil pollut.*, **64**, 539-550.

**Fig. 1.** Photographie du terril minier de Chéni (Haute Vienne, 87) prise du côté ouest de l'installation. La friche industrielle est isolée des cultures par un remblai afin de limiter la dispersion des matériaux pollués. Le site est aujourd'hui totalement clôturé et contrôlé par une société privée en charge de sa réhabilitation.

**Fig. 2.** Photographie présentant les trois espèces végétales les plus représentées sur cette friche : *Deschampsia flexuosa* ou la canche flexueuse, *Cytisus scoparius* ou le genêt à balais, et *Calluna vulgaris* ou la callune vulgaire.

**Fig. 3.** Nombre de germination de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites deux fois.

**Fig. 4.** Croissance en longueur de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites deux fois.

**Fig. 5.** Production de biomasse sèche de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites deux fois.

**Fig. 6.** Teneur en As exprimée en  $\mu\text{g As.g}^{-1}$  MS de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100% de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites deux fois.

Liste des figures

Figure 1 : Photographie du terril minier de Chéni (Haute Vienne, 87) prise côté ouest de l'installation. La friche industrielle est isolée des cultures par un remblai afin de limiter la dispersion des matériaux pollués. Le site est aujourd'hui totalement clôturé et contrôlé par une société privée en charge de sa réhabilitation.

Figure 2 : Photographie présentant les 3 espèces végétales les plus représentées sur cette friche : *Deschampsia flexuosa* ou la canche flexueuse, *Cytisus scoparius* ou le genêt à balais, et *Calluna vulgaris* ou la callune vulgaire.

Figure 3 : Nombre de germination de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites 2 fois.

Figure 4 : Croissance en longueur de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites 2 fois.

Figure 5 : Production de biomasse sèche de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100 % de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites 2 fois.

Figure 6 : Teneur en As exprimée en  $\mu\text{g As g}^{-1}\text{MS}$  de *Deschampsia flexuosa* en fonction des traitements : Contrôle, substrat composé de 100 % de terre horticole; Chéni 50, substrat composé de 50 % de terre horticole et 50 % de terre de Chéni; Chéni 70, substrat composé de 30 % de terre horticole et 70 % de terre de Chéni; Chéni 100, substrat composé de 100% de terre de Chéni. Chaque point représente la moyenne de quatre répétitions. Les expériences ont été conduites 2 fois.